

## บทที่ 1

### บทนำ

หนอนเยื่อไผ่เป็นระยะตัวหนอน (larva) ของผีเสื้อกลางคืน (moth) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Omphisa fuscidentalis* Hampson ซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ Pyralidae อันดับ Lepidoptera มีการแพร่กระจายมากที่สุดบริเวณภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย และพบได้ในประเทศใกล้เคียง ได้แก่ ประเทศพม่า ประเทศลาว ประเทศจีน และประเทศมาเลเซีย จากการที่พบหนอนเยื่อไผ่ได้ในหลายพื้นที่ จึงมีชื่อเรียกแตกต่างกันไป เช่น คนพื้นเมืองในภาคเหนือส่วนมากเรียก เน้หรือแมะ บางกลุ่มเรียก แค้หรือค้วงไม้ไผ่ อีกชื่อเรียก ฮาโบลัว กะเหรี่ยงเรียก คลีเคิ้ล๊ะ พม่าเรียก วาโป้ว ส่วนจีนฮ่อ เรียก จูซุง (ไพฑูรย์, 2538)

หนอนเยื่อไผ่จัดอยู่ในกลุ่ม holometabolous ที่มีการเจริญเติบโตแบบสมบูรณ์ (complete metamorphosis) กล่าวคือ มีระยะตัวเต็มวัย ไข่ ตัวหนอน และดักแด้ จากการศึกษาการเจริญของหนอนพบว่าระยะการเจริญของหนอนมี 2 ระยะ คือระยะการเจริญขึ้นต้นและระยะการพักตัว (larval diapause) ระยะการเจริญขึ้นต้นมี 5 อินสตาร์ (instar) (Singtripop *et al.*, 1999) พบในเดือนสิงหาคมหลังจากแม่ผีเสื้อวางไข่ 4-6 วัน หนอนมีขนาดลำตัวและความกว้างของกะโหลกหัว (head capsule) เล็กมาก ส่วนระยะโคอะพอส พบตั้งแต่เดือนกันยายนถึงพฤษภาคม ในระยะนี้ไม่มีความแตกต่างของขนาดลำตัวและความกว้างของ head capsule ไม่มีการกินอาหารและกระบวนการเมตาบอลิซึมต่ำ (วนิดา, 2539) จากการศึกษาการดำรงชีวิตและลักษณะวงชีวิตพบว่าแม่ผีเสื้อจะวางไข่ที่โคนกานหน่อไผ่ในช่วงประมาณเดือนสิงหาคม เมื่อฟักออกมาเป็นตัวหนอนแล้วจะเคลื่อนย้ายและเจาะรูเข้าไปอาศัยอยู่ในลำต้นของหน่อไผ่ และกักกินเยื่อไผ่อ่อนซึ่งบุอยู่ภายในเป็นอาหารแล้วเจาะทะลุผ่านข้อปล้องไม้ไผ่ขึ้นไปเรื่อยๆ จนเกือบถึงยอด ในช่วงนี้ตัวหนอนจะมีการเจริญเติบโตมากขึ้นเรื่อยๆ และเมื่อเจริญเต็มที่แล้วจะกลับลงมาอยู่รวมกันที่ปล้องที่ 1 หรือ 2 ถัดจากปล้องล่างที่เคยเจาะรูเอาไว้ในตอนแรก ระยะที่อาศัยอยู่ในลำต้นไผ่เป็นตัวหนอนอยู่ในช่วงเดือนกันยายนถึงพฤษภาคม ประมาณ 280-304 วัน จากนั้นเข้าดักแด้ภายในกระบอกไม้ไผ่ในช่วงเดือนมิถุนายนถึงกรกฎาคมประมาณ 30-40 วัน และออกเป็นตัวเต็มวัย เป็นผีเสื้อกลางคืนประมาณเดือนสิงหาคม มีอายุประมาณ 15-20 วัน ตัวเต็มวัยของผีเสื้อกลางคืนมีลักษณะคือ ตัวเมียมีสีน้ำตาลส้ม ปีกคู่หน้ามีรอยหยักพาดขวางสีดำเข้ม หนวดเป็นแบบเส้นด้าย (filiform) ตัวเมียมียาวกว่าตัวผู้ (เดชา, 2535 และ ไพฑูรย์, 2538) จะเห็นได้ว่าหนอนเยื่อไผ่มีวงชีวิตยาวนานถึง 1 ปี ซึ่งแตกต่าง

