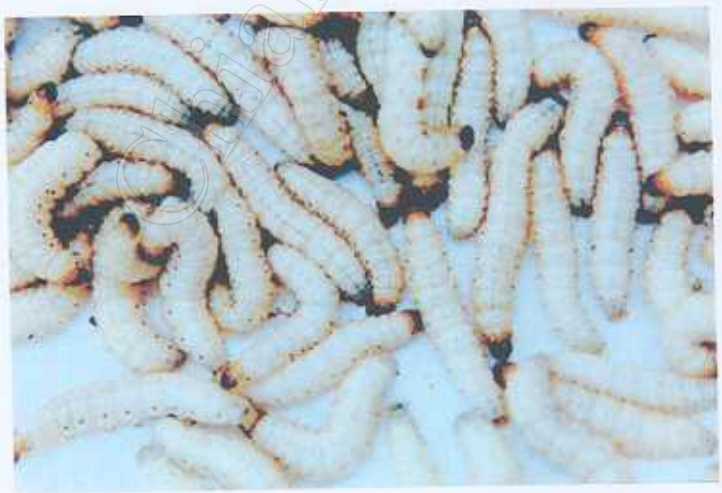
บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ลักษณะทั่วไปของหนอนเยื่อไผ่

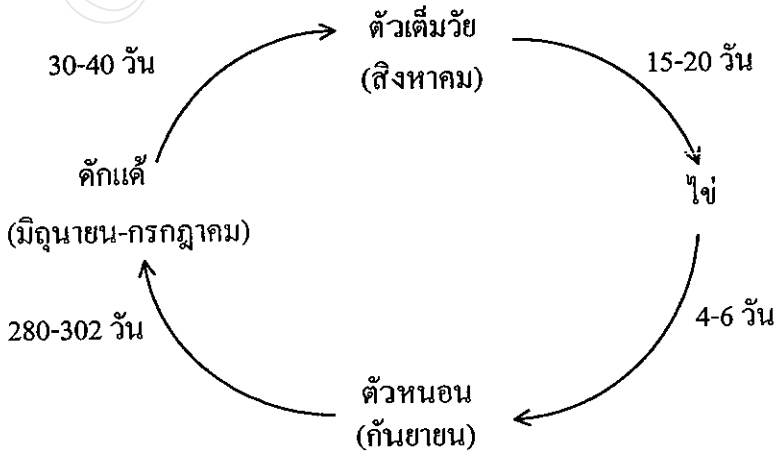
หนอนเยื่อไผ่เป็นระยะตัวหนอนของผีเสื้อกลางคืน(ภาพ1)มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Omphisa fuscidentalis* Hampson จัดอยู่ในวงศ์ Pyralidae อันดับ Lepidoptera ซึ่งจากการศึกษาลักษณะทั่วไปของหนอนเยื่อไผ่พบว่า ลักษณะตัวหนอนเป็นแบบ eruciform โดยมีส่วนหัวเจริญดี มีปากแบบกัดกิน (chewing type) มีหนวด (antennae) สั้นมาก 1 คู่ ลำตัวแบ่งออกเป็นทั้งหมด 13 ปล้อง ส่วนอก 3 ปล้อง ส่วนท้อง 10 ปล้อง ปล้องอกแต่ละปล้อง มีขาจริง (true leg) ปล้องละ 1 คู่ ส่วนขาเทียม (proleg) จะพบที่ส่วนท้อง ปล้องที่ 6, 7, 8, 9 และ 10 ปล้องละ 1 คู่ โดยขาเทียมต่างจากขาจริง คือ มีกล้ามเนื้อมากกว่าและตรงปลายขามีตะขอเล็กๆ เรียงเป็นวง เรียก crochets ทางเดินอาหารมีลักษณะเป็นท่อตรงยาวตลอดตัว แบ่งเป็นทางเดินอาหารส่วนต้น (foregut) ส่วนกลาง (mid gut) และส่วนท้าย (hindgut) เปิดออกสู่ภายนอกที่ปล้องท้ายสุดของลำตัว ระบบหายใจ ประกอบด้วยท่ออากาศ (trachea) และรูหายใจ (spiracle) ระบบหมุนเวียนโลหิต พบมี dorsal blood vessel อยู่ทางกึ่งกลางด้านบนของลำตัว ส่วนระบบประสาทมีสมอง 1 คู่ บริเวณส่วนหัว และมีเส้นประสาทอยู่กึ่งกลางด้านล่างตลอดความยาวลำตัว (วนิดา, 2539)



ภาพ 1 แสดงตัวหนอนในระยะไดอะพอส

วงชีวิตและการดำรงชีวิตของหนอนเยื่อไผ่

เดชา (2535) ได้กล่าวถึงการแพร่กระจายรวมทั้งปัจจัยที่มีผลต่อการกระจายตัวของหนอนเยื่อไผ่ว่าพบได้มากทางภาคเหนือตอนบนของประเทศไทยและประเทศใกล้เคียง ได้แก่ประเทศพม่า ประเทศลาว ประเทศจีนและประเทศมาเลเซีย เนื่องจากบริเวณเหล่านี้มีสภาพพื้นที่และลักษณะภูมิอากาศคล้ายคลึงกันเพราะปัจจัยที่มีผลต่อการกำหนดถิ่นอาศัยของหนอนเยื่อไผ่คือสภาพทางภูมิอากาศ กล่าวคือ ต้องเป็นบริเวณที่มีความชื้นสูงและมีปริมาณน้ำฝนแต่ละปีสูง อากาศค่อนข้างเย็น ไผ่ที่ขึ้นต้องมีความหนาแน่นพอควรและมีร่มเงามากเนื่องจากหนอนเยื่อไผ่เป็นแมลงที่ไม่ชอบแสง ลักษณะของไผ่จะต้องเป็นไผ่ที่มีเนื้อหนาและมีช่องว่างภายในใหญ่พอควรเพราะหนอนอาศัยกินเยื่อไผ่เป็นอาหาร ต่อมาในปี 2538 ไพฑูรย์ได้ศึกษาวงชีวิตของหนอนเยื่อไผ่ (ภาพ 2) โดยละเอียดพบว่าแม่ผีเสื้อจะวางไข่ที่บริเวณโคนหน่อไผ่ที่โผล่พ้นดินแล้วประมาณ 10-15 วัน ซึ่งสามารถพบได้ในช่วงต้นเดือนสิงหาคม ไข่มีสีขาว ระยะไข่ใช้เวลาประมาณ 4-6 วัน จากนั้นฟักเป็นตัวหนอนแล้วพากันเจาะทะลุหน่อไผ่เป็นรูเพื่อเข้าไปอาศัยอยู่ภายใน ลักษณะไม้ไผ่ที่ถูกหนอนกัดกินจากภายนอกอาจสังเกตได้จากปลายยอดหักเห็นได้อย่างชัดเจน ด้านข้างปล้องมีรูเล็กๆรูปวงรีเพื่อให้อากาศถ่ายเทและเป็นทางออกของตัวเต็มวัย ตัวหนอนใช้เวลาเจริญเติบโตภายในกระบอกไม้ไผ่เป็นกลุ่มโดยการกัดกินเยื่อของไม้ไผ่ที่บุอยู่ภายในเป็นอาหาร ระหว่างที่หนอนเจริญเติบโตและพร้อมกันนั้นต้นไผ่ก็สูงขึ้นเรื่อยๆ หนอนจะพากันเจาะทะลุระหว่างปล้องแล้วเคลื่อนย้ายกัดกินไผ่ขึ้นไปเรื่อยๆ เพราะหนอนจะกินเฉพาะเยื่อไผ่ที่ยังอ่อนเท่านั้น ส่วนใหญ่หนอนจะกินบริเวณโคนปล้องก่อนเรื่อยไปจนถึงกลางปล้อง หลังจากตัวหนอนย้ายขึ้นไปอยู่ปล้องอื่นแล้วจะพบว่า มีสิ่งขับถ่ายลักษณะเหมือนฟองน้ำสีน้ำตาล ติดอยู่ตามผนังของปล้องนอกจากนั้นสีผิวไม้ภายในปล้องจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มออกดำแดงซึ่งแตกต่างจากลักษณะภายในปล้องที่ไม่มีหนอนอาศัยอยู่อย่างชัดเจน ในไผ่ลำหนึ่งจะพบหนอนอาศัยอยู่ประมาณ 100-250 ตัว ระยะตัวหนอนนี้ใช้เวลานานถึงประมาณ 280-304 วัน โดยพบในช่วงเดือนกันยายนถึงปลายพฤษภาคม



ภาพ 2 วงชีวิตของหนอนเยื่อไผ่

เมื่อหนอนเจริญเติบโตเต็มที่แล้วจึงเคลื่อนย้ายลงมาผ่านรูระหว่างปล้องที่เคยเจาะไว้ตอนต้นโดยเคลื่อนย้ายลงมารวมกันใกล้ปล้องด้านล่างที่เจาะรูเข้ามาในตอนแรกและรอเข้าดักแด้ในปล้องนั้น ระหว่างที่รอเข้าดักแด้หนอนจะพากันสร้างเยื่อหนาสีน้ำตาลกั้นระหว่างบริเวณที่รวมกลุ่มกันอยู่ เพื่อป้องกันการรบกวนจากศัตรูธรรมชาติ เช่น มด ส่วนรูทะลุระหว่างปล้องก็จะถูกปิดไว้เพื่อกันศัตรูเช่นกัน

ในช่วงปลายเดือนพฤษภาคมก่อนที่ดักแด้จะออกเป็นตัวเต็มวัยนั้น เยื่อหนาสีน้ำตาลดังกล่าวจะฉีกขาดและหนอนจะทำการสร้างใยสีขาวเล็กๆจำนวนมากพาดขวางตามปล้องขึ้นมาแทน ตัวหนอนจะเริ่มห้อยหัวลง แล้วทยอยลอกคราบติดที่โคนเส้นใยที่ตัวหนอนเกาะยึดอยู่แล้วกลายเป็นดักแด้ (ภาพ 3) ดักแด้จะมีสีน้ำตาลอ่อนในระยะแรกและค่อยๆเข้มขึ้นในเวลาต่อมา ระยะดักแด้ใช้เวลาประมาณ30-40วัน โดยจะพบช่วงเดือนมิถุนายนถึงกรกฎาคม การแขวนตัวของดักแด้มีประโยชน์ในการออกเป็นตัวเต็มวัยโดยอาศัยแรงดึงดูดของโลกช่วยในการออกและกางปีกแล้วคลานออกจากรูที่เตรียมไว้สู่ภายนอก (ไพฑูรย์, 2538) สำหรับตัวเต็มวัย (ภาพ 4) สามารถพบได้ในช่วงต้นเดือนสิงหาคมซึ่งเป็นช่วงเวลาที่หน่อไผ่อ่อนกำลังแทงยอดขึ้น จึงทยอยวางไข่ได้ต่อไป ตัวเต็มวัยของหนอนเยื่อไผ่เป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดเล็กมีสีน้ำตาลเข้มทั้งตัว ลักษณะเด่นคือปลายปีกคู่หน้ามีรอยหยักเป็นเส้นโค้งสีดำสามารถเห็นได้อย่างชัดเจน ขนาดกว้างเมื่อกางปีกวัดได้ 30-60 มิลลิเมตร ขึ้นอยู่กับเพศ โดยตัวเมียมีขนาดใหญ่กว่าตัวผู้ ระยะตัวเต็มวัยของผีเสื้อใช้เวลาเพียง 15-20 วันเท่านั้น

ภาพ 3 แสดงระยะดักแด้ก่อนเข้าสู่ตัวเต็มวัย

ภาพ 4 แสดงตัวเต็มวัยของหนอนเยื่อไผ่

ฮอร์โมนและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของแมลง

ในแมลง การเป็นเอมบริโอ(embryo)จะสิ้นสุดเมื่อฟักออกจากไข่แล้ว เรียกว่าการเจริญเอมบริโอระยะหลัง (post-embryonic development) โดยเจริญเป็นตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย โดยระหว่างระยะตัวหนอนและดักแด้อวัยวะก็ยังมีการเจริญต่อไปจนสมบูรณ์ ซึ่งมีทั้งการลอกคราบและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างหรือที่เรียกว่าเมตามอร์ฟอซิสเกิดขึ้น (Schneiderman and Gilbert, 1964)

