

บทที่ 2

ทบทวนเอกสาร

แมลงเป็นสัตว์ที่มีรูปร่างเรียวยาวทรงกระบอก ลำตัวซีกซ้ายและซีกขวามีลักษณะสมมาตรแบบครึ่งซีก (bilateral symmetry) ลำตัวของแมลงมีลักษณะเป็นปล้อง (segments) เรียงต่อเนื่องกัน ซึ่งปล้องลำตัวเหล่านี้จะรวมกลุ่มกัน (tagmosis) ทำให้แมลงมีลำตัวแบ่งออกเป็น 3 ส่วน อย่างชัดเจน ได้แก่ ส่วนหัว (head) ถัดมาเป็นส่วนกลางลำตัวคือส่วนอก (thorax) และส่วนสุดท้ายคือส่วนท้อง (abdomen) โดยส่วนหัวมีหน้าที่เป็นศูนย์รวมของระบบประสาท รวมทั้งระบบการรับรู้สัมผัสต่างๆ และมีอวัยวะที่ใช้ในการกินอาหาร ส่วนอกเป็นที่ตั้งของอวัยวะที่ใช้ในการเคลื่อนที่ ได้แก่ ขาและปีก และส่วนท้องเป็นที่ตั้งของอวัยวะรับรู้สัมผัสและระบบอวัยวะภายในระบบต่างๆ เช่น บางส่วนของระบบทางเดินอาหาร ระบบประสาท รวมทั้งระบบขับถ่ายและระบบสืบพันธุ์ที่สมบูรณ์ (ศานิต, 2546)

ส่วนอกจัดเป็นลำตัวส่วนที่สองของแมลง ออกแต่ละปล้องมีโครงสร้างทั่วไปที่คล้ายคลึงกัน จัดเป็นศูนย์กลางการเคลื่อนที่ของแมลง ได้แก่ ขาและปีก โดยปีกของแมลงเป็นอวัยวะที่มีความสำคัญช่วยในการเคลื่อนที่โดยการบินและการทรงตัวของแมลง ปีกเกิดมาจากการขยายตัวของผนังลำตัวที่อยู่ระหว่างด้านสันหลังและด้านข้างของปล้องอกเจริญออกเป็นแผ่นปีก แมลงส่วนใหญ่มีปีก 2 คู่ เห็นได้ชัดในระยะตัวเต็มวัยโดยปีกคู่หน้ายึดติดกับอกปล้องที่สอง ส่วนปีกคู่หลังยึดติดกับอกปล้องที่สาม นอกจากนั้นพบว่าแมลงบางชนิดมีปีกเพียงคู่เดียว ซึ่งปีกคู่นี้ก็ยึดติดกับอกปล้องที่สอง ส่วนอกปล้องที่สามเป็นที่อยู่ของอวัยวะ 1 คู่ เรียกว่า อวัยวะควบคุมการบิน (halteres) มีลักษณะเป็นก้อน ส่วนปลายพองออกเป็นตุ่ม ใช้ในการทรงตัวของแมลง โดยปีกของแมลงมีลักษณะแตกต่างจากระยางค์ส่วนอื่นๆ คือไม่มีกล้ามเนื้อยึดติดอยู่ภายในเลย ซึ่งในระยะตัวหนอน (larva) ของแมลงเรียกว่า ปุ่มปีก ลักษณะเป็นแผ่นแบนขนาดเล็กค่อนข้างกลมและใส มีท่อลมจับตัวเป็นก้อนติดอยู่ตรงกลางส่วนฐานของปุ่มปีก ซึ่งปุ่มปีกนี้จะเจริญเป็นปีกสมบูรณ์ในระยะดักแด้ (pupa)

All rights reserved

ลักษณะทั่วไปของหนอนเยื่อไผ่

หนอนเยื่อไผ่ เป็นระยะตัวหนอนของผีเสื้อกลางคืน (moth) มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Omphisa fuscidentalis* Hampson จัดอยู่ในวงศ์ Pyralidae อันดับ Lepidoptera หนอนเยื่อไผ่พบมากในภาคเหนือตามภูเขา นอกจากนี้ยังพบในประเทศพม่า ลาว และจีน มักจะพบในพื้นที่ที่มีความสูงจากระดับน้ำทะเล 350 เมตรขึ้นไป ต้นไผ่ที่พบหนอนเยื่อไผ่มากที่สุดได้แก่ ไผ่ชางคอย ไผ่ชาง และไผ่หูก เป็นต้น หนอนเยื่อไผ่จะมีการเคลื่อนที่จากปล้องล่างของไผ่ขึ้นไปสู่ปล้องที่สูงขึ้นไป โดยการเจาะรูระหว่างปล้องจนกระทั่งถึงระยะการเข้าดักแด้ หนอนจะเคลื่อนที่กลับลงมายังไผ่ปล้องเกือบล่างสุดหรือปล้องที่สองถัดจากปล้องที่มีรอยเจาะเข้าไปเมื่อระยะตัวหนอน แล้วห้อยหัวลงเพื่อเข้าสู่ระยะดักแด้ เมื่อเจริญเป็นตัวเต็มวัยจึงจะบินออกจากปล้องไผ่ (เดชา, 2535; ไพฑูรย์, 2538: 2544)

หนอนเยื่อไผ่เป็นตัวหนอนแบบ eruciform คือลำตัวเรียวยาวเป็นทรงกระบอก แบ่งได้เป็น 3 ส่วน มีส่วนหัวเจริญดี หนวดมีขนาดสั้นมาก มีทั้งหมด 13 ปล้อง (ภาพ 1) มีปากแบบกัด ส่วนอกมีขาจริง 3 คู่ ส่วนท้องมีขาเทียม 5 คู่ ทางเดินอาหารมีลักษณะเป็นท่อตรงยาวตลอดลำตัว แบ่งเป็นทางเดินอาหารส่วนต้น (foregut) ส่วนกลาง (midgut) และส่วนท้าย (hindgut) มีช่องขับถ่าย (anus) เปิดออกสู่ภายนอกที่ส่วนท้ายสุดของลำตัว ส่วนระบบหายใจประกอบด้วย ท่อลม (trachea) ท่อลมย่อย (tracheole) และรูหายใจ (spiracle) และพบว่า มี dorsal blood vessel อยู่ทางกึ่งกลางด้านบน ส่วนระบบประสาทส่วนกลางอยู่ทางกึ่งกลางด้านล่างตลอดความยาวลำตัว (วนิดา, 2539)



ภาพ 1 แสดงระยะตัวหนอนของหนอนเยื่อไผ่ *Omphisa fuscidentalis* Hampson

วงชีวิตของหนอนเยื่อไผ่ (ภาพ 2)