จากแมลงในกลุ่มเดียวกันเป็นอย่างมาก และระยะที่ใช้เวลานานที่สุด คือ ระยะตัวหนอนในช่วงเดือนกันยายนถึงพฤษภาคมของปีถัดไป เรียกระยะนี้ว่า ระยะไคอะพอส (diapause stage)

ไคอะพอส เป็นระยะพักการเจริญเติบโตของแมลง ที่เกิดในแมลงบางชนิดและสามารถพบได้ในช่วงใดช่วงหนึ่งของวงจรชีวิต เช่น เกิดในระยะไข่ เรียกว่า egg diapause เกิดในระยะตัวหนอน เรียกว่า larval diapause เกิดในระยะดักแด้ เรียกว่า pupal diapause และ เกิดในระยะตัวเต็มวัย เรียกว่า adult diapause สำหรับในหนอนเยื่อไผ่ นั้นเกิดระยะไคอะพอสในระยะตัวหนอนจึงเรียกว่าเป็น ลาร์วัลไคอะพอส (larval diapause)

โดยทั่วไปเมื่อแมลงเข้าสู่ระยะไคอะพอสจะมีผลทำให้อัตราเมตาบอลิซึมในร่างกายลดลง ไม่เคลื่อนไหว มีพฤติกรรมการหยุดกินอาหารและหยุดการเจริญของร่างกาย (Tauber *et al.*, 1986) โดยปัจจัยที่มีผลทำให้เกิดไคอะพอสนั้นเนื่องมาจากปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมและการควบคุมกลไกการทำงานของระบบประสาทและฮอร์โมนภายในร่างกาย แต่สำหรับหนอนเยื่อไผ่ นั้นสามารถเกิดไคอะพอสได้ทุกรุ่นและเกิดในระยะเวลาเดียวกันใกล้เคียงกันทุกปี ดังนั้นปัจจัยที่สำคัญที่นำไปสู่การเกิดไคอะพอสในหนอนเยื่อไผ่ อาจจะเป็นการควบคุมโดยระบบประสาทและฮอร์โมน โดยทั่วไปแล้วแมลงจะมีกระบวนการเจริญเติบโต โดยการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของร่างกายตั้งแต่ระยะตัวหนอน ระยะดักแด้ และตัวเต็มวัย เรียกว่า การเปลี่ยนแปลงรูปร่างในระหว่างการเจริญเติบโต หรือ เมตามอร์ฟอซิส (metamorphosis) ซึ่งฮอร์โมนที่มีบทบาทสำคัญต่อการเกิดเมตามอร์ฟอซิสได้แก่ฮอร์โมนจูวีไนล์ (juvenile hormone) ที่ผลิตจากต่อม คอร์ปัสอัลเลตัม (corpus allatum) และฮอร์โมนเอกไดโซน (ecdysone) ที่ผลิตจากต่อมโปรทอแรกซิก (prothoracic gland) โดยกลไกที่ควบคุมการเปลี่ยนแปลงของระยะตัวหนอนเข้าสู่ดักแด้ในแมลง โดยทั่วไปเริ่มจากการถูกกระตุ้นของสมองทำให้สมองหลังโปรทอแรกซิกโคโทรปิกฮอร์โมน (prothoracicotropic hormone : PTH) ไปกระตุ้นการทำงานของต่อมโปรทอแรกซิก ทำให้เกิดการหลั่งฮอร์โมนเอกไดโซน ซึ่งฮอร์โมนนี้มีผลต่อการเกิดการเปลี่ยนแปลงของสัณฐานและการสร้างผนังลำตัวหรือคิวติเคิลใหม่ (new cuticle) ของตัวหนอนทำให้หนอนเกิดการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้ ส่วนฮอร์โมนจูวีไนล์นั้นมีบทบาทในทางตรงกันข้ามกับฮอร์โมนเอกไดโซน กล่าวคือฮอร์โมนจูวีไนล์มีหน้าที่ในการรักษารูปร่างลักษณะของระยะตัวหนอนไม่ให้เจริญเป็นตัวเต็มวัย (เสาวภา, 2525 และ Slama, 1995) การเกิดไคอะพอสในระยะต่างๆของวงจรชีวิตของแมลง สืบเนื่องมาจากการควบคุมโดยระบบฮอร์โมน เช่นเดียวกัน โดย egg diapause เกิดเนื่องจากการหลั่งของไคอะพอสฮอร์โมน (diapause hormone) ในระยะต้นๆของดักแด้เพศเมีย มีผลต่อตัวอ่อนที่อยู่ในไข่ ทำให้หยุดการเจริญ (Kitazawa *et al.*, 1963) ส่วนการเกิด pupal diapause เกิดเนื่องจากการขาด PTH จากสมองและเกิดเนื่องจากความสามารถในการตอบสนองของต่อมโปรทอแรกซิกต่อ PTH ลดต่ำลง (Bradfield *et al.*, 1980 and

