บทที่ 5
อภิปรายผลการวิจัย

1) ผลของ JHA ต่อการชักนำให้เกิดการเข้าดักแด้และการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานและเนื้อเยื่อวิทยาของสมองและต่อมโปรทอแรกซิกและผลต่อระดับฮอร์โมนเอกไดโซนในฮีโมลิมพ์ของหนอนเยื่อไผ่

จากผลการวิจัยนี้ หลังจากหยด JHA แก่หนอนเยื่อไผ่ระยะไดอะพอส พบว่า JHA สามารถชักนำให้หนอนเกิดการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้ได้ ทั้งที่ก่อนหน้านี้มีการทดลองจำนวนมากที่สรุปว่า ฮอร์โมนจูวีไนล์เป็นตัวการทำให้ระยะไดอะพอสของตัวหนอนยาวนานยิ่งขึ้น (Yagi and Akaike, 1976 และ Hiruma *et al.*, 1978) แต่ก็มีรายงานของ Bhatnagar และ Thomas (1976) พบว่าเมื่อหยด 20-ไฮดรอกซีเอกไดโซน แก่ khapre beetle ที่กินอาหารผสมฮอร์โมนจูวีไนล์สังเคราะห์ทำให้ระยะลาร์วาลไดอะพอสถูกยับยั้งได้ จากรายงานดังกล่าว JHA ไม่ได้มีผลยับยั้งระยะไดอะพอสได้โดยตรงเพียงแต่ช่วยเสริมฤทธิ์การทำงานของ 20-ไฮดรอกซีเอกไดโซนเท่านั้น แต่ในหนอนเยื่อไผ่ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม Lepidoptera นั้น พบว่า การหยด JHA ลงบนตัวหนอนสามารถชักนำให้หนอนเกิดการเปลี่ยนแปลงเข้าดักแด้ได้ (Singtripop *et al.* submitted) นับเป็นการค้นพบครั้งแรกของการใช้ฮอร์โมนจูวีไนล์ในการทำให้ระยะไดอะพอสของแมลงสิ้นสุดลง ดังนั้นผลจากการทดลองนี้จึงสามารถกล่าวได้ว่า JHA มีผลทำให้ระยะไดอะพอสของหนอนเยื่อไผ่สิ้นสุดลงและชักนำให้หนอนเข้าสู่ระยะดักแด้ได้

เมื่อพิจารณาถึงความสามารถในการตอบสนองต่อความเข้มข้นของ JHA ในหนอนเยื่อไผ่โดยการหยด JHA ความเข้มข้น ตั้งแต่ 0.0001 0.0005 0.001 0.005 0.025 0.05 และ 0.1 ไมโครกรัม/5ไมโครลิตรแก่หนอน จากผลการทดลองพบว่า ความเข้มข้นของ JHA มีบทบาทต่อการชักนำให้หนอนเข้าดักแด้โดย กลุ่มที่หยด JHA ความเข้มข้นต่ำๆ คือตั้งแต่ 0.0001 ถึง 0.005 ไมโครกรัม/5ไมโครลิตร หนอนจะไม่เกิดการตอบสนองแต่อย่างใด ในการทดลองจึงพบหนอนที่เกิดการเปลี่ยนแปลงเข้าดักแด้เฉพาะในกลุ่มที่หยด JHA ความเข้มข้น 0.025 0.05 และ 0.1 ไมโครกรัม เท่านั้น ส่วนการทดลองของ Singtripop และคณะ (submitted) พบว่า หากให้ความเข้มข้นของ JHA มากกว่า 0.1 ไมโครกรัม/5ไมโครลิตร แก่หนอน หนอนยังสามารถเปลี่ยนแปลงเข้าระยะดักแด้ได้ตามปกติ แสดงว่า ความเข้มข้นของ JHA ที่ต่ำที่สุดที่สามารถชักให้หนอนเข้าดักแด้ได้คือ 0.025 ไมโครกรัม เมื่อพิจารณาวันที่เข้าดักแด้ พบว่า กลุ่มที่หยด JHA ความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมซึ่งเป็นความเข้มข้นสูงที่สุดของการทดลองสามารถชักนำให้หนอนเข้าดักแด้เร็วที่สุด ซึ่งก็เป็นไปในทำนองเดียวกับการทดลองของ Singtripop และคณะ (submitted)

ที่ใช้ JHA ความเข้มข้นต่าง ๆในการชักนำให้ระยะตัวหนอนเกิดการลอกคราบ พบว่า ระยะเวลาในการชักนำให้หนอนเข้าดักแด้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของฮอร์โมน โดยกลุ่มที่ให้ฮอร์โมนความเข้มข้นต่ำจะใช้เวลาในการเกิดการลอกคราบนานกว่ากลุ่มที่ให้ฮอร์โมนความเข้มข้นสูง

เมื่อพิจารณาถึงผลการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของสมองในหนอนเยื่อไผ่หลังจากหยด JHA พบว่า จากสมองส่วนไตรโตซีรีบรัมที่แบนยาว เรียวลงด้านล่าง ทำให้ส่วนนี้ของสมองในระยะดักแด้ค่อนข้างแยกห่างกันมากกว่าในระยะไดอะพอส ซึ่งก็สอดคล้องกับรายงานของ Gilbert และคณะ (1996) ถึงลักษณะของสมองใน *M. sexta* จากระยะตัวหนอนที่เพิ่งเกิดใหม่ ๆ จนถึงชั้นอินสตาร์สุดท้ายและระยะดักแด้ พบว่า สมองส่วนไตรโตซีรีบรัมจะค่อย ๆแยกห่างออกจากกันมากขึ้นเรื่อย ๆจนกระทั่งเห็นแบ่งเป็น 2 พูอยู่ 2 ข้างของหัวอย่างชัดเจน หากพิจารณาถึงระดับเนื้อเยื่อจะพบว่า ชั้น cortical layer ของ ระยะ G3 มีความบางลงเมื่อเทียบกับระยะไดอะพอส เหตุที่เป็นเช่นนี้เพราะว่า ในระยะไดอะพอส นิวโรไพล์ยังพัฒนาไม่เต็มที่ แต่เมื่อเข้าสู่ระยะ G3 นิวโรไพล์ของส่วนต่าง ๆเกิดการพัฒนามากขึ้นจึงส่งผลให้ชั้น cortical layer บางลงนั่นเองและพบว่าชั้นนิวโรไพล์ของสมองในระยะ G3 และระยะดักแด้มีการพัฒนาส่วนต่าง ๆขึ้นมาใกล้เคียงกับของตัวเต็มวัย ไม่ว่าจะเป็นในส่วนของโปรโตซีรีบรัมที่เห็นกลุ่มของคอร์พัส พีดันคิวลาตา ซึ่งหน้าที่ของกลุ่มนี้ในตัวเต็มวัยจะมีความสำคัญในด้านเป็นศูนย์กลางประสานงานทางพฤติกรรมของแมลง หากแมลงกลุ่มใดมีการรับความรู้สึกที่สลับซับซ้อนหรือการแสดงออกของพฤติกรรมที่ละเอียดถี่ถ้วน ขนาดของกลุ่มคอร์พัส พีดันคิวลาตาจะมีขนาดใหญ่และซับซ้อน เช่นในกลุ่ม Hymenoptra (Imms, 1964) ส่วนในหนอนเยื่อไผ่ ซึ่งเป็นกลุ่ม Lepidoptera นั้น พฤติกรรมของแมลงในกลุ่มนี้จะไม่เด่นชัดเท่ากับของพวกผึ้ง ดังนั้นจึงคาดว่าโครงสร้างของสมองกลุ่มนี้ไม่น่าที่จะมีความสลับซับซ้อนมากเท่าใดและอีกส่วนที่สามารถสังเกตเห็น คือ การเจริญของออพติคโลป ซึ่งมีความสำคัญทางด้านนำความรู้สึกมาจากตาประกอบ ส่วนในดิวโตซีรีบรัม ก็จะเห็น แอนเทนนัลโลปพัฒนาขึ้นมา เพราะในสมองส่วนนี้เกิดจากปมประสาทของปล้องแอนเทนนามาเชื่อมรวมกัน (Imms, 1964) ซึ่งในการผ่าตัดดูโครงสร้างภายในภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของหนอนระยะ G3 นั้นก็จะพบส่วนของหนวด (antennae) เจริญขึ้นมาเช่นเดียวกัน

เมื่อพิจารณาถึงการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานของต่อมโปรทอแรกซิก ต่อมโปรทอแรกซิกใน *M. sexta* จะมีลักษณะเป็น lobules จึงคาดว่าต่อมโปรทอแรกซิกของหนอนเยื่อไผ่น่าจะคล้ายกัน เพราะแมลงทั้งสองจัดอยู่ในอันดับ Pyralidae เช่นเดียวกัน ในระยะไดอะพอส เซลล์ยังไม่มีการสร้างหรือสะสมซีครีทอรีซับสแทนซ์แต่อย่างใด เซลล์จึงมีขนาดปกติ มองจากภายนอกจึงเห็นเนื้อต่อมมีสีใสทั่วทั้งต่อม แต่เมื่อหนอนเริ่มเข้าสู่การเปลี่ยนแปลงเป็นระยะ G3 ภายในนิวเคลียสเริ่มมีการสังเคราะห์ซีครีทอรีซับสแทนซ์และเก็บสะสมไว้ภายในตัวเซลล์จึงสังเกตเห็นว่าขอบเขตของเซลล์เริ่มไม่เป็นระเบียบเหมือนในระยะไดอะพอส ดังนั้นลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่