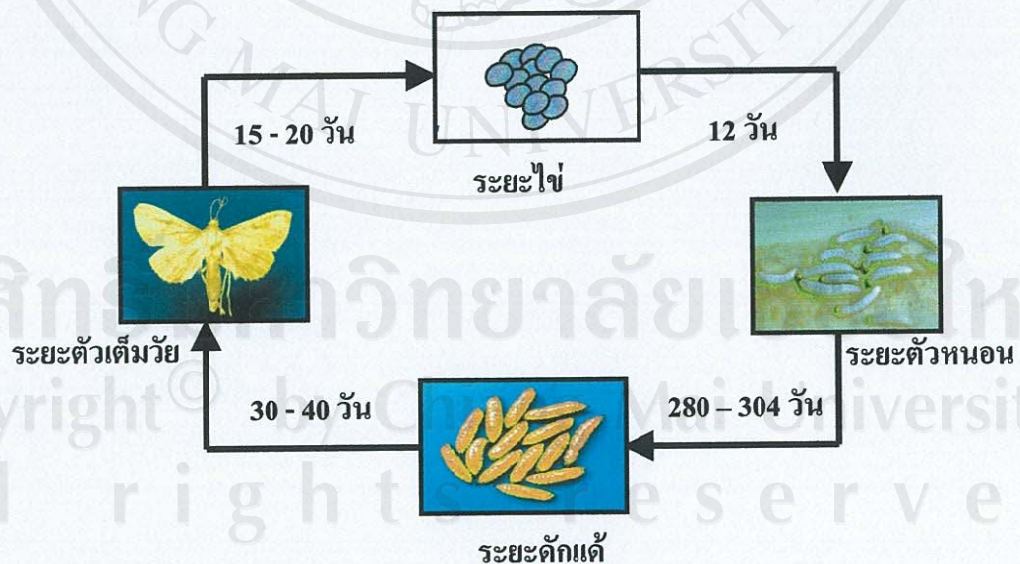
หนอนเยื่อไผ่เป็นกลุ่มแมลงที่มีเพียง 1 รุ่นในหนึ่งปี ซึ่งประชากรของแมลงในกลุ่มนี้มักอยู่ในระยะเดียวกัน เรียกว่า univoltine มีวงชีวิตนาน 1 ปี แบ่งออกได้เป็น 4 ระยะ ดังนี้

ระยะไข่ หลังจากตัวผู้และตัวเมียผสมพันธุ์กันแล้ว ตัวเมียจะเลือกหาบริเวณที่วางไข่ อยู่บนกาบของหน่อไม้ โดยวางไข่เรียงซ้อนกันเป็นกลุ่มประมาณ 80-130 ฟอง ไข่มีลักษณะกลมรี ขนาดกว้าง 0.7-1.0 ซม. และยาว 0.7-2.0 ซม. มีสีขาวขุ่น ผิวเรียบเกลี้ยงเป็นมัน ระยะนี้ใช้เวลา 12 วัน

ระยะตัวหนอน เมื่อฟักออกจากไข่แล้ว พบว่าหนอนเชื้อไม้จะเจาะทะลุลำต้นไม้เข้าไปข้างใน และมีการเจริญเติบโตอยู่ในกระบอกไม้เป็นกลุ่มซึ่งกินเชื้อไม้เป็นอาหาร โดยหนอนเจาะข้อปล้องของไม้ทะลุแล้วเคลื่อนย้ายกัดกินเชื้อไม้ขึ้นไปตามการเจริญของต้นไม้ที่สูงขึ้น จนกลายเป็นตัวหนอนที่โตเต็มที่ จากนั้นจะเคลื่อนย้ายกลับลงมาที่ปล้องล่าง ระยะนี้ใช้เวลาประมาณ 280-304 วัน ระยะตัวหนอนมีทั้งหมด 5 อินสตาร์ ระยะอินสตาร์สุดท้ายอยู่ในระยะพักการเจริญ (diapause) นานถึง 9 เดือนคือตั้งแต่เดือนกันยายนถึงพฤษภาคมของปีถัดไป โดยตัวหนอนจะหยุดกินอาหารทำให้ชะลอการเจริญเติบโตและไม่มีการเพิ่มขนาดลำตัว เรียกตัวหนอนระยะนี้ว่า ลาร์วัลโคอะพอส

ระยะดักแด้ พบช่วงปลายเดือนพฤษภาคมจนถึงเดือนมิถุนายน หนอนเชื้อไม้จะลอกคราบกลายเป็นดักแด้ห้อยหัวลง มีคราบดักที่โคนเส้นใยซึ่งยึดดักแด้ให้แขวนตามข้อปล้อง ในระยะนี้ใช้เวลาประมาณ 30-40 วัน

ระยะตัวเต็มวัย ตัวเต็มวัยของหนอนเชื้อไม้เป็นผีเสื้อกลางคืน ขนาดกว้างเมื่อกางปีก 3.5-5.5 ซม. ลำตัวมีสีน้ำตาลเข้ม ตัวผู้จะมีขนาดประมาณ 2 ซม. ส่วนตัวเมียจะมีสีน้ำตาลส้มขนาดใหญ่กว่าตัวผู้ ปลายปีกคู่หน้ามีรอยหยักพาดตามขวางชัดเจน ระยะนี้ใช้เวลาประมาณ 15-20 วัน



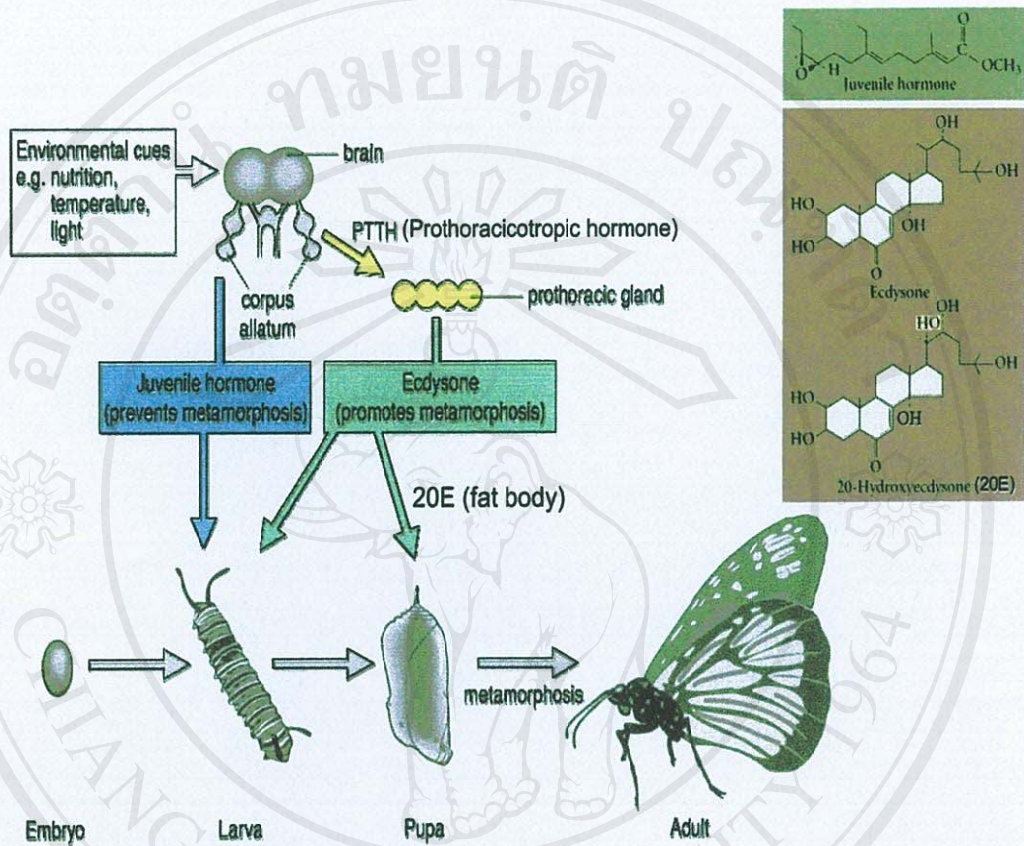
ภาพ 2 แสดงวงจรชีวิตของหนอนเชื้อไม้ *Omphisa fuscidentalis* Hampson

