บทที่ 5
อภิปรายผลการวิจัย

1. ผลของ JHA ต่อการกระตุ้นของต่อมโปรทอแรกซิกในหนอนเยื่อไผ่ระยะไดอะพอส

การทำการปลูกถ่ายเนื้อเยื่อ (transplantation) ได้มีขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาเรื่องบทบาทของฮอร์โมนมานานแล้ว เช่น การทดลองใน *M. sexta* โดยทำการผ่าตัดเอาต่อมโปรทอแรกซิกในระยะดักแด้ออกในวันที่เกิดการเข้าสู่ดักแด้ พบว่ามีผลทำให้ปริมาณฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์ต่ำลง (Sakurai *et al.*, 1991)

จากการทดลองปลูกถ่ายต่อมโปรทอแรกซิกที่ได้รับการกระตุ้นด้วย JHA ที่ความเข้มข้นต่างๆในหนอนเยื่อไผ่ (donor larvae) คือ 0.1, 0.25, 0.5 และ 1.0 ไมโครกรัม/5 ไมโครลิตร ไปยังหนอนอีกตัวที่ไม่ได้รับฮอร์โมน (recepient larvae) ในเดือนตุลาคม พบว่า recepient larvae สามารถเข้าสู่ดักแด้ได้ แสดงว่าฮีโมลิมพ์ในร่างกายของ recepient larvae จะต้องมีระดับของฮอร์โมนเอคไดโซนที่สูงมากขึ้น เพราะฮอร์โมนเอคไดโซนเป็นฮอร์โมนสำคัญที่กระตุ้นให้เกิดการลอกคราบโดยจะมีฤทธิ์ไปกระตุ้นเซลล์อิพิเดอร์มิสให้เกิดการแบ่งตัวเพื่อสร้างชั้นคิวติเคิลใหม่และสลัดคิวติเคิลเก่าทิ้งไป (Schneiderman and Gilbert, 1964) การที่พบว่าแมลงมีระดับฮอร์โมนเอคไดโซนที่เพิ่มสูงมากขึ้นแสดงว่าแมลงกำลังมีการเปลี่ยนแปลงหรือขยายขนาดรูปร่างเกิดขึ้น จากการตรวจวัดปริมาณฮอร์โมนเอคไดโซนใน Grace's insect culture medium ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงต่อมโปรทอแรกซิกของ recepient larvae และในฮีโมลิมพ์ของ recepient larvae พบว่าปริมาณฮีโมลิมพ์ที่ตรวจพบใน Grace's medium เพิ่มสูงขึ้นครั้งแรก ในวันที่ 16 หลังจากการทำการปลูกถ่ายต่อมโปรทอแรกซิก จากนั้นแล้วปริมาณจะลดลง นอกจากนี้จะเห็นว่าปริมาณของฮอร์โมนเอคไดโซนที่ตรวจได้ในฮีโมลิมพ์มีแนวโน้มที่จะเพิ่มสูงขึ้นในวันที่ 18 เห็นได้ชัดว่าต่อมโปรทอแรกซิกนั้นถูกกระตุ้นแล้ว จึงทำให้ต่อมมีความสามารถในการสร้างและหลั่งฮอร์โมนเอคไดโซนออกมาได้ในฮีโมลิมพ์ ดังนั้นการที่ต่อมโปรทอแรกซิกถูกกระตุ้นในครั้งแรก คือ ในวันที่ 16 น่าจะเป็นกลไกสำคัญที่กระตุ้นให้ต่อมทำงานได้ ซึ่งสอดคล้องกับ Riddiford (1982) ที่กล่าวว่าการจะเกิดการเปลี่ยนเข้าสู่ระยะดักแด้ได้จำเป็นต้องอาศัยการเพิ่มระดับของฮอร์โมนเอคไดโซนในครั้งที่ 1 เป็นตัวกระตุ้นให้ต่อมเกิดการทำงานต่อไป

อย่างไรก็ตามเป็นที่น่าสังเกตว่าระดับฮอร์โมนที่ตรวจวัดได้ใน Grace's medium มีค่าน้อย คือ สูงสุดมีค่าประมาณ 0.8 นาโนกรัมต่อต่อมจึงไม่น่าจะมีผลทำให้เกิดการสังเคราะห์ฮอร์โมนเอค-