Bowen *et al.*, 1984) แต่ adult diapause เกิดเนื่องจากการขาดของฮอร์โมนจูวีไนล์ (เสาวภา, 2536 และ de Kort *et al.*, 1982) สำหรับ larval diapause สามารถเกิดได้ในอินสตาร์ต่างๆ แต่โดยทั่วไปจะพบในอินสตาร์สุดท้ายเนื่องมาจากการมีฮอร์โมนจูวีไนล์ในร่างกายสูง ซึ่งการมีฮอร์โมนจูวีไนล์ในร่างกายสูงนั่นเอง มีบทบาทไปกดหรือยับยั้ง (suppress) การทำงานของต่อมไพรทอแรกซิก และการหลั่งของ PTHH จากสมองผ่านทางปมประสาท ได้อีโซฟาแกัส (sub-esophageal ganglion) (Barrett, 2000)

จากการศึกษาหนอนเยื่อไผ่ระยะไคอะพอสพบว่ามีความเข้มข้นของฮอร์โมนเอกไดโซนในฮีโมลิมพ์ต้า (Singtripop *et al.*, 1999) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าในช่วงระยะไคอะพอสนี้ ต่อมไพรทอแรกซิกถูกยับยั้งไม่ให้เกิดการหลั่งฮอร์โมนเอกไดโซน หนอนจึงไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ดักแด้ นอกจากนี้ อัญชลี (2542) ได้พบว่าการให้ฮอร์โมนจูวีไนล์สังเคราะห์ (juvenile hormone analogue : JHA, methoprene) แก่หนอนเยื่อไผ่ระยะไคอะพอส มีผลทำให้หนอนเกิดการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้ได้ แสดงให้เห็นว่า JHA ที่ให้ไป มีผลต่อการทำให้ระยะลาร์วัลไคอะพอสสิ้นสุดลง และจากผลการศึกษาทางด้านเนื้อเยื่อวิทยาพบว่าสมองและต่อมไพรทอแรกซิกของหนอนที่ได้รับ JHA มีการเปลี่ยนแปลงและพัฒนาได้ใกล้เคียงกับในระยะดักแด้ จึงเป็นไปได้ว่าอวัยวะเป้าหมายของ JHA อาจเป็นสมองและต่อมไพรทอแรกซิก แต่จากการศึกษาของ Singtripop *et al.* (2000) พบว่าหนอนในระยะไคอะพอสที่ทำการผ่าตัดเอาสมองออกแล้วให้ JHA สามารถเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้ได้เช่นเดียวกัน แสดงว่า JHA อาจจะมีผลโดยตรงต่อต่อมไพรทอแรกซิก ทำให้ต่อมไพรทอแรกซิกมีกิจกรรมในการหลั่งฮอร์โมน (secretory activity) เพิ่มขึ้น ต่อมจึงผลิตฮอร์โมนเอกไดโซนมากขึ้น และชักนำให้หนอนเข้าสู่ระยะดักแด้ได้ จากสมมติฐานนี้จึงได้วางแผนการทดลองโดยทำการปลูกถ่าย (transplantation) ต่อมไพรทอแรกซิกจากหนอนระยะไคอะพอสที่ได้รับ JHA แล้วนำไปใส่ในหนอนระยะไคอะพอสอีกตัวหนึ่งซึ่งไม่ได้รับ JHA จากนั้นสังเกตผลการเปลี่ยนแปลงของหนอนหลังจากได้รับการปลูกถ่ายต่อมไพรทอแรกซิก หากว่าหนอนเกิดการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้ แสดงว่าต่อมไพรทอแรกซิกของหนอนที่ได้รับ JHA ได้รับการกระตุ้นให้มีการสร้างและหลั่งฮอร์โมนเอกไดโซนออกสู่ฮีโมลิมพ์ต้าจนทำให้ระยะลาร์วัลไคอะพอสสิ้นสุดลง นอกจากนี้ยังได้ทำการปลูกถ่ายต่อมไพรทอแรกซิกในระหว่างระยะไคอะพอสของหนอนแต่ละเดือน เพื่อศึกษาการตอบสนองของต่อมไพรทอแรกซิกที่มีต่อฮอร์โมนจูวีไนล์ ตลอดจนทำการศึกษากการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนเอกไดโซนในฮีโมลิมพ์และกิจกรรมการหลั่งฮอร์โมนเอกไดโซนของต่อมไพรทอแรกซิก ในหนอนที่ได้รับการปลูกถ่ายต่อมไพรทอแรกซิก นอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนเอกไดโซนเนื่องมาจากการกระตุ้นโดยฮอร์โมนจูวีไนล์ดังที่ได้กล่าวไปแล้วอาจจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเอกไดโซนรีเซปเตอร์ยีน (Ecdysone receptor gene