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับหนอนเยื่อไผ่

Singtripop *et al.* (1999) พบว่าหนอนเยื่อไผ่จะเข้าสู่ระยะไดอะพอสช่วงที่เป็นตัวหนอน นานประมาณ 9 เดือน ตั้งแต่เดือนกันยายนถึงพฤษภาคมของปีถัดไปและได้ทำการศึกษาผลของ ฮอร์โมนจูวีไนล์ต่อการสิ้นสุดระยะไดอะพอสของหนอนเยื่อไผ่ พบว่า JHA สามารถชักนำให้ หนอนเยื่อไผ่เกิดการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้ได้ โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงของสีลำตัวใน ระยะ G3 ซึ่งมีสีส้มมน้ำตาลทั่วตัว ซึ่งเกิดจากการสร้างชั้นคิวติเคิลที่ผิวหนัง ต่อมาตุพร (2542) ได้ ศึกษาการตอบสนองและผลของ 20E ต่อระดับโปรตีนในฮีโมลิฟของหนอนเยื่อไผ่ในระยะไดอะ พอส โดยฉีด 20E ให้แก่หนอนเยื่อไผ่ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน พบว่า 20E นี้สามารถชักนำให้ หนอนเยื่อไผ่สร้างคิวติเคิลและเกิดการเข้าสู่ระยะดักแด้ได้ ซึ่งขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของฮอร์โมน โดยฮอร์โมนที่มีความเข้มข้นสูงสุดสามารถชักนำให้หนอนเข้าดักแด้โดยใช้เวลาน้อยที่สุด นอกจาก นั้นเมื่อฉีดฮอร์โมนเอกไดโซนแก่หนอนเยื่อไผ่ในเดือนต่างๆ พบว่าในเดือนเมษายนใช้เวลาในการ ชักนำให้หนอนเข้าดักแด้น้อยที่สุด Singtripop *et al.* (2000) ได้ศึกษาถึงการสิ้นสุดของระยะไดอะ พอสในหนอนเยื่อไผ่ โดยทำการทดลองให้ JHA แก่ตัวหนอนที่ถูกผ่าตัดเอาสมองออกแล้ว พบ ว่าหนอนเยื่อไผ่สามารถเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ดักแด้ได้เช่นเดียวกัน

การควบคุมการเจริญและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของแมลง

กลุ่มเนื้อเยื่อและอวัยวะในการควบคุมการเจริญและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของแมลงมีดังนี้ คือ นิวโรซีครีทอรีเซลล์ (median neurosecretory cells), ต่อมคอร์พัส คาคีเอคัม (corpus cardiacum), ต่อมโปรทอแรกซิก และต่อมคอร์พัส อัลเลตัม (corpus allatum) โดยนิวโรซีครีทอรีเซลล์ ในสมองจะ สร้างฮอร์โมน PTH (prothoracicotropic hormone) และจะนำมาสะสมไว้ที่ ต่อมคอร์พัส อัลเลตัม ต่อมาฮอร์โมนนี้จะถูกปล่อยออกไปที่กระแสเลือด เพื่อไปกระตุ้นการทำงานของต่อมโปรทอแรกซิก สำหรับการสร้างฮอร์โมน PTH พบว่าอาจจะเกิดขึ้นได้โดยการกระตุ้นจากสิ่งแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ และแสง เป็นต้น จากนั้นต่อมโปรทอแรกซิกจะสร้างฮอร์โมนเอกไดโซน ฮอร์โมนนี้จะไปกระตุ้น เซลล์ให้มีการเจริญเติบโตและทำหน้าที่เกี่ยวกับการลอกคราบ ส่วนต่อมคอร์พัส อัลเลตัม จะทำหน้าที่ ในการสร้างฮอร์โมนจูวีไนล์ ฮอร์โมนนี้จะไปกระตุ้นการเจริญของแมลงที่ระยะตัวหนอน ในขณะที่ เดียวกันก็จะไปป้องกันการเจริญและการพัฒนาเป็นตัวเต็มวัย แมลงที่อยู่ในระยะตัวหนอนอินสตาร์ ต่างๆ จะสร้างฮอร์โมนเอกไดโซนและฮอร์โมนจูวีไนล์ ออกมาทั้งสองชนิด แต่ในอินสตาร์สุดท้ายจะ ไม่มีการสร้างฮอร์โมนจูวีไนล์ แต่ยังคงสร้างฮอร์โมนเอกไดโซนเพียงอย่างเดียว ดังนั้นระยะตัว หนอนอินสตาร์สุดท้ายจึงลอกคราบเปลี่ยนไปเป็นดักแด้หรือตัวเต็มวัยได้ (ภาพ 3) (Schneiderman and Gilbert, 1964; ศานิต, 2539; สมร, 2535; เสาวภา, 2536)

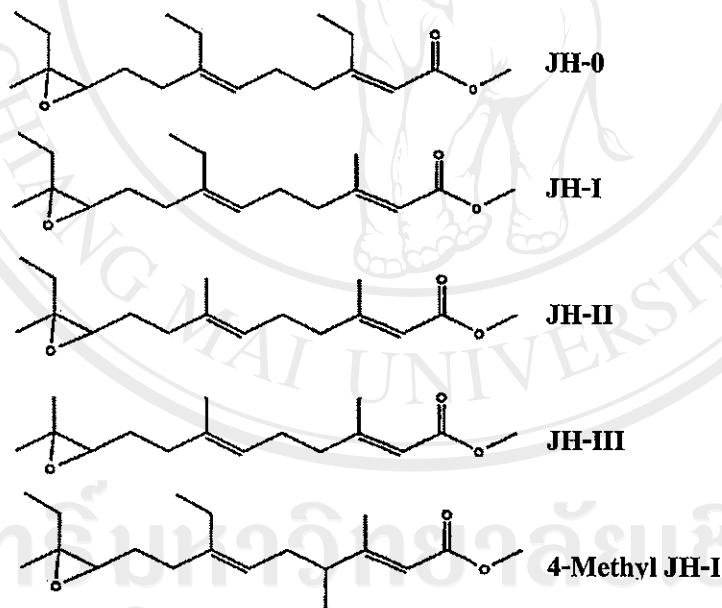


ภาพ 3 แสดงกลไกการทำงานของฮอร์โมนจูวีไนล์และฮอร์โมนเอกไดโซนของแมลง

บทบาทของฮอร์โมนจูว์ไนต์ในแมลง

ฮอร์โมนจูว์ไนต์ เป็นสารพวก terpenoid hormones ถูกสร้างจากต่อมคอร์พัส อัลเลตัม ซึ่งเป็นต่อมที่มีลักษณะกลม รูปไข่ หรือเป็นแผ่นบาง อยู่ติดกับต่อมคอร์พัส คาร์ดิเอคัม มีจำนวน 1 คู่ และมีขนาดเล็ก ซึ่งเกิดจากเนื้อเยื่อชั้น ectoderm ของเซลล์อีพิเดอร์มิสที่อยู่ระหว่าง mandible และ maxilla ต่อมนี้นี้มีเส้นประสาทที่ทอดมาจากคอร์พัส คาร์ดิเอคัมเพื่อมาควบคุมการทำงาน และต่อมจะมีขนาดเพิ่มขึ้นตามระยะการเจริญ จากนั้นขนาดจะเริ่มลดลงเมื่อเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัย (เพ็ญสุข, 2526; เสาวภา, 2536)