สำหรับการลอกคราบของแมลงนั้น เสาวภา (2536) ได้อธิบายไว้อย่างละเอียดว่ามีวิธีการและขั้นตอนที่ประกอบด้วยเหตุการณ์ 2 อย่างที่เกิดขึ้นต่อเนื่องกัน กล่าวคือ ขั้นตอนแรกเป็นการแยกชั้นผนังลำตัวเก่าและใหม่ออกจากกันโดยผนังลำตัวใหม่อยู่ชั้นล่างเรียกขั้นตอนนี้ว่าอะโพไลซิส (apolysis) ขั้นตอนที่สองเป็นการสลัดผนังลำตัวเก่าออกทิ้งไปเรียกว่าเอกไดซิส(ecdysis)หรือโมลติง (molting) ก่อนการลอกคราบนั้นเซลล์อิพิเดอร์มิส (epidermis) จะขยายใหญ่ขึ้นและมีการแบ่งตัวได้เซลล์จำนวนมากขดอยู่แน่นติดชิดกันกลายเป็นเซลล์คอลัมนาร์ (columnar cell) ที่ขดไปมาและห่อเหี่ยว เป็นการเพิ่มเนื้อที่คิวติเคิลใหม่แล้วคิวติเคิลเก่าค่อยๆแยกชั้นออกจากอิพิเดอร์มิส จากนั้นเซลล์อิพิเดอร์มิสค่อยๆสร้างคิวติเคิลใหม่เกิดขึ้นมา ทำให้คิวติเคิลเก่ากับคิวติเคิลใหม่แยกชั้นกัน เมื่อคิวติเคิลแยกจากกันแล้ว เซลล์อิพิเดอร์มิสจะผลิตของเหลวเรียกว่า molting fluid ออกมาแทรกอยู่ระหว่างสองชั้นที่แยกกันนี้ โดยใน molting fluid มีเอนไซม์ proteinase และ chitinase ซึ่งจะย่อยผนังชั้น endocuticle เก่า เมื่อชั้นคิวติเคิลใหม่ขยายตัวมากขึ้นมาแทนที่ ชั้นคิวติเคิลเก่าก็ถูกสลัดทิ้งไป โดยแมลงจะหดตัวที่กล้ามเนื้อท้องและเพิ่มความดันเลือดในส่วนหัวและอก จนทำให้ตำแหน่ง

อ่อนแอที่สุดบนคราบเก่าแตกออก ตำแหน่งดังกล่าวมักอยู่ที่ส่วนหัวและเส้นกลางอก มีลักษณะคล้ายรูปตัว y เรียกว่า ecdysial line ถ้าเป็นแมลงที่แขวนตัวเองแล้วห้อยหัวลงมา เวลาลอกคราบจะอาศัยแรงโน้มถ่วงของโลกด้วย หลังการลอกคราบออกใหม่ๆ ชั้นคิวติเคิลยังคงนุ่มนิ่ม ย่นยู่ยี่ สีซีด หลังจากเวลาผ่านไป 1-2 ชั่วโมง คิวติเคิลจะเริ่มแข็ง และอวัยวะภายในขยายตัวเต็มที่ สีผิวลำตัวจะเข้มขึ้น แมลงมีจำนวนครั้งของการลอกคราบแตกต่างกันไปขึ้นกับชนิดของแมลง นอกจากนี้ เสาวภา(2536) ยังกล่าวว่าการลอกคราบครั้งสุดท้ายเพื่อเปลี่ยนแปลงรูปร่างที่เรียกว่าเมตามอร์ฟอซิสสามารถเกิดได้ทั้งแบบสมบูรณ์ (complete metamorphosis) และไม่สมบูรณ์ (incomplete metamorphosis) โดยการเกิดเมตามอร์ฟอซิสแบบสมบูรณ์นั้น ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยจะแตกต่างกันมากทั้งรูปร่างและการดำรงชีวิต ในขณะที่การเกิดเมตามอร์ฟอซิสแบบไม่สมบูรณ์ ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยจะคล้ายกันมาก มีเพียงขนาดตัวเท่านั้นที่แตกต่างกัน (เสาวภา, 2536) ส่วนในหนอนเยื่อไผ่นั้น จัดว่ามีเมตามอร์ฟอซิสแบบสมบูรณ์

Wigglesworth (1934) เป็นคนแรกที่ได้ทำการศึกษาเรื่องฮอร์โมนและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างโดยทำการศึกษาในมวนดูดเลือดร็อดเนียส (blood sucking bug, *Rodnius prolixus*) พบว่าการเกิดเมตามอร์ฟอซิสในแมลงชนิดนี้ถูกควบคุมด้วยฮอร์โมนที่มีอยู่ในเลือด (blood-born hormone) และพบว่าต่อมคอร์ปัสอัลเลตัมที่อยู่บริเวณสมองทำหน้าที่ในการสร้างฮอร์โมนที่มีผลต่อการเกิดเมตามอร์ฟอซิส โดยถ้าผ่าตัดเอาต่อมคอร์ปัสอัลเลตัมของตัวหนอนในอินสตาร์ที่ 3 ออก ในการลอกคราบครั้งต่อไปจะทำให้ได้ลักษณะของตัวเต็มวัยแทนที่จะได้ตัวหนอนอินสตาร์ที่ 4 และในทางกลับกันถ้าทำการผ่าตัดเอาต่อมคอร์ปัสอัลเลตัมของตัวหนอนอินสตาร์ที่ 4 แล้วนำไปปลูกถ่ายในตัวหนอนอินสตาร์ที่ 5 ซึ่งเป็นตัวหนอนระยะสุดท้าย จะทำตัวหนอนในอินสตาร์ที่ 5 เกิดการลอกคราบเป็นตัวหนอนอินสตาร์ที่ 6 แทนที่จะได้ตัวเต็มวัย แสดงให้เห็นว่าฮอร์โมนที่สังเคราะห์ได้จากต่อมคอร์ปัสอัลเลตัม มีบทบาทในการควบคุมการเปลี่ยนแปลงรูปร่างในแมลงชนิดนี้

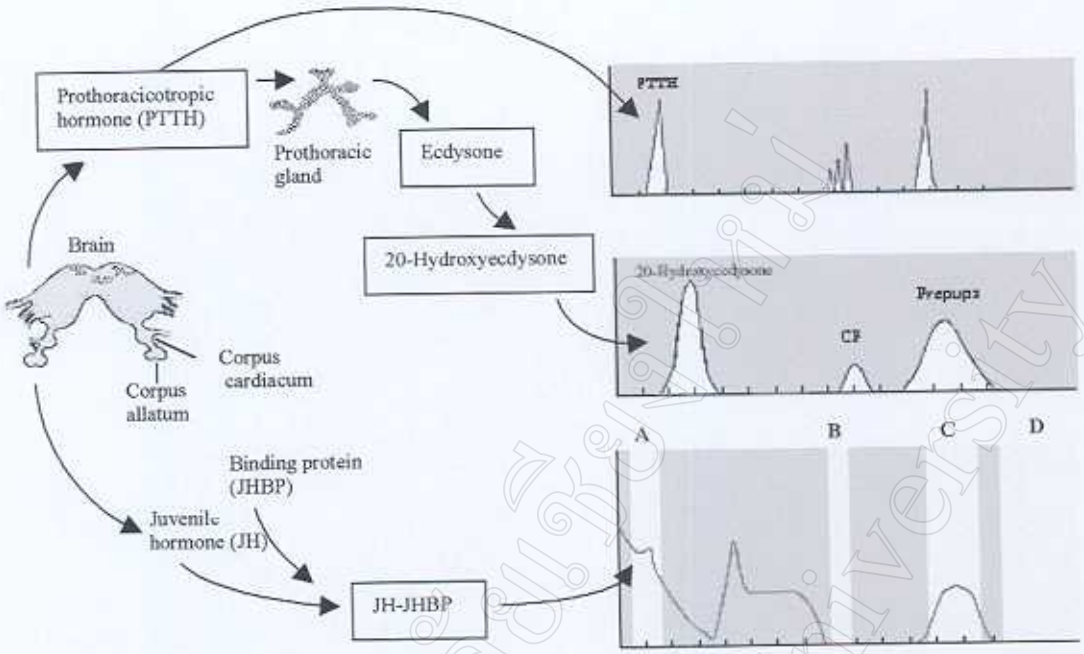
สำหรับกลไกการควบคุมการเกิดเมตามอร์ฟอซิสจะแตกต่างกันไปขึ้นกับชนิดของแมลง แต่อย่างไรก็ตามกลไกต่างๆเหล่านั้นก็มีความคล้ายคลึงกัน โดยการควบคุมการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและการลอกคราบของแมลงอยู่ภายใต้การควบคุมของฮอร์โมนจากสมอง ต่อมโปรทอแรกซิก และต่อมคอร์ปัสอัลเลตัม โดยนิวโรซีครีทอรีเซลล์ (neurosecretory cell) ในสมองผลิต PTTH ซึ่งจะกระตุ้นต่อมโปรทอแรกซิกให้มีการสร้างและหลั่งฮอร์โมนเอคไดโซน แต่ฮอร์โมนเอคไดโซนที่สังเคราะห์ได้อยู่ในรูปที่ยังไม่ทำงาน (inactive) จะต้องถูกเปลี่ยนโดยเอนไซม์ ที่ก้อนไขมันต่างๆ (fat body) เป็น 20-hydroxyecdysone (20E) ก่อนจึงจะทำงานได้ (active) โดยทำให้เกิดการกระตุ้นเซลล์อิพิเดอร์มิสให้เกิดการแบ่งตัวเพื่อสร้างชั้นคิวติเคิลใหม่และสลัดชั้นคิวติเคิลเก่าทิ้งไป ในการลอกคราบแต่ละครั้งจะเกิดขึ้นโดยอาศัยจังหวะ (pulse) การหลั่งของ 20-hydroxyecdysone 2 ครั้ง

ครั้งแรกจะเกิดในการ molting เพื่อเข้าสู่ระยะตัวหนอนอินสตาร์ขั้นต่อไป โดยความเข้มข้นของ 20-hydroxyecdysone จะมีการเพิ่มขึ้นเล็กน้อย พร้อมกับการเกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับโมเลกุล เพื่อพร้อมที่จะเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะถัดไป (commitment) ต่อมาในครั้งที่ 2 ความเข้มข้นของ 20-hydroxyecdysone จะเพิ่มขึ้นอย่างสูงนำไปสู่การลอกคราบของตัวหนอนระยะถัดไปได้ในที่สุด ในบางกรณีพบว่าสภาพแวดล้อมมีผลต่อการควบคุม molting เช่นใน giant silkmoth, *Hyalophora cecropia* โดยพบว่าการหลั่ง PTTH จะหยุดลงเมื่อเกิดการสร้างลักษณะการเป็นดักแด้ และระยะดักแด้จะคงสภาพอยู่ตลอดช่วงฤดูหนาว แต่จะเกิดการลอกคราบเพื่อเป็นตัวเต็มวัยได้เมื่อได้รับอุณหภูมิที่สูงขึ้น (Williams, 1952, 1956) สำหรับต่อมคอร์ปัสอัลเลตัมนั้นเป็นต่อมที่ทำหน้าที่ผลิตฮอร์โมนจูวีไนล์ ที่มีฤทธิ์กระตุ้นให้ตัวอ่อนเกิดการพัฒนาแต่ป้องกันการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง โดยการที่ยังคงมีระดับของฮอร์โมนจูวีไนล์ในตัวอ่อนของแมลง จะทำให้ตัวอ่อนยังคงความเป็นตัวอ่อนของมันเอาไว้ไม่ให้เปลี่ยนไปเป็นตัวเต็มวัย โดยทั่วไปถ้าร่างกายมีฮอร์โมนจูวีไนล์สูงแมลงจะยังคงอยู่ในสภาพตัวหนอน แต่การลดต่ำลงของฮอร์โมนจูวีไนล์จะทำให้เกิดการกระตุ้นการเข้าสู่ระยะดักแด้ และถ้าไม่มีฮอร์โมนจูวีไนล์เลยแมลงก็จะเป็นตัวเต็มวัย กล่าวคือฮอร์โมนจูวีไนล์จะลดลงเมื่อเข้าใกล้ระยะตัวเต็มวัย (เสาวภา, 2525 และ Slama, 1995)