: *EcR*) ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการศึกษาถึงผลของฮอร์โมนจูวีไนล์ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของ *EcR* ในต่อมไทรโทแรกซิกของหนอนที่ได้รับและไม่ได้รับ JHA อย่างไรก็ตามยังไม่เคยมีรายงานถึงลำดับเบสและกรดอะมิโนใน *EcR* ของหนอนเชื้อไผ่มาก่อน จึงต้องทำการ clone *EcR* ของหนอนเชื้อไผ่เพื่อหาลำดับเบสและกรดอะมิโน จากนั้นจะใช้ partial sequence ของลำดับเบสที่ได้มาใช้ในการออกแบบไพรเมอร์ (primer) เพื่อใช้ในการตรวจวิเคราะห์ความแตกต่างของ *EcR* mRNA expression ต่อไป

จากวัตถุประสงค์ทั้งหมดที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่า ในปัจจุบันงานวิจัยทางด้านหนอนเชื้อไผ่ได้มีความก้าวหน้าไปจนถึงระดับโมเลกุล ในการอธิบายถึงกลไกที่มีบทบาทต่อการสิ้นสุดของระยะไคอะพอสในหนอนเชื้อไผ่ การทราบถึง partial sequence ของลำดับเบสของ *EcR* ในหนอนเชื้อไผ่จะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญนำไปสู่การหาลำดับเบสของ *EcR* เช่นเดียวกับที่พบในแมลงชนิดอื่น และสามารถนำไปใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ทางสายวิวัฒนาการในแมลงกลุ่มเดียวกันได้ นอกจากนี้ยังทำให้สามารถตรวจสอบถึง localization ของ *EcR* ว่าปรากฏอยู่ในเนื้อเยื่อหรืออวัยวะส่วนใดบ้างในการเกิดเมตามอร์ฟอซิส ซึ่งถือว่าเป็นองค์ความรู้ใหม่ในระดับโมเลกุลเพื่อใช้ในการอธิบายกลไกการทำงานของระบบฮอร์โมน อีกทั้งยังจะนำไปสู่การวิจัยและการค้นคว้าในระดับสูงเพื่อการพัฒนาความรู้ในงานวิจัยสาขาต่อมไร้ท่อวิทยาต่อไป