ไดโซนในฮีโมลิมพ์ออกมาได้สูงเท่าที่ตรวจวัดได้ใน recepient larvae ดังนั้นเป็นไปได้ว่าการที่ปริมาณของฮอร์โมนเอคไดโซนที่ตรวจวัดได้ในฮีโมลิมพ์ของ recepient larvae มีสูง น่าจะเกิดเนื่องมาจากการทำงานร่วมกันระหว่างต่อมโปรทอแรกซิกของ donor larvae ที่ถูกกระตุ้นโดยตรงโดย JHA กับต่อมโปรทอแรกซิกของ recepient larvae เอง เพราะ Singtripop *et al.* (2000) รายงานว่าต่อมโปรทอแรกซิกของหนอนที่ได้รับการกระตุ้นโดย JHA โดยตรงจะสามารถสร้างและหลั่งฮอร์โมนเอคไดโซนได้ในวันที่ 4 หลังจากการได้รับ JHA ดังนั้นการที่ต่อมโปรทอแรกซิกของ recepient larvae ถูกกระตุ้นให้ทำงานได้มากขึ้น น่าจะเป็นเพราะต่อมถูกกระตุ้นโดยฮอร์โมนเอคไดโซนที่ผลิตได้จากต่อมโปรทอแรกซิกของ donor larvae และเมื่อระดับของฮอร์โมนเอคไดโซนถึงระดับ suprathreshold ก็จะเกิด feedback activation กระตุ้นการทำงานของต่อมเอง แล้วทำให้ต่อมโปรทอแรกซิกมีความสามารถในการหลั่งฮอร์โมนเอคไดโซนได้อย่างต่อเนื่องต่อไป

นอกจากนี้ยังจะเห็นได้ว่าปริมาณฮอร์โมนเอคไดโซนที่วัดได้ใน Grace's medium จะค่อยๆ ลดลงจนลดลงมากที่สุดในวันที่ 30 ของการทดลอง ในขณะที่ปริมาณฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์มีแนวโน้มที่จะเพิ่มสูงขึ้น แสดงให้เห็นว่า เกิดการควบคุมการทำงานของระบบฮอร์โมนที่เรียกว่า feedback inhibition กล่าวคือ เมื่อระดับฮอร์โมนในร่างกายเพิ่มขึ้นสูง จะเป็นสัญญาณไปยังอวัยวะที่เป็นแหล่งสร้างเพื่อให้ลดการสังเคราะห์หรือหลั่งออกมาในร่างกายมาก โดย Sakurai *et al.* (1989) ได้ทำการศึกษาการทำงานของต่อมโปรทอแรกซิกใน *M. sexta* พบว่าต่อมโปรทอแรกซิกสามารถถูกกระตุ้นให้หลั่งฮอร์โมนเอคไดโซนออกมาได้มากเมื่อมีการให้ฮอร์โมนเอคไดโซน หรือ 20-hydroxyecdysone โดยระดับของฮอร์โมนเอคไดโซนที่เพิ่มขึ้นจะเป็นกลไกการกระตุ้นย้อนกลับไปยังต่อมโปรทอแรกซิกให้หลั่งฮอร์โมนเอคไดโซนได้สูงขึ้นอีก จากนั้นถ้ามีระดับของฮอร์โมนเอคไดโซนที่สูงมากจะกลับไปเป็นกลไกการยับยั้งการหลั่งฮอร์โมนเอคไดโซนของต่อมโปรทอแรกซิกเอง ทำให้ต่อมโปรทอแรกซิกลดการหลั่งฮอร์โมนเอคไดโซน

สำหรับระยะเวลาที่ JHA ใช้ในการกระตุ้นต่อมโปรทอแรกซิกถูกทดสอบโดยการทำการปลูกถ่ายต่อมโปรทอแรกซิกในหนอนเดือนตุลาคม ในวันที่แตกต่างกัน คือวันที่ 1, 2 และ 3 ภายหลังการได้รับ JHA ซึ่งผลการทดลองพบว่า การปลูกถ่ายต่อมโปรทอแรกซิกของ donor larvae ในวันที่ 1 หลังจากที่ donor larvae ได้รับ JHA มีผลทำให้ recepient larvae เปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้ได้ แสดงให้เห็นว่าระยะเวลาที่ต้องการในการกระตุ้นต่อมโปรทอแรกซิกคืออย่างน้อยหนึ่งวัน และพบว่าการปลูกถ่ายต่อมโปรทอแรกซิกของ donor larvae ในวันที่ 2 และ 3 ให้ผลไม่ต่างกันจากการทำการปลูกถ่ายต่อมโปรทอแรกซิกในวันแรก แสดงว่าต่อมโปรทอแรกซิกในหนอนเยื่อไผ่ระยะไดอะพอสน่าจะมีความสามารถในการตอบสนองต่อฮอร์โมนตั้งแต่ในวันที่ 1 ที่ได้รับ JHA และพบว่าการตอบสนองของต่อมโปรทอแรกซิกต่อ JHA ขึ้นกับความเข้มข้นของ JHA ที่ให้ไป