นอกจากนี้ Safranek and Williams (1989) ยังกล่าวว่า ในตัวหนอนอินสตาร์สุดท้าย medial nerveจากสมองมีผลยับยั้งต่อมคอร์ปัสอัลเลตัมในการสังเคราะห์ฮอร์โมนจูวีไนล์ และความสามารถของตัวหนอนอินสตาร์สุดท้ายต่อการลดลงของฮอร์โมนจูวีไนล์มีเพิ่มขึ้น ซึ่งการไม่มีฮอร์โมนจูวีไนล์ในขณะนี้ ส่งผลทันทีทำให้เกิดการหลั่งของ PTTH (Nijhout and Williams, 1974; Rountree and Bollenbacher, 1986) PTTH จึงกระตุ้นต่อมโปรทอแรกซิกให้หลั่งฮอร์โมนเอคไดโซนออกมาในปริมาณเพียงเล็กน้อย จากนั้นเมื่อฮอร์โมนเอคไดโซนเริ่มทำงานได้ ในขณะที่ไม่มีฮอร์โมนจูวีไนล์ จะทำให้เกิด commitment ของเซลล์ต่อฮอร์โมนเอคไดโซน (commitment pulse of 20E : CP) เพื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะก่อนเข้าสู่ระยะดักแด้ที่เรียกว่า prepupa และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับโมเลกุล โดยเกิดการยับยั้ง larval-specific mRNA transcription ต่อมาภายหลังการเกิด pulse ของฮอร์โมนเอคไดโซนในครั้งที่ 2 จะมีการสังเคราะห์ pupal-specific gene เกิดขึ้น (Riddiford, 1980) นำไปสู่การเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้ ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า การเกิด pulse ของฮอร์โมนเอคไดโซนในครั้งที่ 1 ของตัวหนอนอินสตาร์สุดท้าย เป็นตัวการสำคัญที่ทำให้ larval-specific gene ไม่ทำงานและทำให้เกิดการเตรียมพร้อมในระดับโมเลกุลเพื่อเกิด pupal-specific gene transcription ส่วนการเกิด pulse ของฮอร์โมนเอคไดโซนในครั้งที่ 2 ทำให้เกิดการ transcription ของ pupal-specific gene และทำให้การลอกคราบเพื่อเข้าสู่ดักแด้เริ่มขึ้น (Nijhout, 1994) จึงกล่าวได้ว่ากลไกการควบคุมการลอกคราบเป็นผลของ PTTH และเอคไดโซน ส่วนการควบคุมลักษณะ

ตัวเต็มวัยอยู่ภายใต้การหลั่งฮอร์โมนจูวีไนล์ (Schneiderman and Gilbert, 1964; Truman and Riddiford, 1994)

นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาถึงบทบาทของฮอร์โมนจูวีไนล์ในการเกิดเมตามอร์ฟอซิสอย่างกว้างขวาง โดยใช้แบบแผนการเกิดเมตามอร์ฟอซิสในหนอนหงอนยาสูบ (tobacco hornworm, *Manduca sexta*) ในการอธิบาย (ภาพ 5) โดยพบว่าเซลล์ที่แตกต่างกันจะมีการตอบสนองต่อฮอร์โมนจูวีไนล์ในช่วงระยะเวลาที่มีความจำเพาะเจาะจง กล่าวคือในช่วงที่มีฮอร์โมนจูวีไนล์ เซลล์จะมีการตอบสนอง (sensity) ต่อฮอร์โมนจูวีไนล์ จึงเรียกว่าเป็น ระยะตอบสนองของฮอร์โมนจูวีไนล์ (JH-sensitivity period) ดังนั้นถ้าไม่มีฮอร์โมนจูวีไนล์ในช่วงนี้เซลล์และเนื้อเยื่อต่างๆจะมีการเจริญเพื่อพัฒนาต่อไปได้ ซึ่งระยะตอบสนองของฮอร์โมนจูวีไนล์นั้นเกิดขึ้นอย่างอัตโนมัติ (Nijhout, 1994) คาดว่าเกิดเนื่องจากการที่รีเซบเตอร์ของฮอร์โมนจูวีไนล์มีความเหมาะสมที่จะจับกับฮอร์โมนจูวีไนล์ นอกจากนี้ในแต่ละระยะของตัวหนอนที่มีฮอร์โมนจูวีไนล์ จะป้องกันการเกิดการเปลี่ยนแปลงของอิพิเดอร์มิสของตัวหนอนไปเป็นอิพิเดอร์มิสของดักแด้ หากไม่มีฮอร์โมนจูวีไนล์ตัวหนอนจึงจะกลายเป็นดักแด้ได้ เมื่อถึงระยะตัวหนอนก่อนที่จะเข้าระยะอินสตาร์สุดท้าย (penultimate instar larvae) ฮอร์โมนจูวีไนล์ยังคงมีบทบาทให้อิพิเดอร์มิสของตัวหนอนยังอยู่ในระยะตัวหนอนไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่เมื่อเข้าสู่ระยะอินสตาร์สุดท้าย จะเกิดระยะตอบสนองของฮอร์โมนจูวีไนล์ต่อทั้งพิเดอร์มิสของตัวหนอน และปุ่มปีก (wing disc) โดยเกิดระยะตอบสนองของฮอร์โมนจูวีไนล์ครั้งแรกกับอิพิเดอร์มิส โดยในช่วงนี้เองมีการลดลงของฮอร์โมนเอคไดโซน ดังนั้นอิพิเดอร์มิสของตัวหนอนจะมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นอิพิเดอร์มิสของดักแด้ ในช่วงที่ 2 จะเกิดระยะตอบสนองของฮอร์โมนจูวีไนล์ต่อปุ่มปีก ดังนั้นปุ่มปีกจึงไม่เกิดการเจริญพัฒนา (differentiation) แต่ในระยะถัดไป การเกิด pulse ของฮอร์โมนเอคไดโซนและการไม่มีฮอร์โมนจูวีไนล์ ทำให้อิพิเดอร์มิสของดักแด้มีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นอิพิเดอร์มิสของตัวเต็มวัย และทำให้ปุ่มปีกเริ่มเกิดการเจริญพัฒนา (Nijhout and Wheeler, 1982.) พร้อมที่จะเข้าสู่ตัวเต็มวัยในที่สุด



ภาพ 5 แสดงความสัมพันธ์ของระบบฮอร์โมนต่อการเกิดเมตามอร์ฟอซิส เมื่อ A,B คือ ช่วงที่อิพิเดอร์มิสของตัวหนอนมีความพร้อมจะเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นอิพิเดอร์มิสของดักแด้, C คือ ช่วงที่ปุ่มปีกในระยะดักแด้มีความพร้อมจะเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นปุ่มปีกของตัวเต็มวัย,และ D คือ ช่วงที่ปุ่มปีกและอิพิเดอร์-มิสของระยะดักแด้มีความพร้อมจะเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นปุ่มปีกและอิพิเดอร์มิสของตัวเต็มวัย (ดัดแปลงจาก Nijhout, 1994)

ฮอร์โมนโปรทอแรกซิโคโทรปิก (Prothoracicotrophic hormone : PTTH)

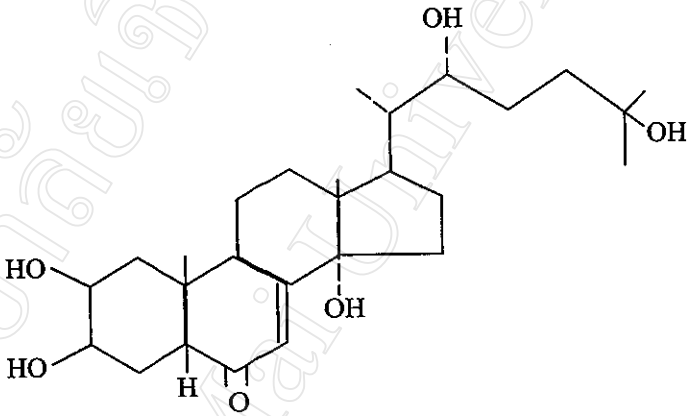
ในปี 1917 Kopec เป็นคนแรกที่แสดงให้เห็นถึงบทบาทของ PTTH โดยกล่าวว่า สมองมีความจำเป็นต่อการเกิดระยะดักแด้ในผีเสื้อยิปซี (Gypsy moth, *Lymantria dispar*) โดยพบว่าการผ่าตัดเอาสมองของตัวหนอนในระยะก่อนเข้าสู่ระยะตัวหนอนอินสตาร์สุดท้าย มีผลทำให้ตัวหนอนดังกล่าวไม่สามารถเข้าสู่ระยะดักแด้ได้ แต่ถ้าผ่าตัดเอาสมองของตัวหนอนที่เข้าสู่ระยะอินสตาร์สุดท้ายแล้ว จะทำให้หนอนเข้าสู่ระยะดักแด้ได้อย่างปกติ นอกจากนี้การให้สารสกัดจากสมองแก่ดักแด้ของผีเสื้อหนอนไหม (silkworm, *Bombyx mori*) ที่ผ่าตัดเอาสมองออก มีผลทำให้ดักแด้ดังกล่าวสามารถเปลี่ยนแปลงเป็นตัวเต็มวัยได้ (Kobayashi and Kirumura, 1958; Ichikawa and Ishisaki, 1961) ต่อมาภายหลังจึงทราบว่า สารสกัดที่ได้จากสมองดังกล่าวคือ PTTH ถือเป็นนิวโรเปปไทด์ฮอร์โมน (neuropeptide hormone) สร้างจากเซลล์นิวโรซีครีทอรีของสมองนั่นเอง (Bollenbacher and Granger, 1985; Gilbert *et al.*, 1988, 1996; Ishizaki and Suzuki, 1994)

Matsuo *et al.* (1985) and Kataoka *et al.* (1987) ได้พยายามที่จะทำการแยกบริสุทธิ์ PTTH และทำให้บริสุทธิ์ จาก *B. mori* จนกระทั่งในปี 1990 Kawakami *et al.* รายงานว่า PTTH มีโครงสร้างเป็น homodimer แต่ละ monomer ประกอบด้วยกรดอะมิโน 109 ตัว เป็นฮอร์โมนที่มีบทบาทต่อการสังเคราะห์ฮอร์โมนเอคไดโซนจากต่อมโปรทอแรกซิก โดย Bollenbacher *et al.* (1987) ได้ทำการศึกษาถึงการควบคุมการเปลี่ยนแปลงของการลอกคราบของระยะตัวหนอน (larval molt) ใน *M. sexta* พบว่า การควบคุมการลอกคราบของระยะตัวหนอนเริ่มจากการกระตุ้นของ PTTH แล้วไปมีผลกระตุ้นต่อมโปรทอแรกซิกทำให้ปริมาณฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์เพิ่มขึ้น จนนำไปสู่การลอกคราบของตัวหนอน และเสนอว่าการลดลงของฮอร์โมนจูวีไนล์ในฮีโมลิมพ์มีผลกระตุ้นให้เกิดการหลั่ง PTTH ซึ่งเมื่อมีการหลั่ง PTTH ก็จะมีผลกระตุ้นการทำงานของต่อมโปรทอแรกซิกให้หลั่งฮอร์โมนเอคไดโซนมากขึ้น เมื่อปริมาณฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์เพิ่มขึ้นก็มีผลทำให้ต่อมคอร์ปัสอัลเลตัมเริ่มทำงานอีกครั้งทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนจูวีไนล์ในฮีโมลิมพ์ มีผลโดยตรงทำให้เกิดการลอกคราบในที่สุด