สำคัญในระยะนี้คือ การขยายตัวของนิวเคลียส (nuclear folding) (Takeda, 1976) นั่นก็เพราะเซลล์มีการสะสมซีครีทอรีซับสแทนซ์ไว้ ซึ่งลักษณะของซีครีทอรีซับสแทนซ์จะย้อมติดสีเข้มอยู่ภายในเซลล์ ดังนั้นเมื่อมองจากภายนอก เนื้อต่อมจึงมีความขุ่นเพิ่มขึ้น และเมื่อนำลักษณะต่อมโปรทอแรกซิกในระยะท้ายของ G3 เข้ามาเปรียบเทียบ จะเห็นว่าเนื้อต่อมมีความขุ่นมากขึ้น ซึ่งก็หมายความว่า เซลล์มีการสร้างและสะสมซีครีทอรีซับสแทนซ์หรือฮอร์โมนเอกไดโซนเพิ่มขึ้นนั่นเอง การตรวจพบการเปลี่ยนแปลงของสมองที่คล้ายคลึงกับระยะดักแด้ในธรรมชาติ หรือตัวเต็มวัย รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงของต่อมโปรทอแรกซิก จึงเป็นเหตุผลที่ยืนยันได้ว่า JHA มีผลทำให้หนอนเยื่อไผ่ระยะไดอะพอสมีการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้ได้

จากผลของ JHA ที่สามารถชักนำให้หนอนเกิดการเข้าดักแด้ได้ แสดงว่าภายในร่างกายของหนอนต้องมีระดับฮอร์โมนเอกไดโซนที่สูงขึ้น เพราะฮอร์โมนเอกไดโซนเป็นฮอร์โมนที่ทำให้เกิดการลอกคราบดังที่ Schneiderman และ Gilbert (1964) ได้กล่าวไว้ว่า ในแมลงฮอร์โมนเอกไดโซนมีบทบาทสำคัญต่อชบวนการลอกคราบโดยจะมีฤทธิ์ไปกระตุ้นให้เซลล์อีพิเดอร์มิสเกิดการแบ่งตัวเพื่อสร้างชั้นคิวติเคิลใหม่และสลัดชั้นคิวติเคิลเก่าทิ้งไป ดังนั้นถ้าเวลาใดที่พบว่าระดับฮอร์โมนเอกไดโซนเพิ่มสูงขึ้นแสดว่า แมลงกำลังมีการเปลี่ยนแปลงหรือขยายขนาดรูปร่าง จากการตรวจวัดของระดับฮอร์โมนเอกไดโซนในฮีโมลิมพ์ของหนอนเยื่อไผ่หลังจากให้ JHA พบว่าระดับฮอร์โมนในช่วงวันที่ 2 ถึง 20 ของการทดลอง ในกลุ่มที่หยด JHA ไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่เมื่อหนอนมีการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะ G ต่าง ๆ ระดับฮอร์โมนเอกไดโซนในฮีโมลิมพ์กลับเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว แสดงว่าในระยะการเปลี่ยนแปลงนั้น ต่อมโปรทอแรกซิกถูกกระตุ้นให้หลั่งฮอร์โมนเอกไดโซนออกมาเพื่อการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้ ซึ่งสอดคล้องกับระดับฮอร์โมนเอกไดโซนในฮีโมลิมพ์ของระยะดักแด้ในธรรมชาติที่ศึกษา โดย Singtripop และคณะ (submitted) ได้ทดลองวัดระดับฮอร์โมนเอกไดโซนในฮีโมลิมพ์ของหนอนเยื่อไผ่ระยะไดอะพอสตั้งแต่เดือนกันยายนจนถึงเดือนกรกฎาคมของปีถัดไป พบว่า ตั้งแต่เดือนกันยายนถึงเดือนพฤษภาคมซึ่งจัดว่าเป็นระยะไดอะพอสนั้น ระดับฮอร์โมนเอกไดโซนในฮีโมลิมพ์มีระดับที่เท่า ๆกันและมีค่าที่ต่ำมาก แต่เมื่อเข้าสู่เดือนมิถุนายนซึ่งเป็นระยะที่หนอนเกิดการเปลี่ยนแปลงเข้าดักแด้ตามธรรมชาติ ระดับฮอร์โมนเอกไดโซนจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว หรือในการทดลองวัดระดับฮอร์โมนเอกไดโซนในฮีโมลิมพ์ของ *G. mellonella* ก็พบว่าระดับฮอร์โมนจะเพิ่มสูงขึ้นถึง 2 ช่วง ได้แก่ ช่วงที่ตัวหนอนเริ่มมีการสร้างเส้นใยและช่วงก่อนการลอกคราบซึ่งจะมีปริมาณสูงกว่า แสดงให้เห็นว่าฮอร์โมนเอกไดโซนจำเป็นต่อกระบวนการลอกคราบด้วยเช่นกัน (Maroy, 1978) ดังนั้นการทดลองวัดระดับฮอร์โมนเอกไดโซนในฮีโมลิมพ์หลังจากหยด JHA นี้จึงเป็นการยืนยันว่า JHA เป็นตัวกระตุ้นทำให้เกิดการหลั่งฮอร์โมนเอกไดโซนมากขึ้นส่งผลให้หนอนเกิดการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้ได้