โดยถ้าความเข้มข้นของ JHA มากจะทำให้ระยะเวลาที่ทำให้เกิดการเข้าดักแด้ของ recepient larvae เกิดได้เร็วขึ้น และถ้าความเข้มข้นของ JHA ต่ำจะทำให้ระยะเวลาที่ทำให้เกิดการเข้าดักแด้ของ recepient larvae ช้ากว่า แต่ได้ดักแด้ที่มีลักษณะสมบูรณ์มากกว่า แสดงให้เห็นว่าการให้ JHA ในปริมาณที่เหมาะสม ไม่มากหรือน้อยเกินไปแก่ donor larvae มีส่วนสำคัญต่อการเกิดลักษณะดักแด้ใน recepient larvae

เมื่อทำการศึกษาต่อไป โดยการทำการปลูกถ่ายต่อมโปรทอแรกซิกในระหว่างระยะไดอะพอสแต่ละเดือน เป็นระยะเวลา 6 เดือน เริ่มจากเดือนพฤศจิกายนถึงเดือนเมษายน โดยลดความเข้มข้นของJHA ให้มีความเข้มข้นจาก 0.01, 0.04, 0.1, 0.4 และ 1.0 ไมโครกรัม/5 ไมโครลิตร พบว่า recepient larvae เกิดการเข้าสู่ระยะดักแด้ได้เช่นเดียวกับ recepient larvae ที่ทำการทดลองปลูกถ่ายต่อมโปรทอแรกซิกในเดือนตุลาคม แต่ความเข้มข้นของ JHA ในการทำการปลูกถ่ายต่อมโปรทอแรกซิกจากเดือนพฤศจิกายนถึงเดือนเมษายน ไม่ทำให้เห็นผลชัดเจนในแง่การชักนำการเข้าดักแด้ให้เร็วขึ้น เพราะพบว่าบางครั้ง JHA ที่ความเข้มข้นต่ำกว่าจะสามารถชักนำให้หนอนเข้าสู่ระยะดักแด้โดยใช้ระยะเวลาสั้นกว่า แต่การที่นำข้อมูลมาทำการวิเคราะห์โดยดูผลเปรียบเทียบการเข้าดักแด้ในแต่ละเดือน พบว่า recepient larvae เกิดการสู่ดักแด้ได้เร็วที่สุดเกิดในเดือนเมษายนที่ทุกความเข้มข้นและเกิดได้ช้าที่สุดที่เดือนพฤศจิกายนทั้งนี้เพราะว่า responsiveness และ sensitivity ของหนอนในแต่ละเดือนไม่เหมือนกัน โดย Singtripop *et al.* (2002) ได้ให้คำจำกัดความของคำว่า responsiveness ในที่นี้ว่าเป็นการตอบสนองของหนอนต่อฮอร์โมน 20-hydroxyecdysone ทำให้หนอนเกิดการเข้าสู่ดักแด้ และสามารถคำนวณค่า responsiveness ของหนอนเป็นค่าเปอร์เซนต์ที่หนอนเข้าสู่ระยะดักแด้ ส่วนคำว่า sensitivity คำนวณได้จากระยะเวลาที่หนอนใช้ในการเปลี่ยนแปลงเพื่อเข้าสู่ระยะดักแด้ภายหลังจากการได้รับ 20-hydroxyecdysone โดยพบว่าหนอนเยื่อไผ่ระยะไดอะพอสในเดือนกันยายนและเดือนพฤศจิกายน เป็นระยะที่ตัวหนอนมี responsiveness ต่อฮอร์โมนเอคไดโซนต่ำ เพราะเป็นหนอนในระยะ early diapause เพิ่งเกิดการเข้าสู่ระยะไดอะพอสใหม่ๆ แต่ responsiveness และ sensitivity ของหนอนเยื่อไผ่ระยะไดอะพอสจะเพิ่มสูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัดในเดือนมกราคมถึงเดือนกุมภาพันธ์ ทำให้หนอนมีการตอบสนองต่อฮอร์โมนได้สูงขึ้น เมื่อใกล้ระยะเวลาการเข้าสู่ดักแด้ ซึ่งอยู่ในช่วงเดือนเมษายน ดังนั้นการทำการปลูกถ่ายต่อมโปรทอแรกซิกในเดือนที่แตกต่างกันจึงมีผลทำให้ระยะเวลาที่ชักนำให้หนอนเกิดการเข้าสู่ระยะดักแด้เกิดได้ต่างกัน