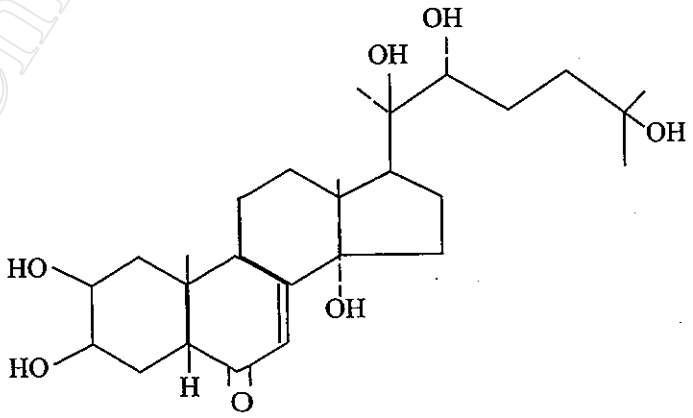
ปัจจุบัน พบว่า PTTH มีผลต่อการกระตุ้นการทำงานของต่อมโปรทอแรกซิกในระดับโมเลกุล โดยไปมีผลต่อระดับ cyclic Adenosine Monophosphate (cAMP) ซึ่งถือเป็น second intracellular messenger ที่สำคัญในระดับเซลล์ ทั้งใน *M. sexta* (Smith *et al.*, 1984; Gilbert *et al.*, 1988, 1996; Smith, 1993, 1995) และใน *B. mori* (Gu *et al.*, 1996, 1997) โดยพบว่า PTTH มีผลไปกระตุ้นการหลั่งของฮอร์โมนเอคไดโซนบริเวณผิวรอบนอกของรีเซบเตอร์บนต่อมโปรทอแรกซิก ทำให้เกิดการกระตุ้นของระบบ calcium/calmodulin sensitive adenylate cycle ส่งผลให้เกิดการเพิ่มขึ้นของระดับแคลเซียมอิออน (Ca^{2+}) และ cAMP รวมทั้งทำให้เกิดกระบวนการ phosphorylation ผ่านทางระบบ G-protein pathway กระตุ้นให้เกิดการสังเคราะห์ของโปรตีนที่จำเพาะเจาะจงต่อไป ตัวอย่างการศึกษาใน *B. mori* พบว่า ต่อมโปรทอแรกซิกในระยะต้นๆของตัวหนอนระยะอินสตาร์สุดท้ายไม่มีการเพิ่มขึ้นของระดับ cAMP หรือ การสังเคราะห์ฮอร์โมนในการที่จะตอบสนองโดยการกระตุ้นของ PTTH ซึ่งการที่ไม่มี PTTH ในระยะดังกล่าวถือว่ามีบทบาทสำคัญในการนำไปสู่การพัฒนาของระยะตัวหนอน เพราะเมื่อไม่มี PTTH ก็จะทำให้ระดับของฮอร์โมนเอคไดโซนลดลง เมื่อรวมกับการที่ต่อมคอร์ปัสอัลเลตัมไม่ทำงานก็จะนำไปสู่การเข้าดักแด้(larval-pupal transformation) ที่สมบูรณ์ ในช่วงท้ายของการเจริญ (Gu and Chow, 1993, 1990; Gu *et al.*, 1996, 1997, 2000)

ฮอร์โมนเอคไดโซน (Ecdysone)

ฮอร์โมนเอคไดโซน เป็นฮอร์โมนที่สร้างได้จากต่อมโปรทอแรกซิก เป็นสารประกอบของ 2-β-unsaturated ketone ที่มีคาร์บอน 18 อะตอม มีสูตรโครงสร้างโดยทั่วไปคือ $C_{27}H_{44}O_6$ มีทั้ง α-ecdysone (ภาพ 6) และ β-ecdysone (ภาพ 7) โดยผลิตเป็น α-ecdysone ก่อน จากนั้นจะถูกเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วโดยเนื้อเยื่อต่างๆของแมลงให้เป็น β-ecdysone ฮอร์โมนเอคไดโซน มีรูปแบบที่ทำงานได้(active form)คือ 20-hydroxyecdysone ซึ่งจะถูกเปลี่ยนโดยเอนไซม์ 20-monooxygenase (Gilbert, 1989)



ภาพ 6 แสดงสูตรโครงสร้างของ α-ecdysone (ecdysone) (ภาพจาก Schneiderman, 1972)



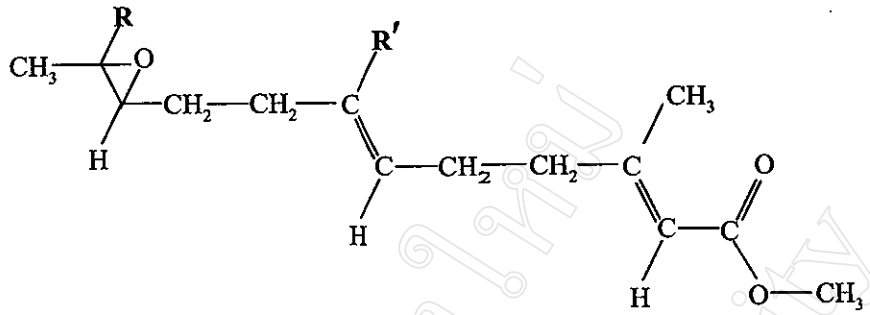
ภาพ 7 แสดงสูตรโครงสร้างของ β-ecdysone (20E) (ภาพจาก Schneiderman, 1972)

สมร (2535)กล่าวว่าฮอร์โมนเอคไดโซนเป็นฮอร์โมนในการลอกคราบ (molting hormone) ในแมลง มีความจำเป็นต่อการเจริญและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของแมลงโดยจะไปกระตุ้นเซลล์อิพิเดอร์มิสให้หลั่งสารที่เกี่ยวข้องกับการลอกคราบของแมลงและสารไคติน (chitin) ที่เป็นองค์ประกอบของคิวติเคิลทำให้เซลล์ของอิพิเดอร์มิสเจริญและแบ่งตัวได้ โดยผลที่เกิดจากฮอร์โมนเอคไดโซนได้แก่ การกระตุ้นปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์ การควบคุมการเจริญเติบโตของแมลง และมีผลต่อกระบวนการเมตาบอลิซึม การซ่อมแซมอวัยวะส่วนที่ชำรุดเสียหาย (regeneration) และมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีลำตัวแมลง แต่บทบาทที่สำคัญที่สุด คือ การกระตุ้นให้เกิดการลอกคราบ โดยพบว่าการให้ 20-hydroxyecdysone ในอาหารของ *B. mori* ในตัวหนอนอินสตาร์สุดท้าย ทำให้ตัวหนอนเกิดการลอกคราบเป็นตัวหนอนได้มากกว่าจำนวนอินสตาร์ปกติ (supernumery larvae) (Gu and Chow, 1993) นอกจากนี้มีการทดลองใน *M. sexta* โดยทำการผ่าตัดเอาต่อมโปรทอแรกซิกในระยะดักแด้ออกในวันที่เป็นดักแด้ พบว่ามีผลทำให้ปริมาณฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์ต่ำลง และเมื่อทำการผ่าตัดเอาต่อมโปรทอแรกซิกของดักแด้ออกภายหลังการหลั่งของ PTTH พบว่าปริมาณฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์ที่มีสูงนั้นลดลงเป็นอัตราส่วนกับมวลของต่อมโปรทอแรกซิกที่ถูกผ่าตัดออก แสดงให้เห็นว่าต่อมโปรทอแรกซิกของระยะดักแด้มีความพร้อมต่อการตอบสนองของการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นตัวเต็มวัย (Sakurai *et al.*, 1991)

ฮอร์โมนจูวีไนล์ (Juvenile hormone : JH)

ฮอร์โมนจูวีไนล์ผลิตได้จากต่อมคอร์ปัสอัลเลตัม ซึ่งเป็นต่อมไร้ท่อ มีลักษณะเป็นก้อนนูนพบอยู่ทั้งสองข้างของสมองใกล้กับคอร์ปัสคาร์ดิเอคัม (corpus cardiacum) เป็นฮอร์โมนที่มีบทบาทสำคัญที่สุดในการควบคุมลักษณะของแมลงในระยะที่เป็นตัวหนอนและดักแด้โดยมีผลในทางตรงคือไปยับยั้งขบวนการเมตามอร์ฟอซิสทำให้ตัวหนอนไม่ลอกคราบ กล่าวคือฮอร์โมนจูวีไนล์มีหน้าที่รักษารูปร่างลักษณะของตัวหนอนเอาไว้ไม่ให้เปลี่ยนไปเป็นตัวเต็มวัย โดยทั่วไปถ้าร่างกายมีฮอร์โมนจูวีไนล์สูง แมลงจะยังคงอยู่ในสภาพตัวหนอน แต่ถ้าระดับฮอร์โมนจูวีไนล์ลดต่ำลงจะมีการกระตุ้นให้เกิดการลอกคราบได้เป็นดักแด้ และถ้าไม่มีฮอร์โมนจูวีไนล์เลยก็จะเป็นตัวเต็มวัย (เสาวภา, 2525; Nijhout, 1994; Riddiford, 1996; Slama, 1995)

ฮอร์โมนจูวีไนล์ในแมลง หรือ methyl epoxyfarnesoate นั้นมีสารเทอร์ปีนอยด์ (terpenoid) จำพวก farnesoate เป็นองค์ประกอบหลัก มีสูตรโครงสร้างโดยทั่วไปดังนี้



ถ้า R และ R′ เป็น C_2H_5 จะเป็นชนิด JH-I

R เป็น C_2H_5 และ R′ เป็น CH_3 จะเป็นชนิด JH-II

R และ R′ เป็น CH_3 จะเป็นชนิด JH-III

ในปัจจุบันสามารถพบฮอร์โมนจูวีไนล์อย่างน้อย 5 ชนิด คือ ฮอร์โมนจูวีไนล์ 0 ถึง IV (Schooley *et al.*, 1984) JHB และ methyl farnesoate (Riddiford, 1994) รวมถึง hydroxy derivative ของ JH-III (Darrouzet *et al.*, 1997)โดย JH-I เป็นฮอร์โมนจูวีไนล์ชนิดแรกที่สกัดได้จากส่วนท้องในระยะดักแด้ของ *H. cecropia* (Williams, 1956) นอกจากนี้ยังพบว่าฮอร์โมนจูวีไนล์ถูกสังเคราะห์ได้จาก male accessory gland ของ *H. cecropia* โดยอาศัยสารตั้งต้นคือ JH acid ที่ผลิตจากต่อมคอร์ปัสอัลเลตัม (Peter *et al.*, 1981) สำหรับ metabolite ของฮอร์โมนจูวีไนล์นั้นเกิดเนื่องมาจากมีการทำงานของเอนไซม์ juvenile hormone esterase (JHE) เพิ่มขึ้น ซึ่งเอนไซม์นี้มีผลต่อการไฮโดรไลซ์ methyl esterase ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์ฮอร์โมนจูวีไนล์ ทำให้ต่อมคอร์ปัสอัลเลตัม มีอัตราการสร้างฮอร์โมนจูวีไนล์ลดลง (Sparks *et al.*, 1983; Hammock, 1985; Riddiford, 1994)

ฮอร์โมนจูวีไนล์มีบทบาทต่อการควบคุมกระบวนการทางสรีระวิทยาในร่างกายแมลงหลายประการดังแสดงในตาราง 1 ไม่ว่าจะเป็น การควบคุมการเจริญเติบโตในระยะเอมบริโอ (Dorn, 1982; Bruning and Lanzerin, 1987) การป้องกันการเกิด melanization ของ cuticle (Hiruma *et al.*, 1991) caste determination (Strambi,1990) การชักนำให้เกิดการทำงานของ JHE ในฮีโมลิมพ์และก้อนไขมันสะสม (Venkataraman *et al.*, 1994) การควบคุมอัตราการกิน (feeding rate)ของตัวหนอน (Kiguchi and Riddiford, 1978) การเกิด wandering behavior (Safranek *et al.*, 1980) การควบคุมระยะไดอะพอส (Denlinger, 1985; Edward *et al.*, 1995) แต่อย่างไรก็ตามบทบาทที่สำคัญของฮอร์โมนจูวีไนล์ได้แก่บทบาทในการควบคุมการเกิดเมตามอร์ฟอซิส กล่าวคือฮอร์โมนจูวีไนล์จะลดลงเป็นลำดับจากระยะตัวหนอนในอินสตาร์ต้นๆ จนลดลงมากที่สุดในอินสตาร์สุดท้ายก่อน

การเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้และตัวเต็มวัย การลดลงของฮอร์โมนจูวีไนล์ดังกล่าวเป็นไปอย่างสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนเอคไดโซน ซึ่งถือเป็นสิ่งกระตุ้นที่สำคัญต่อการเริ่มการเกิดเมตามอร์ฟอซิส (Riddiford, 1980; Sehnal, 1985) ส่งผลให้การเกิดเมตามอร์ฟอซิสเป็นไปอย่างปกติ (Weirich *et al.*, 1973; Sanburg *et al.*, 1974; Vince and Gilbert, 1976; Sparks *et al.*, 1983; Jesudason *et al.*, 1990)

ตาราง 1 ตารางสรุปบทบาททางสรีรวิทยาของฮอร์โมนจูวีไนล์

Physiological effect	**Stage**	**Direction of effect**	**Other required hormone**
Embryonic development	Embryo	Stimulatory	None
Prevention of melanin formation in cuticle	Larva	Suppressive	None
Phase variation	Larva	Stimulatory/ Suppressive	MRCH*
Caste determination	Larva	Stimulatory/ Suppressive	None
Induction of JH esterase activity in the hemolymph and fat body	Larva	Stimulatory	None
Rate of larval feeding	Larva	Stimulatory	None
Wandering behavior	Larva	Stimulatory	None
Diapause protein	Larva/ Adult	Stimulatory	None
Cellular commitment to pupation	Larva	Suppressive	Ecdysone
Cellular commitment for adult development	Pupa	Suppressive	Ecdysone
Pheromone production	Adult	Stimulatory	None
Female receptivity	Adult	Stimulatory	None
Reproductive process	Adult	Stimulatory	None
Widening of spaces between follicle cells	Adult	Stimulatory	None

หมายเหตุ ตารางจาก Jones, 1995

*MRCH, melanization and reddish-coloration hormone

ผลของฮอร์โมนจูวีไนล์ต่อการทำงานของต่อมโปรทอแรกซิก

Sakurai *et al.* (1989) ได้ทำการศึกษาถึงผลของฮอร์โมนจูวีไนล์ ต่อการตอบสนองของต่อมโปรทอแรกซิกในตัวหนอนอินสตาร์สุดท้ายของ *B. mori* พบว่า การผ่าตัดเอาสมองออก (allatectomy) ในวันที่เกิดการลอกคราบไปเป็นตัวหนอนอินสตาร์ที่ 5 หรือการทำ allatectomy ก่อนหน้าการเกิดเอกไดซิส 1 วัน จะทำให้ระยะเวลาในการเกิดเอกไดซิส และ gut purge ช้าลง นอกจากนี้ยังพบว่า ในตัวหนอนที่เกิดการลอกคราบเข้าสู่อินสตาร์ที่ 5 ใหม่ๆ ต่อมโปรทอแรกซิกจะไม่ทำงานและไม่ตอบสนองต่อ PTTH ในขณะที่ต่อมโปรทอแรกซิกของตัวหนอนที่ถูกทำ allatectomy 1 วันก่อนหน้าการเกิดเอกไดซิสนั้นจะทำงานและสามารถตอบสนองต่อ PTTH ได้ เมื่อผ่าตัดเอาต่อมคอร์ปัสอัลเลตัมออกจากตัวหนอนที่ลอกคราบใหม่ๆ พบว่าต่อมโปรทอแรกซิกมีความสามารถในการตอบสนองต่อ PTTH ภายใน 6 ชั่วโมง และสามารถหลั่งฮอร์โมนเอคไดโซนภายใน 9 ชั่วโมง หลังจากการทำ allatectomy การให้ฮอร์โมนจูวีไนล์สังเคราะห์ (methoprene) ให้แก่หนอนที่ผ่านการทำ alltectomy มีผลทำให้ต่อมโปรทอแรกซิกไม่ทำงานแสดงให้เห็นว่าฮอร์โมนจูวีไนล์มีบทบาทในช่วงต้นของระยะอินสตาร์ โดยมีผลในการยับยั้ง secretory activity ของต่อมโปรทอแรกซิกและทำให้ต่อมตอบสนองต่อ PTTH ได้

นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาถึงผลของฮอร์โมนจูวีไนล์สังเคราะห์ชนิดต่างๆ ที่มีผลต่อการทำงานของต่อมโปรทอแรกซิก เช่น การทำการศึกษาในตัวหนอนของ *M. sexta* โดยให้ JH I หรือ hydroprene ทำให้เกิดการล่าช้าของการเกิดการเจริญเติบโตเพื่อเข้าสู่ระยะดักแด้ โดยไปเพิ่มระยะเวลาของ pupal commitment และ wandering stage ของระยะตัวหนอน นอกจากนี้ยังพบว่า hydroprene มีผลโดยตรงไปยับยั้งความสามารถของต่อมโปรทอแรกซิกในการสร้างฮอร์โมนเอคไดโซนและมีผลยับยั้งการกระตุ้นของ PTTH ต่อต่อมโปรทอแรกซิก แสดงให้เห็นว่าฮอร์โมนจูวีไนล์นั้นมีบทบาทในการควบคุมความสามารถของต่อมโปรทอแรกซิกและยับยั้งการหลั่ง PTTH ดังนั้นการลดลงของฮอร์โมนจูวีไนล์ในช่วงการลอกคราบ จึงมีผลทำให้ต่อมโปรทอแรกซิกสามารถสร้างและหลั่งฮอร์โมนเอคไดโซนได้ เช่นเดียวกับการทดลองให้ JH หรือ JH analogue (hydroprene) ก็มีผลทำให้ pupal commitment ช้าหรือหยุดไป ซึ่งขึ้นกับความเข้มข้นของฮอร์โมนที่ให้ไป การเกิดการล่าช้าของ pupal commitment ดังกล่าวเกิดเนื่องจากการลดลงของ commitment peak ของฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์ ซึ่งเป็นผลมาจากการที่ต่อมโปรทอแรกซิกไม่สามารถเพิ่มการสร้างหรือเพิ่มการหลั่งของฮอร์โมนเอคไดโซนได้ นอกจากนี้ยังพบว่าผลของฮอร์โมนจูวีไนล์ที่มีต่อต่อมโปรทอแรกซิกไม่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งการตอบสนองของต่อมต่อ PTTH (Rountree and Bollencher, 1986) นอกจากนี้ ยังพบว่าการให้ methoprene ก็มีผลต่อการทำงานของต่อมโปรทอแรกซิกด้วยเช่นเดียวกัน โดยพบว่า การให้ methoprene ในระยะตัวหนอนอินสตาร์ที่ 5

ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์และไม่มีผลต่อการทำงานของต่อมโปรทอแรกซิก แสดงว่า methoprene น่าจะมีผลไปยับยั้งการทำงานของต่อมโปรทอแรก-ซิกโดยตรง แต่ในทางตรงกันข้ามการทำ allatectomy มีผลทำให้ pulse ของฮอร์โมนเอคไดโซนหายไป (Lonard *et al.*, 1996)

สำหรับใน *B. mori* พบว่าการให้ JHA แก่ตัวหนอนระยะอินสตาร์สุดท้ายของสายพันธุ์ recessive trimolter มีผลชักนำให้เกิด supernumery larvae โดย JHA ไปกระตุ้นสมองให้หลั่ง PTTH มากขึ้นและรักษาระดับ(maintenance) การตอบสนองของต่อมโปรทอแรกซิกต่อ PTTH (Mitsuoka *et al.*, 2001) สำหรับในสายพันธุ์ปกติของ *B. mori* พบว่าการเกิด การเข้าดักแด้ (larval-pupal transformation) ในตัวหนอนระยะอินสตาร์สุดท้าย (อินสตาร์ที่ 5) เกิดเนื่องจากการขาด PTTH ซึ่งมีผลทำให้ระดับของฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์ลดลง รวมไปถึงการที่ต่อมคอร์ปัสอัลเลตัมอยู่ในสภาพไม่ทำงาน การให้ hydroprene ในระยะต้นๆของตัวหนอนอินสตาร์ที่ 5 พบว่าทำให้เกิดการหยุดการพัฒนาของระยะตัวหนอน เนื่องมาจากความสามารถของต่อมโปรทอแรกซิกต่อ cAMP generating system และการสังเคราะห์ฮอร์โมนเอคไดโซนถูกยับยั้งโดย hydroprene นั่นเอง (Gu *et al.*, 1997)

ไดอะพอส (Diapause)

ไดอะพอสเป็นระยะพักการเจริญที่เกิดขึ้น โดยที่แมลงจะหยุดกิจกรรมในกระบวนการเมตาบอลิซึมก่อนหน้าที่สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม แล้วแมลงไม่สามารถกลับคืนสู่สภาพปกติในทันทีทันใดที่สภาพแวดล้อมเป็นปกติ ต้องอาศัยระยะเวลาหนึ่งแมลงจึงมีกิจกรรมตามปกติได้ โดยเมื่อแมลงเข้าสู่ระยะไดอะพอส จะมีผลทำให้อัตราเมตาบอลิซึมในร่างกายลดต่ำลง ไม่เคลื่อนไหว มีพฤติกรรมการหยุดกินอาหารและหยุดการเจริญของร่างกาย (Tauber *et al.*, 1986) การเกิดไดอะ-พอสสามารถเกิดได้ในแมลงบางชนิดและสามารถพบได้ในช่วงใดของช่วงหนึ่งของวงชีวิตของแมลงเนื่องมากจากการควบคุมกลไกการทำงานต่างๆของระบบประสาทและฮอร์โมนภายในร่าง-กาย (Riddiford and Truman, 1978) สามารถแบ่งไดอะพอสได้เป็น 2 ชนิด (สมร, 2535; เสาวภา, 2536) คือ การพักตัวที่ไม่เกี่ยวกับสภาพแวดล้อม (obligate diapause) และ การพักตัวที่เกี่ยวกับสภาพแวดล้อม (facultative diapause)

obligate diapause เป็นการหยุดพักการเจริญที่เกิดขึ้นโดยไม่เกี่ยวข้องกับสภาพแวดล้อม และเกิดกับแมลงทุกรุ่น โดยแมลงนั้นๆ มีการเจริญของเอมบริโอระยะหลังยาวนาน และไดอะพอสเกิดในระยะที่แมลงอยู่ในขั้น immature โดยมากแมลงที่มีไดอะพอสแบบนี้จะให้ลูกเพียง 1 ครั้ง ใน 1 ปี จัดว่าเป็นพวกยูนิโวลไทน์ (univoltine) แต่ facultative diapause เป็นการหยุดพักการเจริญที่ขึ้น

อยู่กับสภาพแวดล้อมและไม่เกิดกับแมลงทุกรุ่นซึ่งสภาพขณะนั้นไม่เหมาะสมกับการเจริญ ไดอะพอสชนิดนี้ส่วนมากเกิดกับพวกไบโวลไทน์ (bivoltime) หรือ มัลติโวลไทน์ (multivoltine) คือให้ลูกมากกว่า 2 ครั้งต่อปี

Mansingh (1971) ได้แบ่งระยะการเกิดไดอะพอสเป็น 6 ระยะ คือ

1. ระยะเตรียมการ (Preparatory phase)

เป็นระยะที่มีการสะสมอาหารจำพวกไขมัน คาร์โบไฮเดรต สารป้องกันความเย็น หรือ cryoprotectant และพบโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดไดอะพอส คือ diapause-associated protein (DAP)

2. ระยะเหนี่ยวนำ (Induction phase)

เป็นระยะที่มีการหยุดการสังเคราะห์ DNA และ RNA แต่พบว่ามีการสังเคราะห์ DAP อย่างเห็นได้ชัด นอกจากนี้ยังพบว่ามีอัตราการใช้เมตาบอลิซึมลดลง รวมไปถึงการใช้ออกซิเจนในปริมาณที่ต่ำลงด้วย

3. ระยะชักนำ (Refraction phase)