2) กลไกการทำงานของ JHA

จากผลของ JHA ในการทดลองที่ 1 ได้แสดงให้เห็นว่า JHA สามารถชักนำให้หนอนเยื่อไผ่เกิดการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้ได้ โดยมีระดับฮอร์โมนเอกไดโซนในฮีโมลิมพ์เพิ่มสูงขึ้นเหมือนกับในระยะดักแด้ในธรรมชาติ แสดงว่าต่อมโปรทอแรกซิกมีการทำงานเกิดขึ้น ซึ่งโดยทั่วไปเป็นที่ยอมรับกันว่า ต่อมโปรทอแรกซิกจะถูกกระตุ้นให้หลั่งฮอร์โมนเอกไดโซนได้ต้องได้รับ PTTH จากสมองก่อน ดังนั้นกลไกการทำงานของ JHA จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจศึกษาเนื่องจากการเข้าสู่ลาร์วาลไดอะพอสของระยะตัวหนอนนั้น Tauber (1986) ได้ศึกษาพบว่า สาเหตุหลักก็คือ เกิดการยับยั้งการหลั่ง PTTH จากสมองและฮอร์โมนเอกไดโซนจากต่อมโปรทอแรกซิก ซึ่งผลของการยับยั้งนี้ก็เนื่องมาจากการมีระดับฮอร์โมนจูวีไนล์ในร่างกายเพิ่มสูงขึ้น แสดงว่าในระยะต้น ๆของไดอะพอสซึ่งเป็นระยะที่หนอนยังคงมีการกินอาหารตามปกติ (feeding stage) นั้น จะพบระดับฮอร์โมนจูวีไนล์ในฮีโมลิมพ์ในความเข้มข้นที่สูงซึ่งส่งผลไปยับยั้งการหลั่ง PTTH ที่สมองและยับยั้งที่ต่อมโปรทอแรกซิกไม่ให้หลั่งฮอร์โมนเอกไดโซนออกมา หนอนจึงไม่เกิดการลอกคราบซึ่งก็สอดคล้องกับรายงานของ Nijhout และ Williams (1974) ที่ศึกษากลไกของฮอร์โมนจูวีไนล์ในระยะตัวหนอนของ M. *sexta* พบว่า ถ้าระดับฮอร์โมนจูวีไนล์ลดลงจะส่งผลให้เกิดการหลั่ง PTTH ไปกระตุ้นให้มีการหลั่งฮอร์โมนเอกไดโซนออกมาทำให้ตัวหนอนเกิดการลอกคราบไปเป็นดักแด้ได้

จากระยะที่หนอนมีการกินอาหารปกติ หนอนจะเริ่มเข้าสู่ระยะ wandering ซึ่งระยะนี้เกิดขึ้นสั้น ๆ พบอยู่ระหว่างระยะการกินอาหารปกติกับระยะ prepupa ในระยะนี้เองที่เซลล์อีพิเดอร์มิสของหนอนจะเกิดความพร้อมยอมรับการตอบสนองของฮอร์โมนเพื่อการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้หรือที่เรียกว่า pupal committment จากนั้นหนอนจะเข้าสู่ระยะ prepupa มันจะหยุดการกินอาหาร หยุดการเคลื่อนไหว เตรียมพร้อมร่างกายเพื่อการลอกคราบเข้าสู่ระยะดักแด้ ซึ่งในระยะนี้ของกลุ่ม Lepidoptera จะพบว่า ระดับฮอร์โมนจูวีไนล์ที่สูงจะออกฤทธิ์ในทางตรงกันข้ามกับในระยะต้น ๆ นั่นคือ ระดับฮอร์โมนจูวีไนล์ที่สูงขึ้นจะมีผลกระตุ้นการทำงานของสมองให้หลั่ง PTTH ออกมากระตุ้นให้ต่อมโปรทอแรกซิกเกิดการหลั่งฮอร์โมนเอกไดโซนออกมามีผลที่เซลล์อีพิเดอร์มิสให้เกิดการลอกคราบเข้าสู่ระยะดักแด้ (Schneiderman and Gilbert, 1964)

จากหลักการดังกล่าว จึงสามารถใช้อธิบายถึงผลการวิจัยนี้ กล่าวคือ หนอนเยื่อไผ่จัดเป็นลาร์วัลไดอะพอสซึ่งในระยะไดอะพอสโดยทั่วไป หนอนจะไม่มีการกินอาหาร ดังนั้นในกรณีนี้หนอนเยื่อไผ่จึงผ่านระยะกินอาหารตามปกติมาแล้ว และยังไม่เข้าสู่ระยะ prepupa ทั้งนี้เพราะหนอนเยื่อไผ่ยังคงมีการเคลื่อนไหวปกติ ดังนั้นคาดว่าหนอนเยื่อไผ่น่าจะจัดอยู่ในระยะ wandering ที่เซลล์อีพิเดอร์มิสมีความพร้อมต่อการตอบสนองของฮอร์โมน เมื่อให้ JHA จากภายนอกเข้าไปมีผลกระตุ้นต่อสมองให้หลั่ง PTTH มากระตุ้นที่ต่อมโปรทอแรกซิกให้หลั่งฮอร์โมนเอกไดโซน หรืออีกทางหนึ่งที่เป็นไปได้คือ JHA มีผลกระตุ้นที่ต่อมโปรทอแรกซิกโดยตรงทำให้เกิดการหลั่งฮอร์โมนเอกไดโซน ดังนั้นฮอร์โมนเอกไดโซนที่หลั่งออกมาบางส่วนจึงเกิดเป็นกลไก