ฮอร์โมนจูว์ไนต์สามารถแบ่งออกได้น้อย 6 ชนิด (ภาพ 4) ซึ่งพบได้ในแมลงต่างชนิดกัน โดย JH-I และ JH-II ส่วนใหญ่จะพบในอันดับ Lepidoptera ส่วน JH-III เป็นฮอร์โมนจูว์ไนต์หลักที่สร้างมาจากต่อมคอร์พัส อัลเลตัม พบได้ในแมลงเกือบทุกอันดับ เช่น ใน ตั๊กแตน (*Locusta migratoria*) (Glinka *et al.*, 1995) JH-0 พบได้เฉพาะระยะเอมบริโอของ *Manduca* sp. และเพศผู้ของ *Hyalophora cecropia* สำหรับ 4-methyl-JH-I พบได้ใน *Manduca* sp. เฉพาะระยะเอมบริโอ เช่นเดียวกับ JH-0 และ JHB₃ ที่พบได้ในแมลงวันชั้นสูงบางชนิด (Bergot *et al.*, 1980; Schooley *et al.*, 1984)



ภาพ 4 แสดงสูตรโครงสร้างของฮอร์โมนจูว์ไนต์ชนิดต่างๆ (ดัดแปลงจาก Nijhout, 1994)

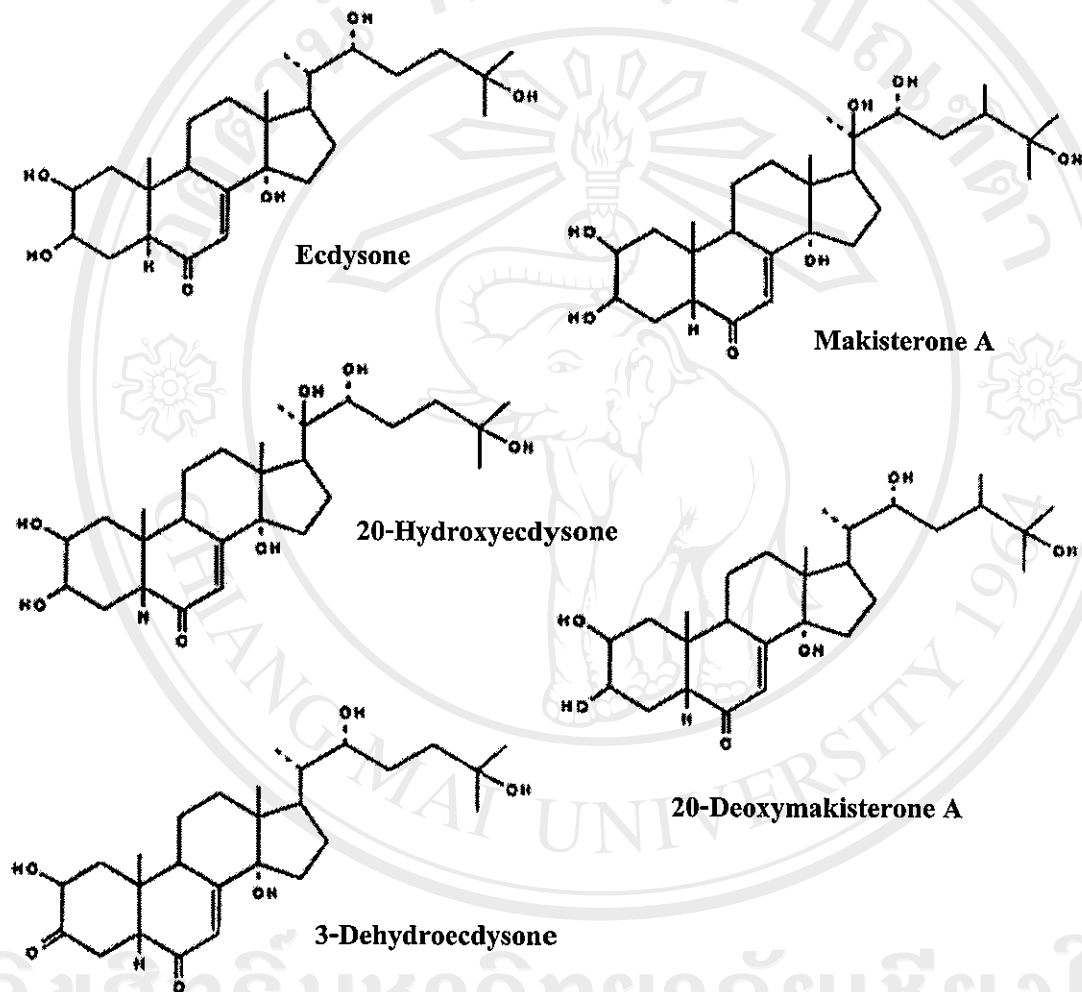
บทบาทที่สำคัญของฮอร์โมนจูว์ไนต์คือ การควบคุมกระบวนการเมตาโมρφอซิสของแมลงระยะตัวหนอนและระยะดักแด้ ซึ่งมีหน้าที่ในการรักษารูปร่างลักษณะของระยะตัวหนอนเอาไว้ไม่ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นตัวเต็มวัย โดยทั่วไปถ้าตัวหนอนมีฮอร์โมนชนิดนี้สูงทำให้แมลงยังคงสภาพเป็นตัวหนอนอยู่ ถ้าระดับของฮอร์โมนดังกล่าวลดลงจะมีการลอกคราบให้เข้าสู่ระยะดักแด้

แต่ถ้าไม่มีฮอร์โมนชนิดนี้อยู่เลยแมลงก็จะเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัย (เสาวภา, 2536) ระดับของฮอร์โมนจูว์ไนล์นั้นมีอิทธิพลต่อการเจริญของแมลงในช่วงเมตามอร์โฟซิส เช่น แมลงในอันดับ Lepidoptera ที่พบว่าฮอร์โมนจูว์ไนล์มีอิทธิพลต่อการลอกคราบจากระยะตัวหนอนเป็นตัวหนอน ระยะตัวหนอนเป็นดักแด้ และระยะดักแด้เป็นตัวเต็มวัย (Gilbert *et al.*, 1980) และ Wigglesworth (1970) กล่าวว่า หลังจากที่ทำการปลูกถ่ายต่อมคอร์พัส อัลเลคัม ในระยะตัวหนอนของ *Tenebrio* sp. (Coleoptera) ทำให้ตัวหนอนมีการลอกคราบประมาณ 6 ครั้ง และพบว่าต่อมคอร์พัส อัลเลคัมนั้นส่งผลต่อการควบคุมกระบวนการเมตามอร์โฟซิสของผึ้ง อันดับ Hymenoptera นอกจากนี้พบว่าเมื่อเอาต่อมคอร์พัส อัลเลคัม จากระยะตัวหนอนของ *Calliphora* มาปลูกถ่ายให้กับตัวหนอนอินสตาร์สุดท้ายของ *Rhodnius* ที่บริเวณปล้องท้องพบว่าชีวิตเกิดจะถูกสร้างขึ้นมาจากที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่าฮอร์โมนนี้มีอิทธิพลต่อการเจริญของส่วนต่างๆ ในระยะตัวหนอนของแมลง ดังเช่น มีผลต่ออัตราเมตาบอลิซึมของโปรตีนและไนโตรเจน ซึ่งถ้าตัดต่อมคอร์พัส อัลเลคัม (allatectomy) นี้ออก พบว่าจะมีการสะสมกรดอะมิโน (amino acid) ในเนื้อเยื่อและมีผลไปยับยั้งการเจริญของรังไข่ทำให้มีการสะสมไนโตรเจนและไกลโคเจน อีกทั้งยังมีผลต่อรูปร่างของปีก โดยพบใน *Lampyrus nectiluca* อันดับ Coleoptera ซึ่งถ้าไม่มีฮอร์โมนจูว์ไนล์ แมลงชนิดนี้จะมีรูปร่างที่ไม่เปลี่ยนแปลงเลยและบางครั้งตัวผู้จะมีปีกเล็ก แต่ถ้ามีฮอร์โมนนี้ในปริมาณมากจะทำให้เกิดการลอกคราบของตัวหนอนหลายครั้งและได้ตัวเมียที่ไม่มีปีกออกมา (สมร, 2535)