2. ผลของ JHA ต่อการแสดงออกของ EcR mRNA ในหนอนเยื่อไผ่

สาเหตุที่ทำการศึกษาการแสดงออกของ EcR mRNA ในต่อมโปรทอแรกซิก ของหนอนเยื่อไผ่ เนื่องจากพบว่า *EcR* มี localization อยู่บริเวณนิวเคลียสของต่อมโปรทอแรกซิก (Song *et al.*, 1997) ตลอดจนเนื้อเยื่อต่างๆ ของร่างกายแมลง และพบว่าการเพิ่มขึ้นของปริมาณฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์มีผลต่อการแสดงออกของ EcR mRNA ดังนั้นเพื่อจะศึกษาการแสดงออกของ EcR mRNAในต่อมโปรทอแรกซิกของหนอนเยื่อไผ่ระยะ ไดอะพอสที่ได้รับฮอร์โมน จึงจำเป็นต้องใช้เทคนิคในระดับโมเลกุลมาช่วยในการศึกษา เพราะการจะศึกษาการแสดงออกของ EcR mRNA จำเป็นที่จะต้องทราบถึงลำดับเบสของ *EcR* ในหนอนเยื่อไผ่ แต่เนื่องจากยังไม่มีการรายงานเรื่องลำดับเบสของ *EcR* มาก่อนจึงจำเป็นต้องทำการ clone EcR โดยการออกแบบ degenerated primer ซึ่งเป็นไพรเมอร์ที่ออกแบบมาจากส่วนของลำดับกรดอะมิโนที่มีใน *EcR* ของแมลงอื่นๆ ในบริเวณที่มีความเหมือนกันสูง แล้วนำมาทำ PCR หลายๆ ครั้งเพื่อให้ได้ชิ้นส่วนของ *EcR* ที่มีความจำเพาะเจาะจงมากที่สุด จากนั้นจะนำมา sequence เพื่อหาลำดับหาลำดับเบส จากการหาลำดับเบสทำให้ได้ *EcR* ขนาดประมาณ 973 คู่เบส หรือคิดเป็น กรดอะมิโนประมาณ 324 ตัว และพบว่ามีลำดับเบสที่แปลเป็นกรดอะมิโนไม่ได้เกิดขึ้นบ้างในช่วงลำดับเบสที่ sequence ได้ ดังนั้นการหาลำดับเบสในครั้งนี้จึงเหมือนเป็นข้อมูลเบื้องต้นต่อการนำไปใช้ต่อไปได้ เมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซนต์ความเหมือนของลำดับเบสและกรดอะมิโน จะพบว่า *EcR* มีเปอร์เซนต์ความเหมือนใน *D. melanogaster* ต่ำที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากเป็นแมลงที่อยู่ต่างกลุ่มกันเพราะจัดว่าเป็นแมลงในกลุ่ม Diptera แต่พบว่า *EcR* ของหนอนเยื่อไผ่มีความเหมือนของลำดับเบสและกรดอะมิโนสูงในแมลงอันดับเดียวกัน ได้แก่ *J. coenia, M. sexta, H. virescens* และ *B. mori* ซึ่งเป็น Lepidoptera เหมือนกัน แสดงให้เห็นว่าในอนาคต หากเราสามารถทราบลำดับเบสและกรดอะมิโนทั้งหมดของ *EcR* ในหนอนเยื่อไผ่จะทำให้เรารู้ถึงสายวิวัฒนาการของแมลงในกลุ่มเดียวกันได้ อีกทั้งยังจะทำให้สามารถอธิบายถึงกลไกการควบคุมการเปลี่ยนแปลงและรักษารูปร่างของแมลงในกลุ่มเดียวกันในระดับโมเลกุลได้