เป็นระยะที่ชักนำให้เกิด super-cooling สำหรับแมลงที่อาศัยในเขตหนาว นอกจากนี้ยังพบว่ามีการป้องกันการเกิด premature diapause termination ตลอดจนเป็นช่วงที่การเจริญของประชากรเกิดขึ้นอย่างพร้อมเพรียงกัน (synchronise)

4. ระยะกระตุ้น (Activated phase)

เป็นระยะที่แมลงสามารถถูกกระตุ้นให้ระยะไดอะพอสที่ดำเนินอยู่สิ้นสุดลงได้ คือแมลงจะมีความสามารถในการตอบสนองต่อสิ่งเร้า (sensitivity) ในระยะนี้ โดยสิ่งเร้าหรือปัจจัยภายนอกที่สำคัญได้แก่ ช่วงความยาวของวันและอุณหภูมิ

5. ระยะสิ้นสุด (Termination phase)

เป็นระยะที่ระบบของฮอร์โมนเริ่มทำงานมีการสังเคราะห์ DNA และ RNA มากขึ้นในขณะที่ cryoprotectant และ DAP มีปริมาณลดลงจนหายไปในที่สุด โดยการเกิดระยะสิ้นสุดนี้เป็นผลเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยที่มีผลต่อระยะไดอะพอสอย่างรุนแรงในทันทีทันใด

6. ระยะหลังการพักตัว (Post-diapause phase)

เป็นระยะที่การเจริญเติบโตและพัฒนาการในระยะไดอะพอสเริ่มกลับเข้าสู่ระยะปกติอีกครั้ง

การพักตัวในระยะไข่ (Egg diapause)

เป็นการเกิดการพักตัวในระยะไข่ซึ่งถือว่าเป็นการเกิดการพักตัวในระยะเอมบริโอ (embryonic diapause) โดยอาจเกิดในขณะที่เกิด germ band formation, blastokinesis หรือในระยะที่เริ่มมีการเจริญเพื่อเข้าสู่ระยะตัวหนอนก่อนที่จะฟักออกมาจากไข่ การศึกษา egg diapause นั้นทำการศึกษากันมากใน *B. mori* ซึ่งจัดว่าเป็นพวก bivoltine โดยพบว่าการพัฒนาของระยะไข่ขึ้นอยู่กับช่วงแสง (photoperiod) ที่ตัวแม่ได้รับในขณะที่ตัวแม่เจริญอยู่ในระยะตัวหนอน โดยพบว่าตัวเมียที่ได้รับช่วงแสงสั้น จะวางไข่ที่ไม่มีการพักตัว (nondiapausing egg) ในขณะที่ตัวเมียที่ได้รับช่วงแสงยาว จะวางไข่ที่มีการพักตัว (diapausing egg) ซึ่งการเกิด diapausing egg นั้นเนื่องจากบริเวณปมประสาทใต้อีโซฟากัสของตัวเมียมีการหลั่งไดอะพอสฮอร์โมน (diapause hormone : DH) ซึ่งมีผลโดยตรงต่อไข่อ่อนที่กำลังพัฒนา (developing oocyte) ทำให้ตัวอ่อนในรังไข่หยุดการเจริญ (Kitazawa *et al.*, 1963) ต่อมาพบว่าการหยุดการเจริญดังกล่าวเป็นผลเนื่องมาจากการเพิ่มขึ้นของการทำงานของเอนไซม์ trehalase ซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญที่ทำให้เกิดการชักนำการเข้าสู่ระยะไดอะพอส (Yamashita, 1996) โดยเอนไซม์ trehalase มีผลทำให้เกิดการเพิ่มการสังเคราะห์ไกลโคเจนเพื่อสะสมใน oocyte มากขึ้น นอกจากนี้ไดอะพอสฮอร์โมนยังมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของการสะสมของฮอร์โมนเอคไดโซนในรังไข่ ถ้าการสะสมไกลโคเจนในรังไข่ถูกขัดขวางโดยการให้ trehalase inhibitor เช่น สารพวก validoxylamine ไข่นั้นจะไม่เข้าสู่ระยะไดอะพอส (Nijhout, 1994) นอกจากไดอะพอสฮอร์โมนจะมีผลต่อการเกิด egg diapause แล้วยังพบว่าโดปามีน (dopamine : DA) เป็นสารซึ่งถือว่าเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิด egg diapause เพราะมีรายงานพบว่า dopamine มีผลเพิ่มการแสดงออกของ diapause hormone mRNA ให้มากขึ้น (Noguchi and Hayakawa, 2001)

การพักตัวในระยะตัวหนอน (Larval diapause)

เป็นการเกิดการพักตัวในระยะตัวหนอน สามารถเกิดขึ้นได้ในอินสตาร์ต่างๆของตัวหนอน เช่น ใน *L. dispar* เกิดไดอะพอสในตัวหนอนระยะ pharate first instar แต่โดยทั่วไปจะพบการเกิด larval diapause ในอินสตาร์สุดท้ายและพบมากในแมลงอันดับ Lepidoptera โดยพบว่าการมีปริมาณฮอร์โมนจูวีไนล์ในฮีโมลิมพ์สูง ทำให้เกิด larval diapause (Riddiford and Truman, 1978) โดยแมลงที่นิยมใช้ในการศึกษาเรื่อง larval diapause ในอินสตาร์สุดท้ายได้แก่ผีเสื้อกินขี้ผึ้ง (wax moth, *Galleria mellonella*)

Lee and Denlinger (1997)ได้ทำการทดลองเพื่อศึกษาถึงผลของฮอร์โมนเอคไดโซนต่อการชักนำและสิ้นสุดระยะไดอะพอส โดยทำการศึกษาใน *L. dispar* พบว่ามีการแสดงออกของโปรตีนขนาด 55 กิโลดาลตัน โปรตีนดังกล่าวเกี่ยวข้องกับการเกิดไดอะพอสในหนอนที่ไม่ทำการผูก

บริเวณอก (thorax) และหนอนที่ทำการผูกบริเวณอก (neck-ligated pharate first instar) แต่ไม่มีการแสดงออกของโปรตีนดังกล่าวเมื่อเปลี่ยนตำแหน่งของการผูกไปอยู่ตรงด้ายท้ายของบริเวณอก นอกจากนี้ยังพบว่าการเพาะเลี้ยง (culture) ส่วนทางเดินอาหารในระบบ *in vitro* เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทำให้เกิดการหยุดการสังเคราะห์โปรตีน แต่พบว่าการสังเคราะห์โปรตีนสามารถเกิดขึ้นได้อีกครั้งเมื่อในอาหารเพาะเลี้ยง (culture medium) มีสารสกัดจากต่อมโปรทอแรกซิกของ pharate instar หรือ สารสกัดจากต่อมโปรทอแรกซิกของตัวหนอนอินสตาร์ที่ 5 เมื่อเติม 20-hydroxyecdysone หรือ ecdysteroid agonist คือ RH-5592 ใน culture medium ที่มีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนท้อง (abdomen) พบว่าสามารถกระตุ้นส่วนให้เยื่อเยื่อส่วนท้องเกิดการสังเคราะห์โปรตีนขนาด 55 กิโลดาลตันได้ ในทางตรงกันข้าม การให้สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของฮอร์โมนเอคไดโซน คือ KK-42 แก่ หนอนอินสตาร์แรกที่กำลังเริ่มพักตัว (prediapausing pharate first instar) มีผลทำให้หนอนไม่เข้าสู่ระยะไดอะพอสได้ และพบว่าในหนอนที่ได้รับ KK-42 แล้ว สามารถเข้าสู่ระยะไดอะพอสได้ เมื่อหนอนดังกล่าวได้รับฮอร์โมนเอคไดโซน หรือ RH-5992 แสดงให้เห็นว่าฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์ของ *L. dispar* ในระยะสุดท้ายของอินสตาร์แรกก่อนลอกคราบ (pharate first instar larvae) มีผลต่อการชักนำและการรักษาสภาพของระยะไดอะพอสในแมลงชนิดนี้ และการลดลงของฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์ทำให้เกิดการสิ้นสุดของระยะไดอะพอสในที่สุด

สำหรับบทบาทของฮอร์โมนที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการควบคุมระยะไดอะพอสในอินสตาร์สุดท้ายของ *G. mellonella* สามารถอธิบายได้โดยอาศัยการควบคุมการหลั่งฮอร์โมนจูวีไนล์ผ่านทางระบบประสาท มีความเกี่ยวข้องกับนิวโรเปปไทด์ฮอร์โมนจากสมอง 2 ชนิด คือ allatotropin (AT) ซึ่งมีฤทธิ์ในการกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนจูวีไนล์ และ allatostatin มีฤทธิ์ในการยับยั้งการหลั่งฮอร์โมนจูวีไนล์ ซึ่งความสัมพันธ์ของนิวโรเปปไทด์ฮอร์โมนทั้ง 2 ชนิด อธิบายได้ดังนี้ คือ ในระยะก่อนเข้าสู่ larval diapause ระบบประสาทจะทำหน้าที่ในการรักษาระดับของ allatostatin และระดับของเอนไซม์ juvenile hormone esteraseให้ต่ำ ทำให้มีปริมาณของฮอร์โมนจูวีไนล์ในฮีโมลิมพ์สูง ทำให้เกิดการยับยั้งการหลั่งของ PTTH ซึ่งมีผลโดยตรงต่อการสังเคราะห์ฮอร์โมนเอคไดโซน ทำให้ตัวหนอนคงสภาพเป็นตัวหนอน ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้ เช่นเดียวกับในหนอนเจาะลำต้นข้าวโพด (Southwestern corn borer, *Diatrea grandiosella*) ที่พบว่า larval diapause เกิดเนื่องจากการมีฮอร์โมนจูวีไนล์ในฮีโมลิมพ์ในปริมาณสูง (Chippendale and Yin, 1975) เมื่อศึกษาถึงการทำงานของต่อมโปรทอแรกซิกในระยะนี้พบว่าต่อมโปรทอแรกซิกมีความสามารถในการตอบสนองต่อ PTTH น้อยลง เนื่องมาจากการยับยั้งของระบบประสาทผ่านทางปมประสาทใต้อีโซฟากัส (Barrett, 2000) นอกจากนี้ Muszynska *et al.* (1993) ได้อธิบายเพิ่มเติมถึง

การลดลงของปริมาณฮอร์โมนจูวีไนล์ในฮีโมลิมพ์ถึงการมีบทบาทชักนำให้ระยะไดอะพอสสิ้นสุดลงใน *G. mellonella* ว่า ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าการเพิ่มขึ้นสูงของระดับ allatostatin และเอนไซม์ juvenile hormone esterase รวมไปถึงการลดลงของ allatotropin มีผลทำให้ปริมาณฮอร์โมนจูวีไนล์ลดต่ำลง ทำให้ PTTH ที่ถูกยับยั้งการทำงาน มีความสามารถในการทำงานใหม่ได้ ทำให้เกิดการกระตุ้นการทำงานของต่อมโปรทอแรกซิกให้หลั่งฮอร์โมนเอคไดโซน แล้วนำไปสู่การเจริญพัฒนาและเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้ได้

นอกจากนี้ยังพบว่าปัจจัยภายนอก มีผลต่อการชักนำและสิ้นสุดระยะ larval diapause ได้เช่นเดียวกัน โดยมีการทดลองใน *G. mellonella* พบว่า ที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส ตัวหนอนในระยะอินสตาร์สุดท้ายจะไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้ แต่เมื่อนำตัวหนอนไปไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีผลทำให้ตัวหนอนเข้าสู่ระยะดักแด้ได้ (Cymborowski, 2000) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าความชื้นมีส่วนทำให้ระยะ larval diapause สิ้นสุดลงได้ โดย Tanzubil et al. (2000) ได้ทำการศึกษาใน millet stem borer (*Coniesta ignefusalis*) พบว่าในสภาพปกติ ช่วงแสงไม่มีผลต่อการสิ้นสุดของระยะไดอะพอส แต่เมื่อให้ความชื้นในสภาพช่วงแสง 13L:11D จะมีผลทำให้ระยะไดอะพอสสิ้นสุดลงและทำให้เกิดการเข้าสู่ระยะดักแด้ได้มากขึ้น