กล่าวได้ว่าฮอร์โมนจูว์ไนล์ เป็น metamorphic hormone (ฮอร์โมนที่ใช้ในการลอกคราบของแมลง) ซึ่งฮอร์โมนนี้สามารถกำหนดประสิทธิภาพของการลอกคราบในกระบวนการเมตามอร์โฟซิสของแมลงและพบว่าระดับของ JH (JH titer) ของแมลงในช่วง critical period หรือระยะที่ไวในการตอบสนองต่อการกระตุ้นของ JH เป็นตัวกำหนดการลอกคราบของแมลงในธรรมชาติ โดยพบว่าระดับของ JH สามารถวัดได้จากปฏิกิริยาเชิงซ้อนของกระบวนการ biosynthesis การ degradation และการจับกับ JH-specific binding proteins (JSBP) ซึ่งในระยะตัวหนอนของแมลงกลุ่ม holometabolous และ hemimetabolous จะมีความแตกต่างกัน อาจกล่าวได้ว่า JH-binding protein สามารถป้องกันให้ JH ไม่ถูกย่อยสลายโดย catabolic enzymes และสามารถตอบสนองต่อการลดลงของระดับ JH ภายในเนื้อเยื่อ นอกจากนี้ JH สามารถควบคุมระดับ ecdysteroid และตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของ ecdysteroid (ecdysteroid surge) ซึ่งมีผลต่อการควบคุมกระบวนการลอกคราบ ส่วนระดับของ JH ถูกควบคุมโดยการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการสร้าง JH และพบว่าในทางกลับกันกระบวนการสร้าง JH จะถูกควบคุมโดย neuropeptidase ซึ่งมีผลโดยตรงต่อกิจกรรมของกระบวนการ biosynthesis ในต่อมคอร์พัส อัลเลคัม (Gilbert *et al.*, 1996)

บทบาทของฮอร์โมนเอกไดโชนในแมลง

ต่อมโปรทอแรกซิก ทำหน้าที่สร้างฮอร์โมนเอกไดโชน หรือฮอร์โมนการลอกคราบ (molting hormone) มีสูตรโครงสร้างโดยทั่วไปคือ $C_{27}H_{44}O_6$ มีน้ำหนักโมเลกุล 464 (Karlson and Sekeris, 1966; Wigglesworth, 1970) เป็นสารจำพวกสเตียรอยด์ (steroid) ซึ่งมีอยู่หลายชนิดดังนี้ (ภาพ 5)



ภาพ 5 แสดงสูตร โครงสร้างของฮอร์โมนเอกไดโชนชนิดต่างๆ (ดัดแปลงจาก Nijhout, 1994)

ในปี ค.ศ 1954 Butenandt and Karlson ได้ทำการสกัดฮอร์โมนเอกไดโชนออกมา คือ แอลฟา-เอกไดโชน (α -ecdysone) และ เบตา-เอกไดโชน (β -ecdysone) ต่อมา Karlson *et al.* (1965) ได้กำหนดโครงสร้างของฮอร์โมนที่สมบูรณ์ ซึ่ง α -ecdysone จะอยู่ในรูป inactive ซึ่งโดยทั่วไปแล้ว

เชื่อว่าเป็น prohormone ต่อมา α -ecdysone นั้นจะถูก hydroxylated ทำให้เปลี่ยนแปลงไปเป็น ฮอร์โมนเอกไดสเตอรอน (ecdysterone, 20-hydroxyecdysone หรือ β -ecdysone) ซึ่งอยู่ในรูปที่ active ฮอร์โมนเอกไดโซนชนิดต่อมาคือ makisterone A (ภาพ 5) เป็นฮอร์โมนหลักที่พบใน honey bee และแมลงอันดับ Hemiptera พบว่า ring gland ของ *Drosophila* sp. ในสถานะ in vitro สามารถ หลั่ง 20-deoxymakisterone A ได้ ส่วน 3-dehydroecdysone พบได้ใน *Manduca* sp. (Nijhout, 1994)

Wigglesworth (1970) กล่าวว่า ในช่วงระหว่างการลอกคราบจะพบว่าเซลล์อีพิเดอร์มิสและ intersegmental muscles จะอยู่ในภาวะ inactive ซึ่งใน nuclei ประกอบไปด้วย nucleoli ที่มีขนาดเล็กมาก ส่วนใน cytoplasm พบเฉพาะสายของ RNA (trace of RNA) นอกจากนี้ยังพบ granular mitochondria ที่มีขนาดเล็กหรือ filamentous mitochondria เพียงเล็กน้อย และหลังจากที่เซลล์ของ เนื้อเยื่อดังกล่าวได้รับฮอร์โมนลอกคราบจะทำให้ภาวะ inactive สิ้นสุดลง แล้วเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ ภาวะ active เรียกกระบวนการนี้ว่า activation แสดงให้เห็นว่าฮอร์โมนลอกคราบมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ชั้นอีพิเดอร์มิสและ intersegmental muscles ในขณะเดียวกันยังพบว่ามีเนื้อเยื่ออื่นที่ไม่ ได้ขึ้นอยู่กับฮอร์โมนลอกคราบนี้ เช่น ในระยะตัวหนอนของ *Rhodnius* sp. ลำดับของการเจริญและการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ของก้อนไขมัน (fat body cells) จะคล้ายกับเซลล์ที่ได้รับฮอร์โมนการลอก คราบ แต่เมื่อมีการผ่าตัดเอาสมองซึ่งเป็นแหล่งผลิตฮอร์โมน PTH มากระตุ้นต่อมโปรทอแรกซิกให้ หลั่งฮอร์โมนลอกคราบออก พบว่าก้อนไขมัน (fat body) ก็ยังสามารถเจริญต่อไปได้ แสดงให้เห็นว่า ฮอร์โมนดังกล่าวไม่ได้มีผลต่อการเจริญของก้อนไขมันแต่เป็นผลมาจากสารอาหารเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ Burt (1938) พบว่าการเจริญของ imaginal disc ขึ้นอยู่กับฮอร์โมนการลอกคราบ โดยถ้า ตัด ring gland ของ *Calliphora* sp. ระยะตัวหนอนออกจะทำให้การเจริญของ imaginal buds หยุดลง ส่วนใน *Drosophila* sp. พบว่าถ้านำเอา disc ไปปลูกถ่ายให้กับตัวเต็มวัยระยะปกติ disc จะไม่มีการ เจริญเติบโต แต่ถ้านำเอา ring gland ไปฝังไว้ (implantation) ในระยะตัวเต็มวัยจะสามารถทำให้ disc เกิดการเจริญต่อไปได้ (Bodenstein, 1943)