จากการทดลองเพื่อศึกษาเปรียบเทียบการการแสดงออกของ EcR mRNA ในต่อมโปรทอแรกซิกที่ได้รับ JHA แล้วพบว่ามีการแสดงออกของ EcR mRNA มากขึ้น เนื่องมาจากการให้ JHA มีผลให้ปริมาณฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์เพิ่มขึ้น ซึ่งมีรายงานพบว่าการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์ มีผลทำให้การแสดงออกของ EcR mRNA เพิ่มขึ้น โดยพบได้ ในแมลงหลายชนิด เช่น ใน *C. fumiferana* (Kothapalli, 1995) และ *C. suppressalis* (Minakuchi *et al.*, 2002) ดังนั้นเมื่อทราบถึงการแสดงออกของ EcR mRNA ในเบื้องต้น จะสามารถติดตามหา localization ของ EcR mRNA ในเนื้อเยื่ออื่นๆของหนอนเยื่อไผ่ได้ เพื่อใช้ในการอธิบายถึงกลไกของฮอร์โมนและ partner protein อื่นๆ ตลอดจนปัจจัยที่มีผลต่อการสิ้นสุดของระยะไดอะพอสในหนอนเยื่อไผ่ได้ในอนาคต

3. กลไกของฮอร์โมนต่อการสิ้นสุดระยะไดอะพอสในหนอนเยื่อไผ่

โดยทั่วไปการเกิดไดอะพอสในแมลงจะเกิดเนื่องจากการมีสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญในขณะนั้น ทำให้แมลงต้องมีการพักการเจริญเพื่อให้สามารถมีอายุรอดและให้ลูกหลานในรุ่นต่อไปได้ แต่ระยะไดอะพอสของหนอนเยื่อไผ่นั้นเกิดได้ทุกรุ่นและเกิดในระยะเวลาเดียวกันใกล้เคียงกันทุกปี จึงเป็นไปได้ว่าปัจจัยที่สำคัญที่นำไปสู่การเกิดไดอะพอสในหนอนเยื่อไผ่ เป็นการควบคุมโดยระบบประสาทและฮอร์โมน

การสิ้นสุดระยะ larval diapause ในแมลงชนิดอื่นๆที่ได้มีผู้ทำการศึกษาพบว่าเกี่ยวข้องกับปัจจัยภายนอก คือ ช่วงแสง อุณหภูมิ และความชื้นที่จะไปมีผลต่อระบบประสาท และ นิวโรซีครีทอรีเซลล์ของสมองโดยตรง ทำให้เกิดการหลั่งของฮอร์โมน PTTH มีผลทำให้มีการสังเคราะห์และหลั่งฮอร์โมนเอคไดโซนออกสู่ฮีโมลิมพ์มากขึ้น ตลอดจนมีผลทำให้การทำงานของเอนไซม์ juvenile hormone esterase สูงขึ้น ซึ่งมีผลทำให้ปริมาณฮอร์โมนจูวีไนล์ในฮีโมลิมพ์ลดต่ำลง การเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนเอคไดโซนพร้อมกับการลดลงของฮอร์โมนจูวีไนล์ จึงมีผลชักนำให้ระยะ larval diapause สิ้นสุดลงได้ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปัจจัยภายนอกมีผลต่อการสิ้นสุดของระยะไดอะพอสทั้งสิ้น แต่การศึกษาเรื่องการเจริญและระยะไดอะพอสในหนอนเยื่อไผ่ ในปี 1999 โดย Singtripop *et al.* พบว่าในสภาพธรรมชาติหนอนเยื่อไผ่มีปริมาณฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์ที่ต่ำมากตลอดช่วงที่อยู่ในระยะไดอะพอส ซึ่งโดยทั่วไปเมื่อปริมาณฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์ต่ำ จะเกิดกระบวนการ positive feedback activation เพื่อทำให้ต่อมโปรทอแรกซิกมีการสร้างและหลั่งฮอร์โมนเอคไดโซนออกมา แต่กลับพบว่าต่อมโปรทอแรกซิกของหนอนเยื่อไผ่ไม่ได้รับการกระตุ้นเลยในระยะไดอะพอส ทั้งนี้อาจเป็นเพราะมีการยับยั้งของกลไก positive feedback activation เกิดขึ้น Singtripop *et al.* (2000) จึงได้ทำการทดลองให้ 20-hydroxyecdysone และ JHA แก่หนอนเยื่อไผ่ระยะไดอะพอส พบว่าอิพิเดอร์มิสของหนอนเยื่อไผ่มีการตอบสนองต่อ 20-hydroxyecdysone โดยตรงทำให้เกิด tanned cuticle ภายใน 7 วัน ในขณะที่การให้ JHA แก่หนอนเยื่อไผ่ระยะไดอะพอส มีผลไปกระตุ้นต่อมโปรทอแรกซิกให้มีการหลั่งฮอร์โมนเอคไดโซน และนำไปสู่การเกิด tanned cuticle โดยใช้ระยะเวลาประมาณ 3 สัปดาห์ จึงเห็นได้ว่าการกระตุ้นของ 20-hydroxyecdysone เกิดได้เร็วกว่าการกระตุ้นโดย JHA ทั้งนี้เป็นเพราะการกระตุ้นการเข้าดักแด้ของหนอนเป็นผลโดยตรงจากฮอร์โมน 20-hydroxyecdysone แต่การให้ JHA อาจเป็นการกระตุ้นผ่านกลไก positive feedback activation ของฮอร์โมนเอคไดโซน