การพักตัวในระยะดักแด้ (Pupal diapause)

เป็นการเกิดการพักตัวในระยะดักแด้ โดยมากพบในแมลงวัน (flesh fly, *Sacrophaga crassipalpis*) และในแมลงอันดับ Lepidoptera เช่น *H. cecropia* ซึ่งการเกิดไดอะพอสในแมลงทั้งสองชนิดดังกล่าวเกิดเนื่องมาจากการขาด PTTH จากสมอง มีผลไปยับยั้งการทำงานของต่อมโปรทอแรกซิก ทำให้ต่อมโปรทอแรกซิกไม่หลั่งฮอร์โมนเอคไดโซน และเกิดเนื่องจากความสามารถในการตอบสนองของต่อมโปรทอแรกซิกต่อ PTTH ที่ลดต่ำลง (Williams, 1952) นอกจากนี้ยังพบว่าใน pupal diapause มีองค์ประกอบของกลีเซอรอล (glycerol) ในปริมาณที่สูง เพื่อป้องกันแมลงจากอุณหภูมิที่หนาวเย็น ทำให้สามารถทนทานอยู่ได้ในสภาพอุณหภูมิต่ำ และมีความเกี่ยวข้องกับช่วงความยาวของวันด้วย ในแมลงหลายชนิดการเกิด pupal diapause จะเกิดเนื่องมาจากสภาพแวดล้อมที่ได้รับเมื่อเป็นตัวหนอนหรือได้รับเมื่ออยู่ในระยะเอมบริโอ แต่ปัจจัยที่มีผลมากที่สุดที่ทำให้เกิด pupal diapause ได้ คือ ช่วงแสง โดยถ้าในระยะตัวหนอนหรือระยะเอมบริโอ ได้รับช่วงแสงยาวจะทำให้เกิดการพัฒนาอย่างปกติ แต่ถ้าได้รับช่วงแสงสั้นจะทำให้เกิดระยะไดอะ-พอสเมื่อตัวหนอนหรือเอมบริโอนั้นเจริญเป็นตัวเต็มวัย โดยพบว่าเมื่อตัวหนอนของ *S. crassipalpis* ถูกนำไปไว้ในที่ๆมีอุณหภูมิต่ำและมีช่วงแสงสั้น จะสามารถชักนำให้เกิด pupal diapause ได้ (Denlinger, 1972)

นอกจากฮอร์โมนและสิ่งแวดล้อมภายนอกจะมีผลต่อการชักนำให้เกิด pupal diapause ได้ ในปัจจุบันพบว่า dopamine มีบทบาทต่อ pupal diapause ด้วย โดย Noguchi and Hayakawa (1997) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบระดับของ dopamine ในดักแด้ที่เกิดและไม่เกิดไดอะพอสของ cabbage armyworm (*Mamestra brassicae*) ในเนื้อเยื่อต่างๆ พบว่า ดักแด้ที่เกิดไดอะพอสมีระดับของ dopamine ใน ฮีโมลิมพ์, ผิวหนัง (integument) และระบบประสาทสูงกว่าในดักแด้ที่ไม่เกิดไดอะ-พอส โดยพบว่าการเพิ่มขึ้นของระดับ dopamine ในผิวหนัง มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ DOPA-decarboxylase ในระดับ transcription และการเพิ่มขึ้นของปริมาณ dopamine ในฮีโมลิมพ์ภายใต้สภาพที่มีช่วงแสงยาว มีส่วนชักนำให้เกิด pupal diapause ได้เป็นจำนวน 50% ของดักแด้ทั้งหมด แต่ใน Chinease oak silkmoth (*Antheraea pernyi*) พบว่า การอยู่ภายใต้สภาพช่วงแสงยาวมีผลโดยตรงต่อสมองทำให้เกิดการหลั่ง PTTH และพบว่าภายใต้สภาพช่วงแสงสั้นสมองมีการสร้างและเก็บสะสม PTTH เอาไว้แต่ไม่มีการหลั่งออกมา (Williams, 1952)

การพักตัวในระยะตัวเต็มวัย (Adult diapause)

Riddiford and Truman (1978) กล่าวว่า adult diapause เป็นการพักตัวในระยะตัวเต็มวัย หรืออาจเรียกว่าเป็น reproductive diapause เนื่องมาจากการหยุดการเจริญของไข่ในตัวเต็มวัยเพศเมีย ซึ่งมีสาเหตุสำคัญเนื่องมาจากการขาดฮอร์โมนจูวีไนล์

Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*) เป็นด้วงที่เกิด adult diapause และนำมาใช้ในการศึกษาเรื่อง adult diapause มากที่สุด โดยเริ่มศึกษาในปี 1959 โดย de Wilde *et al.* พบว่าภายใต้อุณหภูมิและอาหารที่เหมาะสม ภายใต้สภาพช่วงแสงยาว ตัวเต็มวัยของด้วงชนิดนี้จะคลานออกมาจากดินและเริ่มกินอาหาร เมื่อโตเต็มที่เป็นด้วงเพศเมียจะเกิดกระบวนการสร้างไข่ (oogenesis) และเกิดพัฒนาการของกล้ามเนื้อที่ใช้ในการบิน แต่ในด้วงเพศเมียที่ได้รับอุณหภูมิต่ำขาดแคลนอาหาร ภายใต้สภาพช่วงแสงสั้น เมื่อโตเต็มที่จะมีพฤติกรรมการขุดดินกลับเข้าไปอยู่ในโพรงอีกครั้ง และไม่เกิดพัฒนาการของกล้ามเนื้อที่ใช้ในการบิน รวมไปจนถึงไม่เกิดการสร้างไข่ ซึ่งถือว่าได้เข้าสู่ระยะไดอะพอสนั่นเอง ต่อมาในปี 1988 Lefevre ได้ทำการศึกษาถึงผลของฮอร์โมนที่มีต่อการสิ้นสุดไดอะพอสในด้วงชนิดนี้ โดยให้ JH III และฮอร์โมนเอดไดโซนที่ความเข้มข้นต่างๆ และพบว่าการให้ JH III และฮอร์โมนเอดไดโซนในความเข้มข้นที่เหมาะสม มีผลทำให้เกิดการสิ้นสุดของระยะไดอะพอส แต่การให้ JH III เพียงอย่างเดียว ทำให้การสิ้นสุดของระยะไดอะพอสเกิดได้อย่างชั่วคราว สำหรับการให้ฮอร์โมนเอดไดโซนเพียงอย่างเดียว มีผลยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์เอนไซม์ juvenile hormone esterase ทำให้การสร้างฮอร์โมนจูวีไนล์ลดลง นอกจากนี้ยังได้ศึกษาถึงการทำงานของต่อมคอร์ปัสอัลเลตัมโดยการตรวจวัดปริมาณฮอร์โมนจูวี-

ไนล์ที่สังเคราะห์ได้โดยการทำ radiochemical assay พบว่า ต่อมคอร์ปัสอัลเลตัม ในด้วงที่อยู่ภายใต้สภาพช่วงแสงยาว มีปริมาณฮอร์โมนจูวีไนล์สูง ในขณะที่ต่อมคอร์ปัสอัลเลตัมของด้วงที่อยู่ภายใต้สภาพช่วงแสงสั้น มีปริมาณฮอร์โมนจูวีไนล์ต่ำ และพบว่าการควบคุมปริมาณฮอร์โมนจูวีไนล์ดังกล่าวเป็นแบบ negative feedback หรือ feedback inhibition กล่าวคือ เมื่อมีปริมาณฮอร์โมนจูวีไนล์ในฮีโมลิมพ์สูง จะไปยับยั้งต่อมไม่ให้มีการหลั่งฮอร์โมนจูวีไนล์ออกมา ทำให้มีปริมาณฮอร์โมนจูวีไนล์ลดต่ำลง (de Kort and Granger, 1981)

กลไกของฮอร์โมนต่อการควบคุม larval diapause

Chippendale and Yin (1976) ได้ทำการศึกษาถึงกลไกของฮอร์โมนที่มีต่อการรักษาสภาพการเป็นไดอะพอส ในระยะตัวหนอนและศึกษาเมตามอร์ฟอซิสใน *D. grandiosella* โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนจูวีไนล์ในฮีโมลิมพ์ (JH titer) พบว่าใน penultimate nondiapause มีปริมาณฮอร์โมนจูวีไนล์ในฮีโมลิมพ์สูงสุด คิดเป็น 3,000 *Galleria* unit (GU)/ml ในขณะที่ปริมาณฮอร์โมนจูวีไนล์ลดลงเป็น 140 GU/ml ภายใน 6 ชั่วโมง หลังการเกิดการลอกคราบ และมีปริมาณต่ำอย่างคงที่ นอกจากนี้ยังพบว่าต่อมคอร์ปัสอัลเลตัมในตัวหนอนระยะสุดท้ายที่ไม่พักตัว (last-stage nondiapause) นั้นอยู่ในสภาพไม่ทำงาน และพบว่าในตัวหนอนที่เข้าสู่ระยะไดอะพอสใหม่ๆ มีปริมาณฮอร์โมนจูวีไนล์ในฮีโมลิมพ์เป็น 1,500 GU/ml และเมื่อให้ JH-mimic แก่ตัวหนอนที่เข้าสู่ระยะสุดท้ายที่ไม่พักตัว จะทำให้ตัวหนอนระยะดังกล่าวมีสภาพเป็น immaculate larval morph อีกทั้งยังพบว่า JH-mimic ไม่มีผลต่อการกระตุ้นการทำงานของต่อมคอร์ปัสอัลเลตัม แต่มีผลเพียงแค่เพิ่มปริมาณฮอร์โมนจูวีไนล์ในฮีโมลิมพ์เท่านั้น

ต่อมาในปี 1979 Chippendale and Yin ได้ทำการศึกษาถึงกลไกของฮอร์โมนต่อการควบคุม larval diapause ใน European corn borer (*Ostrinia nubilalis*) โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนจูวีไนล์เช่นเดียวกัน และพบว่าฮอร์โมนจูวีไนล์มีบทบาทสำคัญต่อการควบคุมระยะ larval diapause โดยเมื่อทำการตรวจวัดฮีโมลิมพ์ของตัวหนอนในระยะที่ 4 ซึ่งเป็นระยะก่อนเข้าสู่ระยะไดอะพอส พบว่ามีปริมาณของฮอร์โมนจูวีไนล์สูงถึง 1,450 GU/ml แต่ในตัวหนอนที่ไม่ได้เข้าสู่ระยะไดอะพอสพบว่ามีระดับฮอร์โมนจูวีไนล์เพียง 340 GU/ml เมื่อตรวจวัดปริมาณฮอร์โมนจูวีไนล์ในตัวหนอนระยะที่ 5 ก่อนการเข้าสู่ระยะไดอะพอส พบว่าปริมาณฮอร์โมนจูวีไนล์มีค่า 320 GU/ml และลดลงในตัวหนอนที่เข้าสู่ระยะไดอะพอสใหม่ๆ เป็น 90 GU/ml เมื่อทำการสกัดตัวหนอนที่เข้าสู่ระยะไดอะพอสใหม่ๆทั้งตัวพบว่ามีระดับของฮอร์โมนจูวีไนล์ในฮีโมลิมพ์ในปริมาณที่ต่ำมาก และพบว่าการให้ JH-mimic หรือ 20-hydroxyecdysone หรือให้ฮอร์โมนผสมทั้งสองดังกล่าวในตัวหนอนที่เข้าสู่ระยะไดอะพอส ไม่สามารถทำให้ปริมาณฮอร์โมนจูวีไนล์ในฮีโม-