Nijhout (1976) ได้ศึกษาบทบาทของฮอร์โมนเอกไดโซนในการเข้าคักคักของ *M. sexta* โดย ฉีด β -ecdysone เข้าไปในตัวหนอนอินสตาร์สุดท้ายช่วงที่มี JH อยู่ พบว่าสามารถชักนำให้เกิด apolysis และการสะสมของคิวติเคิล (larval cuticle) ได้

เพ็ญสุข (2526) กล่าวถึงการทำงานของฮอร์โมนเอกไดโซนว่า ในนิวเคลียสของเซลล์อีพิ- เดอร์มิสจะมีการสะสมฮอร์โมนเอกไดโซน ซึ่งอาจจะกระตุ้นโดยตรงต่อนิวเคลียส โดยพบว่า giant chromosome ของ Dipterous larva จะมี puffs เกิดขึ้น ถือได้ว่าเป็นการแสดงกิจกรรมของ particular gene เช่น เมื่อระยะตัวหนอนของริ้นดำ (*Chironomus* sp.) มีการลอกคราบเข้าสู่ระยะคักคักแล้วจะมี puffs เกิดขึ้นใหม่บนโครโมโซมหนึ่งส่วน puffs เก่าจะหายไป ซึ่งพบว่าการให้ฮอร์โมนเอกไดโซน

กำหนดอนในระหว่างการลอกคราบนั้นสามารถส่งผลต่อการเกิด puffs ได้เช่นกัน โดยหลังจากที่ฉีดเอคไดโซนกำหนดอนพบว่าจะมี puffs เกิดขึ้นภายในเวลา 15 นาทีและจะสูงสุดที่เวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นเล็กน้อยพบว่าจะมี puffs ที่สองเกิดขึ้น และสามวันต่อมาจะมีรูปแบบของ puffs ปรากฏขึ้น ซึ่งเชื่อว่าเป็นการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมทางชีวเคมี (biochemical activity) หรือการ suppression ของยีนต่างๆ โดยฮอร์โมนเอคไดโซน

สมร (2535) กล่าวว่า ฮอร์โมนที่หลั่งมาจากต่อมโปทอแรกซิกเป็นฮอร์โมนที่ใช้ในการลอกคราบ ซึ่งมีความสำคัญต่อการเจริญและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของแมลง ฮอร์โมนนี้ส่งผลต่อการกระตุ้นระบบเอนไซม์ของเซลล์ชั้นอีพิเดอร์มิสโดยเซลล์ที่ได้รับการกระตุ้นจะบวม ซึ่งอาจจะมีการแบ่งเซลล์หรือไม่ก็ได้ ทำให้มีการหลั่งสารที่เกี่ยวกับการลอกคราบ โดยเซลล์ชั้นอีพิเดอร์มิสสามารถเจริญและแบ่งตัวได้และสร้างสารไคตินที่เป็นองค์ประกอบของชั้นคิวติเคิล

การผลิตฮอร์โมนเอคไดโซนแต่ละชนิดแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดและขั้นตอนการเจริญของแมลง โดยทั่วไป β -ecdysone จะผลิตออกมาก่อนในช่วงการเจริญหลังตัวอ่อน (postembryonic development) จากนั้นจึงสร้าง α -ecdysone ตามมาเล็กน้อย ในระยะดักแด้ของหนอนหงอนยาสูบ (*M. sexta*) จะผลิต β -ecdysone ออกมาก่อนจากนั้นจะสร้าง α -ecdysone, 20 และ 26 hydroxyecdysone ออกมาในปริมาณเล็กน้อย ซึ่งฮอร์โมนนี้จะเข้าสู่โฮโมลิพและจะรวมตัวกับโปรตีนในโฮโมลิพเพื่อไปยังเนื้อเยื่อเป้าหมาย (เสาวภา, 2536)

ระยะไคอะพอสของแมลง

ระยะไคอะพอสเป็นการพักตัวระยะยาว (resting stage) อยู่ภายใต้การควบคุมของฮอร์โมนแมลงซึ่งจะชะลอการเจริญเติบโตพร้อมกับมีการปรับตัวทางสรีรวิทยา โดยแมลงจะมีอัตราของกระบวนการเมตาบอลิซึมต่ำ มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อม ซึ่งการพักตัวตามกลไกฮอร์โมนนี้มักเกิดขึ้นในวงจรชีวิตของแมลงแต่ละชนิดอย่างสม่ำเสมอในระยะใดระยะหนึ่งเพียงระยะเดียว (Gullan and Cranston, 2000; ศานิต, 2539)

การพักตัวของแมลงมี 4 ระยะคือ

1. การพักตัวในระยะไข่ (egg diapause) สามารถพบได้ในไข่ *B. mori* โดยการวางไข่ของเพศเมีย ในฤดูใบไม้ร่วง (Tauber *et al.*, 1986)
2. การพักตัวในระยะตัวหนอน (larval diapause) พบว่าแมลงส่วนใหญ่จะมีการพักตัวในระยะนี้ ซึ่งสามารถเกิดขึ้นได้ทุกอินสตาร์ของระยะตัวหนอน เช่น ใน *Speyeria* spp. มีการพักตัวที่ไม่เกี่ยวกับสภาพแวดล้อม (obligate diapause) โดยจะพักตัวในช่วงอินสตาร์แรกของระยะตัวหนอนทันทีที่พัสดุออกจากไข่ นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาถึงการควบคุมลักษณะทางสรีรวิทยาในช่วง

อินสตาร์สุดท้ายของแมลงอันดับ Lepidoptera โดยพบว่ามีการยับยั้งการหลั่งของฮอร์โมน PTH และ ecdysteroid เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ระยะดักแด้ของตัวหนอน (Nijhout, 1994) อีกทั้งยังพบว่า JH ทำให้เกิดการควบคุมลักษณะทางพฤติกรรมของระยะตัวหนอนช่วงก่อนเข้าสู่ระยะพักตัว (prediapause) และช่วงระยะพักตัว (diapause period) ในหนอนเจาะลำต้นข้าวโพด (southwestern corn borer, *Diatraea grandiosella*) (Tauber *et al.*, 1986)

3. การพักตัวในระยะดักแด้ (pupal diapause) เกิดจากสมองหยุดการหลั่งฮอร์โมน PTH และต่อมโปรทอแรกซิกเองก็จะหยุดการหลั่งฮอร์โมนเอกไดโซน ซึ่งถ้าอยู่ในช่วงของการเจริญปกติ การหลั่งของฮอร์โมนทั้งสองชนิดดังกล่าวจะเกิดขึ้นหลังจากการเข้าสู่ระยะดักแด้ (pupation) โดยพบได้ในแมลงอันดับ Lepidoptera เช่น *Hyalophora* sp. พวก Saturniidae บางชนิด ใน *Manduca* sp. หรือพบในผีเสื้อกลางคืนหลายชนิด รวมทั้งแมลงชั้นสูงบางชนิดในอันดับ Diptera (Nijhout, 1994)