การกระตุ้นกลับ (positive feedback) มายังต่อมโปรทอแรกซิกอีกเพื่อเสริมการสร้างฮอร์โมนจนระดับฮอร์โมนเอกไดโซนสูงมากพอที่จะกระตุ้นการสร้างชั้นคิวติเคลใหม่ขึ้นมาแทนที่ชั้นเดิม ขบวนการเปลี่ยนแปลงจากตัวหนอนเป็นดักแด้จึงเริ่มขึ้น

แต่จากผลการผ่าตัดเอาสมองของหนอนออกแล้วหยด JHA นั้นกลับพบว่าหนอนสามารถตอบสนองต่อ JHA จนเกิดการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้ได้เช่นกัน แสดงว่า JHA มีผลกระตุ้นที่ต่อมโปรทอแรกซิกได้โดยตรงโดยไม่ต้องอาศัยการกระตุ้นของ PTTH จากสมอง ถึงแม้ว่าในหลักการโดยทั่วไป PTTH ถือเป็นตัวกระตุ้นหลักของต่อมโปรทอแรกซิกให้มีหลั่งฮอร์โมนเอกไดโซน แต่ก็มีบางการทดลองที่ได้ข้อสรุปว่า แมลงบางชนิดสามารถเกิดการลอกคราบได้โดยไม่ต้องอาศัยการหลั่ง PTTH Williams (1959) สรุปว่าฮอร์โมนจูวีไนล์มีฤทธิ์กระตุ้นต่อมโปรทอแรกซิก เพราะได้ทดลองตัดสมองของดักแด้ของหนอนไหมออกยังสามารถลอกคราบเป็นตัวเต็มวัยได้ นอกจากนั้น Gruetzmacher และคณะ (1984) พบว่า เมื่อหยดฮอร์โมนจูวีไนล์สังเคราะห์ แก่ตัวหนอนที่ใช้เชือกผูกบริเวณ head capsule กับปล้องที่ 1จะทำให้ตัวหนอนนั้นเกิดลอกคราบได้เร็วกว่ากลุ่มควบคุมจึงได้สรุปว่า ฮอร์โมนจูวีไนล์ออกฤทธิ์กระตุ้นต่อมโปรทอแรกซิกโดยทางอ้อม

จากรายงานทั้งหมดที่กล่าวมาข้างต้น แสดงว่า ต่อมโปรทอแรกซิกต้องมีกลไกภายในตัวเองในการตอบสนองต่อฮอร์โมน ซึ่งมีรายงานของ Sakurai (1990) ที่พบว่า การหยด JHA ให้แก่ระยะ wandering ของ M. *sexta* ทำให้ต่อมโปรทอแรกซิกสามารถหลั่งฮอร์โมนเอกไดโซนออกมาได้มากกว่ากลุ่มควบคุม แสดงว่าในระยะ wandering นั้น JHA จะเกิดกลไกการออกฤทธิ์ต่อต่อมโปรทอแรกซิกในทางที่ตรงกันข้าม หรือที่เรียก switchover หากนำผลของระดับฮอร์โมนเอกไดโซนในฮีโมลิมพ์มาร่วมพิจารณาด้วย พบว่าหลังจากหยด JHA แล้วหนอนเกิดการเปลี่ยนแปลงเข้าดักแด้ ในฮีโมลิมพ์มีระดับฮอร์โมนเอกไดโซนเพิ่มสูงมาก จากจุดนี้จึงเป็นไปได้ว่า นอกจาก JHA จะทำให้ต่อมโปรทอแรกซิกในระยะ wandering เกิด switchover ขึ้นแล้ว ระดับฮอร์โมนเอกไดโซนที่ต่อมโปรทอแรกซิกผลิตขึ้นมาได้ น่าจะมีผลช่วยเสริมการทำงานของต่อมโปรทอแรกซิกอีกทางหนึ่ง ในการศึกษากลไกการทำงานของต่อมไร้ท่อทั้งหลายไม่ว่าจะเป็นในสัตว์มีกระดูกสันหลังกลไกการกระตุ้นกลับ (positive feedback) หรือกลไกการยับยั้งกลับ (negative feedback) มักเป็นกลไกหลักในการใช้อธิบายถึงการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของผลิตผลฮอร์โมนจากต่อมไร้ท่อเสมอ ส่วนในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังเช่น แมลง ก็เช่นเดียวกัน ดังรายงานของ Sakurai และคณะ (1989) พบว่า ต่อมโปรทอแรกซิกสามารถถูกกระตุ้นให้หลั่งฮอร์โมนเอกไดโซนออกมาได้มากเมื่อมีการให้ฮอร์โมนเอกไดโซนหรือ 20-ไฮดรอกซีเอกไดโซน โดยระดับฮอร์โมนเอกไดโซนที่เพิ่มขึ้นจะเป็นกลไกการกระตุ้นกลับไปยังต่อมโปรทอแรกซิกให้หลั่งฮอร์โมนเอกไดโซนสูงขึ้นอีก จากนั้นถ้ามีระดับฮอร์โมนเอกไดโซนที่สูงมากจะกลับเป็นกลไกการยับยั้งการหลั่งฮอร์โมนเอกไดโซนของต่อมโปรทอแรกซิกเองในที่สุดแต่งานวิจัยนี้ได้ให้ JHA แทนฮอร์โมนเอกไดโซน ก็สามารถทำ