ลิมพ์เพิ่มขึ้น แต่การให้ JH-mimic แก่ตัวหนอนระยะที่ 5 ก่อนเข้าสู่ระยะไดอะพอสใหม่ๆ ไม่ทำให้เกิดการเข้าสู่ระยะดักแด้ แต่ทำให้เกิด supernumery larvae ผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าฮอร์โมนจูวีไนล์มีบทบาทต่อการควบคุมระยะไดอะพอส แต่ไม่เกี่ยวข้องกับการรักษาสภาพการเป็นไดอะพอสเอาไว้ ซึ่งขัดแย้งกับข้อเสนอของ Yagi and Fukaya (1974) ที่ได้ทำการศึกษาในตัวหนอนระยะไดอะพอสของแมลงหนอนเจาะต้นข้าว (rice stem borer, *Chilo suppressalis*) แล้วพบว่าฮอร์โมนจูวีไนล์มีบทบาทในการชักนำและทำให้เกิดการรักษาสภาพการเป็นไดอะพอส โดยการชักนำให้ตัวหนอนเข้าสู่ระยะไดอะพอสได้ เนื่องจากการมีฮอร์โมนจูวีไนล์ในปริมาณสูง เช่นเดียวกับการศึกษาใน *O. nubilalis* ที่พบว่า ฮอร์โมนจูวีไนล์มีผลต่อการชักนำและสิ้นสุดของ larval diapause (Yagi and Akaike, 1976) และการศึกษาใน Mediterranean corn borer (*Sesamia nonagrioides*) ที่พบว่าการรักษาสภาพการ larval diapause นั้น เกิดเนื่องจากการมีฮอร์โมนจูวีไนล์ในฮีโมลิมพ์สูง (Eizaguirre *et al.*, 1998)

Larval diapause ในหนอนเยื่อไผ่

Singtripop *et al.* (1999) ได้ทำการศึกษาการเจริญและระยะไดอะพอสในหนอนเยื่อไผ่ พบว่าหนอนเยื่อไผ่ มีระยะ larval diapause นานประมาณ 9 เดือน โดยระยะไดอะพอสเกิดขึ้นได้ทุกรุ่นและเกิดในระยะเวลาใกล้เคียงกันทุกปี โดยหนอนจะเริ่มเข้าสู่ระยะดังกล่าวในช่วงสุดท้ายของ ระยะการกินอาหาร (feeding period) ในตัวหนอนขั้นสุดท้าย (อินสตาร์ที่ 5) ภายหลังที่จากที่ตัวหนอนมีการกินอาหารปกติ หนอนจะเริ่มเข้าสู่ระยะ wandering ซึ่งเป็นระยะที่เกิดขึ้นสั้นๆ พบอยู่ระหว่างการกินอาหารปกติกับระยะก่อนเข้าดักแด้ (prepupa) ในระยะนี้เองเป็นระยะที่เซลล์อิพิเดอร์มิสของหนอนมีความพร้อมที่จะยอมรับการตอบสนองของฮอร์โมนเพื่อเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้ที่เรียกว่า pupal commitment จากนั้นเมื่อหนอนเข้าสู่ระยะก่อนเข้าดักแด้มันจะหยุดการกินอาหาร หยุดการเคลื่อนไหว เตรียมพร้อมร่างกายเพื่อการลอกคราบเข้าสู่ระยะดักแด้ แต่หนอนเยื่อไผ่ได้ผ่านระยะการกินอาหารตามปกติแล้ว เพียงแต่ไม่มีการหยุดการเคลื่อนไหว จึงถือว่าหนอนเยื่อไผ่ในระยะไดอะพอสยังไม่เข้าสู่ระยะก่อนเข้าดักแด้ (อัญชลี, 2542)

นอกจากนี้ Singtripop *et al.* (1999) ยังได้ทำการตรวจวัดปริมาณฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์ของหนอนเยื่อไผ่ระยะไดอะพอส ในเดือนกันยายนถึงเดือนพฤษภาคมของปีถัดไปก่อนที่หนอนจะเข้าสู่ระยะดักแด้ พบว่ามีปริมาณฮอร์โมนเอคไดโซนต่ำมาก คือ อยู่ในช่วงระหว่าง 3-20 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร โดยในช่วงเดือนกันยายนถึงเดือนพฤศจิกายน สามารถวัดปริมาณฮอร์โมนเอคไดโซนได้เพียง 3 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และปริมาณฮอร์โมนเอคไดโซนเพิ่มสูงที่สุดเป็น 22 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อหนอนเข้าสู่เดือนธันวาคม หลังจากนั้นจะพบว่าปริมาณฮอร์โมน

เอคไดโซนลดลงอย่างต่อเนื่อง แล้วเพิ่มสูงขึ้นอีกครั้งในเดือนเมษายนตามด้วยการลดลงในเดือนพฤษภาคม ซึ่งเป็นเดือนก่อนที่หนอนจะเข้าสู่ระยะดักแด้ และเมื่อตัวหนอนเข้าสู่ระยะดักแด้ พบว่าปริมาณฮอร์โมนเอคไดโซนเพิ่มสูงเป็น 1,700 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตรในเดือนมิถุนายน และลดลงเหลือ 770 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตรในเดือนกรกฎาคม ก่อนที่ดักแด้จะเข้าเป็นตัวเต็มวัย

ต่อมา Singtripop *et al.* (2000)ได้ศึกษาถึงการสิ้นสุดของระยะไดอะพอสในหนอนเยื่อไผ่ และพบว่าการให้ JHA มีผลทำให้ตัวหนอนเข้าสู่ระยะดักแด้ได้ ขึ้นกับความเข้มข้นที่ให้ไป และความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่มีผลชักนำให้หนอนเข้าสู่ระยะดักแด้ได้ คือ 0.05 ไมโครกรัมต่อตัว โดยหนอนจะเกิดการเปลี่ยนแปลงที่สีผิวลำตัวเป็นระดับสีต่างๆ เมื่อทำการผ่าตัดเพื่อดูลักษณะโครงสร้างภายใน พบว่า เกิดลักษณะของดักแด้ขึ้นภายในลำตัวและขาเทียมของระยะตัวหนอนหายไป นอกจากนี้ยังพบว่าการผ่าตัดเอาสมองของหนอนเยื่อไผ่ออกแล้วให้ JHA แก่หนอนเยื่อไผ่ก็สามารถทำให้หนอนเยื่อไผ่เข้าสู่ระยะดักแด้ได้ นอกจากนี้ Singtripop *et al.* (2000) ยังได้รายงานเพิ่มเติมถึงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณฮอร์โมนเอคไดโซนภายหลังการให้ JHA โดยพบว่าระยะเวลาที่ใช้ในการกระตุ้นต่อมโปรทอแรกซิกจนทำให้ปริมาณฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์เพิ่มขึ้น เกิดขึ้นภายใน 2 สัปดาห์หลังการได้รับ JHA

เอคไดโซน รีเซบเตอร์ (Ecdysone receptor : EcR)

Riddiford (1993) กล่าวว่าการควบคุมการลอกคราบและการเกิดเมตามอร์ฟอซิสมีความเกี่ยวข้องกันในระดับโมเลกุล อันเนื่องมาจาก EcR (ecdysone receptor) และ JHR (juvenile hormone receptor) โดยอธิบายจากการศึกษาที่พบใน *M. sexta* และ *B. mori* เป็นหลัก โดยความเข้มข้นของฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์นำไปสู่การลอกคราบได้เนื่องจาก การจับกันของฮอร์โมนเอคไดโซนกับ EcR และ partner protein คือ Ultraspiracle (USP) และ immunophilin (Song *et al.*, 1997) เกิดเป็น ecdysone receptor complex ทำให้เกิดการกระตุ้นการทำงานของ regulatory gene นำไปสู่การเปลี่ยนแปลงในระยะต่อไป ในช่วงที่ความเข้มข้นของฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์ลดลงนั้น พบว่าเกิดไอโซฟอร์มของ EcR ตลอดจน ecdysteroid-induced regulatory factors ต่างๆ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้ได้ในที่สุด

EcR เป็นรีเซบเตอร์ที่จัดอยู่ในกลุ่ม nuclear hormone receptor superfamily ประกอบด้วยส่วนต่างๆ 5 ส่วน คือ A/B, C, D, E และ F region พบเป็นครั้งแรกใน แมลงหวี่ (*Drosophila melanogaster*) มี 3 isoform คือ EcR-A, EcR-B1 และ EcR-B2 โดยแต่ละ isoform มีความแตกต่างกันบริเวณ A/B region (Kamimura *et al.*, 1997) แต่ในแมลงชนิดอื่นพบว่ามี 2 isoform คือ EcR-A และ EcR-B1 เช่น ใน *M.sexta* (Jindra *et al.*, 1996; Fujiwara *et al.*, 1995), *G. mellonella* (Jindra

and Riddiford, 1996), *B. mori* (Kamimura *et al.*, 1996) และ *C. suppressalis* (Minakuchi *et al.*, 2002)

ปัจจุบันมีการศึกษาถึงการแสดงออกของ EcR mRNA (EcR mRNA expression) ในเนื้อเยื่อต่างๆ ของแมลง เพื่อนำมาใช้อธิบายถึงกลไกควบคุมการทำงานในระดับโมเลกุล โดยการศึกษาใน *M. sexta* แสดงให้เห็นว่า *EcR* ของ *M. sexta* ที่มี homolog กับ *EcR* ของ *D. melanogaster* มี การแสดงออกในปุ่มปีก และต่อมโปรทอแรกซิกของตัวหนอน รวมถึงเนื้อเยื่อปีกของดักแด้ นอกจากนี้ยังพบว่า มีการแสดงออกของ EcR mRNA มากที่สุดในปุ่มอีกในช่วงตัวหนอนอินสตาร์สุดท้าย 1 วัน หลังจากการเข้าสู่ระยะการเคลื่อนไหว ในขณะที่การแสดงออกของ EcR mRNA ในต่อมโปรทอแรกซิกเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันที่ 2 ของระยะการเคลื่อนไหว และพบว่ามีปริมาณสูงหลังจากช่วงเวลาดังกล่าว นอกจากนี้ในช่วงก่อนเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัย มีขีดสูงสุดของการแสดงออก (peak) ของ EcR mRNA ปรากฏในเนื้อเยื่อปีกหลังจากที่ตัวหนอนเกิดการเข้าสู่ระยะดักแด้ ซึ่งขีดสูงสุดทั้งสองดังกล่าวเกิดขึ้นอย่างสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของปริมาณฮอร์โมนเอคไดโซน และ 20-hydroxyecdysone แสดงให้เห็นว่าปริมาณของฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์มีผลต่อการแสดงออกของ EcR mRNA (Fujiwara *et al.*, 1995)

นอกจากนี้ Gilbert *et al.* (1997) ยังกล่าวว่า 20-hydroxyecdysone มีผลกระตุ้นการทำงานของต่อมโปรทอแรกซิกโดยเพิ่มการแสดงออกของ USP mRNA รวมไปถึงเพิ่มกระบวนการ phosphorylation ของ USP ซึ่งเป็นองค์ประกอบของ EcR ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของฮอร์โมนเอคไดโซนและส่วนประกอบของ ecdysone receptor complex ของต่อมโปรทอแรกซิกมีผลต่อขีดแห่งความสามารถ (potential) ของต่อมในการสร้างฮอร์โมนเอคไดโซนและการควบคุมแบบ feedback inhibition อีกด้วย จึงเห็นได้ว่าการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนเอคไดโซนมีผลต่อการแสดงออกของ EcR mRNA เช่นเดียวกับที่มีการศึกษาถึงการแสดงออกของ EcR mRNA ในspruce budworm (*Choristoneura fumiferana*) ที่พบว่าการแสดงออกของ EcR mRNA จะเพิ่มขึ้นอย่างมากเมื่อปรากฏว่ามีขีดสูงสุดของฮอร์โมนเอคไดโซนในช่วงที่เกิดการลอกคราบ และมี การแสดงออกของ EcR mRNA ลดลงในช่วงระหว่างการลอกคราบ (intermolt) และยังพบว่าในตัวหนอนอินสตาร์ที่ 6 มีการแสดงออกของ EcR mRNA เกิดขึ้นที่อิพิเดอร์มิส ก้อนไขมันและส่วนทางเดินอาหาร และพบการแสดงออกของ EcR mRNA สูงที่สุดที่เนื้อเยื่อต่างๆ ดังกล่าว เมื่อเข้าสู่ระยะก่อนเข้าดักแด้ซึ่งเป็นระยะที่มีขีดสูงสุดของฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์สูง (Kothapalli *et al.*, 1995)