4. การพักตัวในระยะตัวเต็มวัย (adult diapause) มีการศึกษาใน colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*) ช่วงที่ยังไม่มีการชักนำเข้าสู่ระยะพักตัว (non-diapause-inducing condition) ในช่วงของวันยาว (long day) และช่วงอากาศอบอุ่น (warm temperature) จะพบว่าระบบสืบพันธุ์ยังทำงานได้ดี (active) แต่เมื่อทำการตัดต่อมคอร์พัส อัลเลตัม พบว่ารังไข่ (ovary) มีขนาดลดลง กล้ามเนื้อที่ใช้ในการบิน (flight muscles) เริ่มมีการสลาย (degenerate) พบว่ากระบวนการเมตาบอลิซึมลดต่ำลงและเริ่มขุดเข้าไปอยู่ในดินตามแนวโน้มถ่วงของโลก ซึ่งในระหว่างก่อนระยะพักตัวจนถึงระยะพักตัวและเมื่อเข้าสู่ระยะหลังพักตัวของ colorado potato beetle พบว่าต่อมคอร์พัส อัลเลตัมจะมีหน่วยความจุเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณ JH ที่ผันแปรด้วย (De Wilde and De Boer, 1961: 1969)

จากที่กล่าวมาเกี่ยวกับการเข้าสู่ระยะพักตัวของแมลง พบว่าแมลงจะมีระยะพักตัวที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิด ซึ่งอาจจะเป็นผลมาจากปัจจัยภายใน ได้แก่ ฮอร์โมน และปัจจัยภายนอก เช่น อุณหภูมิ สภาพอากาศ และอาหาร เป็นต้น

การเจริญของปีกแมลง

แมลงเป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังชนิดเดียวที่มีปีก โดยที่ปีกของแมลงส่วนใหญ่มีประโยชน์หลายประการคือ ใช้ปีกในการบินหาอาหาร หาแหล่งที่ใช้ในการขยายพันธุ์ ใช้บินไล่จับเหยื่อ หรือบินหลบหนีศัตรู อีกทั้งใช้ปีกเสียดสีกันเพื่อใช้ทำสัญญาณเสียงต่างๆ ขนาดและรูปร่างของปีกแมลงนั้นแตกต่างกันไปตามประเภทของแมลง โดยทั่วไปปีกของแมลงมีลักษณะเป็นเยื่อบางๆ อาจมีขนหรือเกล็ดขึ้นปกคลุมที่ผิวด้านนอก เช่น ปีกของแมลงอันดับ Lepidoptera และลักษณะโครงสร้างของปีกจะมีเส้นปีก (wing venation) ที่มีลักษณะเป็นท่อกลวงแตกแขนงแผ่กระจายไปทั่วปีก ซึ่งเส้นปีกนี้เป็นโครงสร้างที่มีความสำคัญในการพองให้ปีกทรงรูปอยู่ได้ ภายในจะมีท่อน้ำ เส้นประสาทและเลือดของแมลง (सानิต, 2546)

Green (2003) กล่าวว่า ในการเจริญของปีกแมลงนั้นจะสัมพันธ์กับความหลากหลายของแมลง เพราะหน้าที่สำคัญของปีกแมลงคือใช้ในการบินเพื่อสำรวจพื้นที่ใหม่ที่มีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิต ซึ่งได้มีการศึกษารูปแบบการเกิดปีกของแมลง เช่น การศึกษาเกี่ยวกับเอ็มบริโอ (embryology) การศึกษาเกี่ยวกับการเจริญทางพันธุศาสตร์ (developmental genetics) การศึกษาเกี่ยวกับบรรพชีวินวิทยา (paleontology) เป็นต้น นอกจากนี้ยังได้กล่าวถึงทฤษฎีการเจริญของปีก โดยทฤษฎีแรกสรุปไว้ว่าพวกสัตว์โบราณที่มี 6 ขา (hexapods) ยุคแรกอยู่ในน้ำ มีการพัฒนาโครงสร้างของปีกมาจากแผ่นปิดช่องเหงือก (gill slit covered) หรือมีโครงสร้างคล้ายกับ pleuron หรือ แผ่น sclerite ด้านข้างของปล้องอก โดยการบินของสัตว์กลุ่มนี้พัฒนามาจากการแล่นหรืออาศัยการตวัดของอวัยวะดังกล่าวบนผิวน้ำ แต่ทฤษฎีต่อมากล่าวว่าพวกสัตว์โบราณที่มี 6 ขา ยุคแรกอยู่บนบก ในระยะแรกพัฒนาการของปีกนั้นมาจากชิ้นส่วนของปล้องลำตัวหรือขา ซึ่งเชื่อว่ามาจากส่วนที่เรียกว่า notum และมาจาก sclerite ด้านบนของปล้องอก จากทั้งสองทฤษฎีที่กล่าวมาพบว่าทฤษฎีที่สองมีแนวโน้มความเป็นไปได้มากกว่าทฤษฎีแรก

นอกจากนี้ยังมีอีกหลายทฤษฎีที่กล่าวเกี่ยวกับต้นกำเนิดปีกของแมลงโดยมี 2 ทฤษฎีซึ่งเป็นที่ยอมรับโดยทั่วไปคือ ทฤษฎีที่ 1 ปีกมีต้นกำเนิดมาจากพาราโนตัม (paranotum) ทฤษฎีนี้กล่าวว่าการบินครั้งแรกต้องมาจากแมลงที่ถูกลมพัดหรือถูกล่าโดยศัตรู ถ้าแมลงไม่มีปีกก็จะตกลงสู่พื้นดินอย่างไม่เป็นท่า ดังนั้นการมีแผ่นแบนด้านข้างที่เรียกว่า พาราโนตัม จึงมีความจำเป็นเพราะอาจช่วยให้ทรงตัวดีขึ้นหรือวางตัวในขณะที่ตกลงมา โดยการยกตัวของพาราโนตัมเป็นการช่วยยกตัวแมลงขึ้น และแมลงพร้อมที่จะวิ่งเมื่อพาราโนตัมลดระดับลง ซึ่งการลดระดับนี้จะไม่เร็วพอที่จะทำให้แมลงขึ้นสู่อากาศได้ ส่วนทฤษฎีที่ 2 กล่าวว่าปีกมีต้นกำเนิดมาจากเหงือก (gill) ทฤษฎีนี้เสนอว่าการบินมีต้นกำเนิดมาจากแมลงที่มีตัวอ่อนอยู่ในน้ำ โดยมีเหงือกอยู่สองข้างของปล้องท้องคั้งเช่น แมลงอันดับ Ephemeroptera ซึ่งพบว่าเหงือกมีลักษณะคล้ายกับปีก เคลื่อนไหวได้ ลักษณะเป็นแผ่นบาง

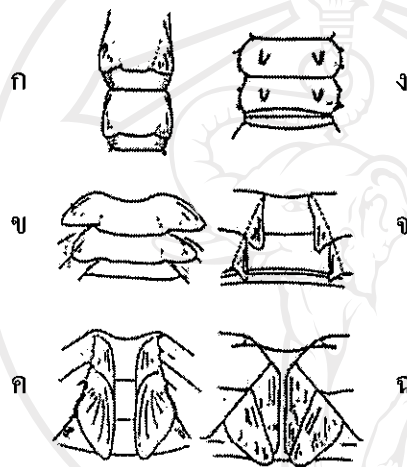
พร้อมทั้งมีท่อลมที่แตกกิ่งก้านสาขา โดยเห็นได้ชัดเจนในซากดึกดำบรรพ์ของแมลงชิปะขาวยุคเพอร์เมียน ซึ่งมีปีกอยู่ที่อกปล้องที่ 2 และอกปล้องที่ 3 แต่มีขนาดเล็กเกินกว่าจะใช้บิน (เสาวภา, 2536)