ให้ระดับฮอร์โมนเอกไดโซนในฮีโมลิมพ์เพิ่มสูงขึ้นได้ในระยะการเปลี่ยนแปลงช่วง G ต้นๆและลดลงในช่วงท้ายของการเปลี่ยนแปลง แสดงว่า JHA สามารถกระตุ้นให้ต่อมโปรทอแรกซิกเกิดการหลั่งฮอร์โมนเอกไดโซน ซึ่งไปมีผลที่เซลล์อีพิเดอร์มิสของหนอนเกิดการสร้าง pupal cuticleซึ่งทำให้หนอนเข้าสู่ระยะดักแด้ได้

เมื่อพิจารณาถึงความสามารถในการตอบสนองต่อความเข้มข้นของ JHA ในหนอนเยื่อไผ่ที่ผ่าตัดเอาสมองออก พบว่า กลุ่มที่ให้ JHA ทุกความเข้มข้นสามารถชักนำให้หนอนเกิดการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้ได้แต่ระยะเวลาที่ทำให้หนอนเข้าดักแด้ได้นั้นแตกต่างกัน โดยระยะเวลาในการชักนำให้หนอนเข้าดักแด้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของฮอร์โมน โดยกลุ่มที่ให้ฮอร์โมนความเข้มข้นต่ำจะใช้เวลาในการเปลี่ยนแปลงนานกว่ากลุ่มที่ให้ฮอร์โมนความเข้มข้นสูงซึ่งก็สอดคล้องกับผลในการตอบสนองต่อความเข้มข้นของ JHA ในหนอนเยื่อไผ่ที่ไม่ได้ผ่าตัดเอาสมองออก (การทดลองที่ 1)

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

3) ผลของ JHA ต่อการเปลี่ยนแปลงระดับโปรตีนและชนิดโปรตีนในหนอนเยื่อไผ่ระยะต่าง ๆทั้งเพศผู้และเพศเมีย

จากการทดลองที่ 3 หลังจากหยด JHA 1 ไมโครกรัมแก่หนอนเยื่อไผ่แล้วเก็บฮีโมลิมพ์ในระยะต่าง ๆ ทั้งเพศผู้และเพศเมียไปตรวจวัดระดับโปรตีน จากผลพบว่า ในช่วง 15 วันแรกหลังจากหยด JHA ระดับโปรตีนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจากกลุ่มควบคุม แสดงว่า มีการกระตุ้นให้มีการสังเคราะห์โปรตีนเกิดขึ้น แต่เมื่อหนอนเริ่มเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้ โดยเข้าสู่ระยะ prepupa นั้น ระดับโปรตีนมีค่าลดลง เมื่อหนอนเข้าสู่ระยะ G1 G2 และ G3 ระดับโปรตีนลดลงจากในช่วงแรกอย่างเห็นได้ชัด แต่เมื่อเทียบในระยะ G ด้วยกัน จะมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้น จากลักษณะดังกล่าวสามารถใช้เป็นสิ่งบ่งชี้ได้ว่า อาจมีโปรตีนบางชนิดเกิดการลดลงหรือหายไป ในขณะเดียวกันน่าจะมีการสังเคราะห์โปรตีนชนิดใหม่เกิดขึ้น เมื่อพิจารณาถึงปริมาณของชนิดโปรตีนที่พบร่วมกับระดับโปรตีนที่เพิ่มสูงขึ้นในช่วง 15 วันแรกนั้น จะเห็นว่า โปรตีนมีปริมาณสูงเช่นเดียวกัน จากที่ทราบแล้วว่า โปรตีนมีการสังเคราะห์ขึ้นในก้อนไขมัน ส่วนมากเกิดขึ้นในระยะตัวหนอนขั้นอินสตาร์สุดท้าย ต่อจากนั้นถูกหลั่งเข้าสู่ฮีโมลิมพ์ในช่วงการเจริญ เมื่อเข้าสู่ช่วงก่อนเข้าสู่ระยะดักแด้เล็กน้อย ปริมาณโปรตีนบางส่วนของระยะตัวหนอนขั้นนั้นจะถูกดึงกลับไปสะสมที่ก้อนไขมันอีกครั้ง เพื่อการรอนำไปสังเคราะห์เป็นโครงสร้างของตัวเต็มวัย (Levenbook, 1985) ซึ่งก็สอดคล้องกับงานของ Martin และคณะ (1971) ที่ศึกษาถึงระดับโปรตีนใน *Calliphora stygia* พบว่าระดับโปรตีนในระยะตัวหนอนขั้นอินสตาร์สุดท้ายจะเพิ่มสูงขึ้นสัมพันธ์กับการสังเคราะห์โปรตีนของก้อนไขมันที่หลั่งออกสู่ฮีโมลิมพ์ในอัตราที่สูงขึ้นเช่นเดียวกัน ส่วนในช่วงที่ใกล้เข้าการเปลี่ยนแปลงเป็นระยะดักแด้ ระดับโปรตีนมีค่าลดลง ซึ่งก็เป็นไปตามรายงานที่ว่า ในช่วงท้ายของการเจริญระยะตัวหนอน ระดับโปรตีนในฮีโมลิมพ์จะลดลงเป็นผลมาจากการสังเคราะห์โปรตีนที่ลดลงและมีการดึงโปรตีนบางส่วนจากฮีโมลิมพ์เข้าไปเก็บสะสมไว้ในก้อนไขมัน (Kinnear *et al.*, 1971) หรือสะสมไว้ในต่อมน้ำลาย (Schin and Laufer, 1974) หรือในส่วนของลำไส้ก็เป็นได้ (Schin *et al.*, 1974) ดังนั้น จากรายงานทั้งหมดในเบื้องต้น จึงอาจกล่าวได้ว่า ฮีโมลิมพ์ในระยะตัวหนอนเปรียบเหมือนเป็นแหล่งเก็บสำรองโปรตีนชั่วคราว จนกว่าก้อนไขมันจะเปลี่ยนการทำงานหลักจากการสังเคราะห์มาเป็นการเก็บสะสมโปรตีน ซึ่งเมื่อนั้นโปรตีนจากฮีโมลิมพ์บางส่วนก็จะถูกดึงเข้ามาเก็บสะสมไว้ยังก้อนไขมัน ระดับโปรตีนในฮีโมลิมพ์จึงลดลง