การปลูกถ่ายต่อมโปรทอแรกซิกจาก donor larvae ที่ได้รับ JHA โดยตรงไปยัง recepient larvae ที่ไม่ได้รับ JHA แล้วทำให้ recepient larvae เกิดการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้ได้ อาจจะสามารถอธิบายได้ว่า ต่อมโปรทอแรกซิกของ donor larvae นั้นได้รับการกระตุ้นโดย JHA ทำให้

สามารถสร้างฮอร์โมนเอคไดโซน เรียกต่อมโปรทอแรกซิกที่ได้รับการกระตุ้นโดย JHA แล้วในขณะนี้ว่า activated PG ดังนั้น เมื่อนำ activated PGไปปลูกถ่ายให้ recepient larvae ทำให้ recepient larvae มี activated PG และ ต่อมของ recepient larvae เองที่ไม่ได้รับการกระตุ้นโดย JHA เมื่อวัดปริมาณของเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์ของ recepient larvae ภายหลังการปลูกถ่ายต่อมโปรทอแรกซิกพบว่ามีระดับของฮอร์โมนเอคไดโซนสูงขึ้นเช่นเดียวกับที่ต่อมโปรทอแรกซิกของ recepient larvae สามารถหลั่งฮอร์โมนเอคไดโซนออกมาได้ ดังนั้นการเข้าสู่ระยะดักแด้ได้ของ recepient larvae ที่เกิดขึ้นอาจเกิดเนื่องจาก

1. activated PG ของ donor larvae ที่ได้รับการกระตุ้นโดยตรง ทำหน้าที่หลักในการหลั่งฮอร์โมนเอคไดโซนออกมาในฮีโมลิมพ์ของ recepient larvae ทำให้มีผลโดยตรงเกิด tanned cuticle ที่อิพิเดอร์มิสของตัวหนอน
2. ต่อมโปรทอแรกซิกของ recepient larvae ถูกกระตุ้นโดยฮอร์โมนเอคไดโซนที่หลั่งออกมาจากการกระตุ้นของ activated PG ทำให้ต่อมโปรทอแรกซิกของ recepient larvae สามารถหลั่งฮอร์โมนเอคไดโซนออกมาได้ จึงทำให้ระดับของฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์สูงขึ้นจนนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงรูปร่างเข้าสู่ดักแด้ได้
3. การเพิ่มขึ้นของปริมาณฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์อาจจะมีผลทำให้เกิดกลไก ultra short loop positive feedback ของ recepient PG ทำให้เกิดการหลั่งฮอร์โมนเอคไดโซนอย่างต่อเนื่อง จนเป็นผลทำให้หนอนเกิดการเข้าดักแด้

และจากการศึกษาการแสดงออกของ EcR mRNA ในต่อมโปรทอแรกซิกพบว่า กลุ่มที่ได้รับ JHA มีการแสดงออกของ EcR mRNA มากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการกระตุ้นด้วย JHA ซึ่งเป็นการยืนยันได้ว่าต่อมโปรทอแรกซิก ได้รับการกระตุ้นเนื่องมากจากการเพิ่มขึ้นของปริมาณฮอร์โมนเอคไดโซน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาใน *M. sexta* ที่พบว่าปริมาณของฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์มีผลต่อการแสดงออกของ EcR mRNA (Fujiwara *et al.*, 1995) และ ปริมาณฮอร์โมนเอคไดโซนในฮีโมลิมพ์มีผลต่อการกระตุ้นการทำงานของต่อมโปรทอแรกซิก โดยการเพิ่มการแสดงออกของ USP mRNA (Gilbert *et al.*, 1997)