เมื่อพิจารณาถึงการเปลี่ยนแปลงชนิดโปรตีนในฮีโมลิมพ์ของหนอนเยื่อไผ่ระยะต่าง ๆ พบว่า โปรตีนสะสมที่พบในหนอนเยื่อไผ่ คือ SP1 และ SP2 มีน้ำหนักโมเลกุลที่ 72.2 และ 75.2 กิโลดาลตัน สามารถพบได้ในเกือบทุกระยะการเจริญ ซึ่งก็คล้ายกับโปรตีนสะสมในหนอนไหม ซึ่งพบ SP1 และ SP2 เช่นกัน แต่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 50 กิโลดาลตัน หลังจากหยด JHA แล้ว ปริมาณ SP1 มีความแตกต่างกันในแต่ละระยะของการเปลี่ยนแปลง โดยในระยะแรกยังคงพบปริมาณ SP1 แต่เมื่อเริ่มเข้าสู่ระยะ prepupa จนกระทั่งถึง G3 ปริมาณ SP1 ลดลงอย่างเห็น

ได้ชัดซึ่งในระยะ treated pupa และ natural pupa ก็ลดลงเช่นเดียวกัน ในขณะที่ปริมาณ SP2 สามารถพบได้ในทุกระยะหลังจากหยด JHA Tojo และคณะ (1980) กล่าวว่า โปรตีนถูกสังเคราะห์เป็นจำนวนมากในก้อนไขมัน ในระยะการกินอาหารปกติ ของระยะตัวหนอนจากนั้นถูกหลั่งเข้าสู่ฮีโมลิมพ์ ในช่วงการเปลี่ยนแปลงจากระยะตัวหนอนเป็นระยะดักแด้ โปรตีนจะถูกดึงเก็บสะสมเข้าไปไว้ในก้อนไขมันอีกครั้งในรูปของ โปรตีน กรานูลร์ (protein granules) จากผลการทดลองนี้ จึงมีความสอดคล้องกับรายงานดังกล่าว โดยปริมาณของ SP1 และ SP2 มีมากในระยะแรก ๆและเริ่มลดลงในช่วงใกล้การเปลี่ยนแปลงเข้าดักแด้ ดังนั้น ปริมาณ SP1 และ SP2 ที่เริ่มลดลงในระยะ prepupa นั้น โปรตีนบางส่วนจึงน่าจะถูกดึงเข้าไปเก็บสะสมไว้ในก้อนไขมัน

เมื่อพิจารณาถึงความแตกต่างของปริมาณ SP1 และ SP2 ในเพศผู้และเพศเมีย พบว่า ไม่มีความแตกต่างของปริมาณของโปรตีนทั้งสองในระหว่างเพศของเกือบทุกระยะ กล่าวคือ ในช่วง 15 วันแรก ปริมาณ SP1 และ SP2 พบมากใกล้เคียงกัน แต่ปริมาณ SP1 จะเริ่มลดลงในระยะ prepupa ระยะ G1 G2 และ G3 หรือแม้กระทั่งในระยะ treated pupa และ natural pupa ปริมาณของ SP1 ลดลงกว่าของ SP2 แต่การลดลงนั้นจะเด่นชัดในเพศเมียมากกว่าเพศผู้ ในขณะที่ปริมาณของ SP2 ของทั้งสองเพศค่อนข้างคงที่ในทุกระยะ ซึ่งผลที่ได้นี้มีความแตกต่างจากของ Tojo และคณะ (1980) ที่รายงานไว้ว่า ในฮีโมลิมพ์ของหนอนไหมเพศเมียขั้นอินสตาร์สุดท้าย สามารถพบได้ทั้ง SP1 และ SP2 ในขณะที่ ในเพศผู้นั้น พบปริมาณของ SP2 เพียงครึ่งหนึ่งที่พบในเพศเมีย ส่วน SP1 นั้นพบน้อยมาก และ Mine และคณะ (1983) รายงานว่า ใน M. *sexta* มีความแตกต่างของโปรตีนระหว่างเพศเกิดขึ้นเฉพาะในขั้นอินสตาร์สุดท้าย โดยปริมาณของ SP1 ในฮีโมลิมพ์เพศผู้ลดลงมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับของเพศเมีย

แต่เมื่อนำผลของโปรตีนที่พบเฉพาะเพศในหนอนเยื่อไผ่มาร่วมพิจารณา จะเห็นว่า แต่เดิมในระยะไดอะพอสของเพศเมีย พบ FSP เพียง 1 ชนิด เมื่อหนอนเข้าสู่ระยะดักแด้ กลับพบ FSP เพิ่มขึ้นมาอีก 1 ชนิด ในขณะที่เพศผู้นั้น พบ MSP เพียง 1 ชนิดทั้งในระยะไดอะพอสและระยะดักแด้ ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ว่า ปริมาณของ SP1 ที่ลดลงมากในระยะดักแด้ของเพศเมียนั้น บางส่วนได้ถูกนำไปใช้ในการสังเคราะห์เป็น FSP ชิ้นมาใหม่ก็เป็นได้

ส่วนการศึกษาปัจจัยที่มีส่วนควบคุมการสังเคราะห์และการเก็บสะสมโปรตีนนั้น โดยมากมุ่งเน้นไปยังการได้รับหรือขาดสารอาหารร่วมกับระดับฮอร์โมน โดย Curtis และคณะ (1984) พบว่า หากหนอน M. *sexta* อดอาหารเป็นเวลา 30 ชั่วโมง การสังเคราะห์ alrylphorins จะหยุดชะงัก เนื่องจากเวลาอดอาหาร การได้รับกรดอะมิโนซึ่งถือว่าเป็นตัวเริ่มต้นของการสังเคราะห์โปรตีนนั้นจะลดน้อยลง ทำให้กรดอะมิโนที่มีอยู่ไม่เพียงพอต่อการสังเคราะห์โปรตีน แต่ในหนอนเยื่อไผ่ที่ใช้ในการทดลองนั้น เป็นหนอนในระยะไดอะพอส การที่หนอนสามารถเข้าสู่ระยะไดอะพอสได้นานถึง 9 เดือนนั้น แสดงว่าสารอาหารซึ่งก็รวมถึงกรดอะมิโนที่สะสมไว้ก่อนหน้านี้ต้องมีปริมาณเพียงพอที่จะหล่อเลี้ยงชีวิตของหนอนได้ตลอด 9 เดือน

ส่วนการควบคุมโดยระดับฮอร์โมนนั้น ได้มีรายงานของ Riddiford และ Truman (1978) กล่าวไว้ว่า การสังเคราะห์โปรตีนในช่วงต้นของระยะตัวหนอนขั้นอินสตาร์สุดท้ายนั้น จะถูกชักนำโดยการที่ระดับของฮอร์โมนจูวีไนล์ในร่างกายลดต่ำลง แต่เมื่อหนอนเริ่มเตรียมตัวเข้าสู่ระยะดักแด้ หรือในระยะ prepupa นั้น ระดับฮอร์โมนเอกไดโซนในฮีโมลิมพ์จะเริ่มเพิ่มสูงขึ้น จึงเป็นตัวการชักนำให้ก้อนไขมันเริ่มดึงโปรตีนจากฮีโมลิมพ์เข้ามาเก็บสะสม ส่วนหนอนเยื่อไผ่นี้ก็จัดอยู่ในระยะตัวหนอนขั้นอินสตาร์สุดท้ายเช่นเดียวกัน เมื่อให้ JHA แก่หนอน พบว่า ปริมาณโปรตีนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในช่วง 15 วันแรกหลังจากนั้น จะเห็นว่า ในระยะที่หนอนเกิดการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะ G ต่างๆนั้น ระดับฮอร์โมนเอกไดโซนในฮีโมลิมพ์จะเพิ่มสูงขึ้นมากเป็นผลทำให้เกิดการเข้าดักแด้ ระดับของโปรตีนในฮีโมลิมพ์ลดลง แสดงว่า การเพิ่มขึ้นของระดับฮอร์โมนเอกไดโซนในหนอนชนิดนี้นั้น เป็นตัวกระตุ้นให้ก้อนไขมันดึงโปรตีน SP1 บางส่วนจากฮีโมลิมพ์เข้าไปเก็บสะสมไว้เช่นกัน ซึ่งก็สอดคล้องกับการทดลองของ Ryan และคณะ (1985) ที่ว่า การให้ 20-ไฮดรอกซีเอกไดโซนแก่ M. *sexta* สามารถชักนำให้ก้อนไขมันเกิดกลไกดึง FSP จากฮีโมลิมพ์เข้าไปเก็บสะสม ซึ่งในขณะนั้นระดับของเอกไดสเตอรอยด์ในฮีโมลิมพ์ก็มีค่าเพิ่มสูงด้วยเช่นกัน