सानิต (2546) กล่าวว่า ปีกของแมลงไม่ได้เกิดจากการเปลี่ยนรูปของขาคู่หน้าให้กลายเป็นอวัยวะที่ใช้ในการบินเหมือนสัตว์ที่มีปีกชนิดอื่นๆ แต่เกิดจากการขยายตัวของผนังลำตัวที่อยู่ระหว่างด้านสันหลังและด้านข้างของปล้องอกเจริญออกเป็นแผ่นปีก ต่างไปจากปีกของสัตว์มีกระดูกสันหลังจำพวกนกซึ่งวิวัฒนาการเปลี่ยนแปลงไปจากระยางค์คู่หน้า ปีกของแมลงนี้มีลักษณะเป็นแผ่นเนื้อเยื่อบาง ไม่มีกล้ามเนื้อยึดอยู่ภายใน สามารถกรูบอยู่ได้เพราะเส้นปีก ซึ่งเป็นส่วนของท่อลมที่มีลักษณะเป็นท่อกลวง หนาแข็ง และแตกกิ่งก้านสาขาเป็นโครงสำหรับพุงปีกไว้ โครงร่างของเส้นปีกนั้นจะแตกต่างกันไปตามแต่ละชนิดของแมลง แมลงส่วนใหญ่มีปีก 2 คู่ โดยปีกคู่หน้ายึดติดกับอกปล้องที่สอง ส่วนปีกคู่หลังยึดติดกับอกปล้องที่สาม แต่มีแมลงบางชนิดที่มีปีกเพียงคู่เดียว ปีกนี้มักตั้งอยู่ที่อกปล้องที่สอง ส่วนอกปล้องที่สามพบว่าเมื่อวัยจะอยู่ 1 คู่ มีลักษณะเป็นก้านที่มีส่วนปลายพองออกเป็นติ่ง ซึ่งใช้ช่วยทรงตัวในขณะบิน เรียกว่าอวัยวะควบคุมการบิน (halteres) เช่นในแมลงวัน เหลือบ รัน และ ยุง ชนิดต่างๆ เป็นต้น หรือพบว่าในแมลงบางชนิดปีกนี้จะไปอยู่ที่อกปล้องที่สาม และมีอวัยวะคล้ายอวัยวะควบคุมการบินสลับที่ตั้งอยู่ที่อกปล้องที่สอง เช่น ในแมลงเพศผู้ของแมลงเบียนผึ้ง (stylopids) และแมลงเบียนปีกบิด (twisted-wing parasites) เป็นต้น แมลงบางชนิดนั้นไม่มีปีก เช่น เลียนนม (proturans) แมลงสองง่าม (diplurans) แมลงสามง่าม (silverfishes) และพวกแมลงหางคุด (springtails) ส่วนแมลงที่บรรพบุรุษเคยมีปีกแต่ในปัจจุบันไม่มีปีก ได้แก่ หมัด (fleas) เหา (lice) โลน (crab lice) เรือด (bed bugs) รวมทั้งแมลงในกลุ่มเพลี้ยหอย เพลี้ยแป้ง และผีเสื้อกลางคืนบางชนิด

Comstock (1918) รายงานว่า การเจริญของปีกระยะตัวหนอนมีสองประเภท คือ ประเภทแรก ปีกของระยะ nymph กลุ่ม hemimetabolous โดยปีกจะมีการเจริญและการเปลี่ยนแปลงขนาดและรูปร่างออกมาภายนอกร่างกาย โดยมีลักษณะเป็นปุ่ม (wing bud) พองออก ส่วนประเภทที่สอง คือ ปีกของระยะตัวหนอนของแมลงกลุ่ม holometabolous ซึ่งปีกมีการเจริญและการเปลี่ยนแปลงขนาดและรูปร่างภายในร่างกายตลอดทุกระยะการเจริญของแมลง

การเจริญของปีกแมลงกลุ่ม hemimetabolous

แมลงที่ผ่านกระบวนการเจริญแบบ incomplete metamorphosis ในกลุ่ม hemimetabolous พบการเจริญและการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางภายนอกค่อนข้างน้อย ซึ่งในการลอกคราบแต่ละครั้ง จะมีการขยายขนาดและรูปร่างเพิ่มขึ้น โดยปีกของแมลงในกลุ่มนี้จะเป็นลักษณะคล้ายปุ่มเป็นถุงพอง ออก มีการเจริญออกมาภายนอกแล้วและเริ่มมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อมีการลอกคราบ หลังจากทีลอกคราบเสร็จปีกก็จะแผ่ขยายออก เมื่อเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยปีกจะมีขนาดใหญ่ และการแผ่ขยายของปีกจะกว้างมากกลายเป็นปีกที่มีเส้นปีกสมบูรณ์ ช่องว่างระหว่างเส้นปีกบางลง เช่น ในแมลงอันดับ Orthoptera และ Odonata เป็นต้น



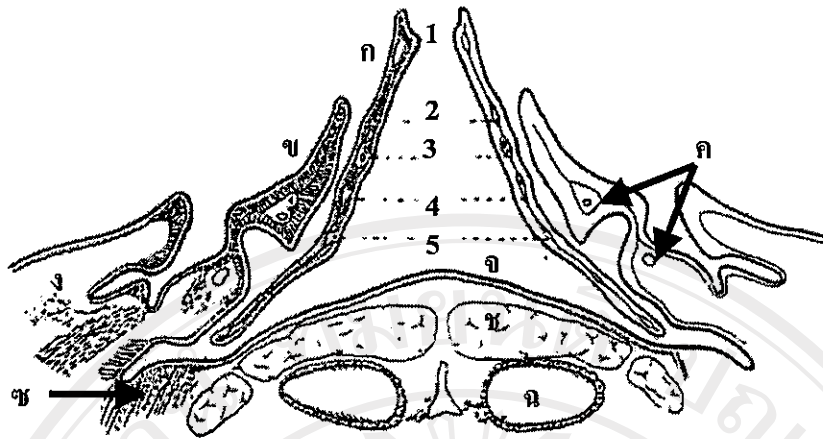
ภาพ 6 แสดงปุ่มปีกของระยะ nymph

ก แสดงปุ่มปีกของ stonefly ข และ ค แสดงปุ่มปีกของ grasshopper

ง – ฉ แสดงปุ่มปีกของ dragonfly

(ดัดแปลงจาก Comstock, 1918)

ปีกของ nymph ในระยะแรกจะเป็นรอยพับอยู่ที่ผนังลำตัว ภายในมีการเจริญ หลังจากนั้นพบว่าเมื่อเส้นเกิดขึ้นค่อนข้างยาวตรงรอยต่อระหว่าง tergum และ pleurum ซึ่งส่วนใหญ่ปีกของแมลงในกลุ่มนี้มีการเจริญต่อไปพร้อมกับ tergum จากนั้นปีกจะเริ่มสร้างไคติน (chitin) และมีความแข็งแรงมากขึ้น แต่พบว่าในแมลงอันดับ Odonata ส่วนใหญ่เป็นกลุ่มของแมลงปอ ปีกจะเกิดขึ้นในลักษณะตั้งชันบนผนังลำตัวของแต่ละปล้องออก ซึ่งในการเจริญของปีกนั้นจะมีระบบท่อลมเข้ามาเกี่ยวข้องกับด้วย โดยในระยะ nymph พบว่าท่อลมจะเจริญผ่านเข้าไปยัง wing bud ส่วนต้น จากนั้นก็จะขยายขึ้นไปตามการเจริญของปีก ต่อมาท่อลมจะเริ่มมีขนาดใหญ่ขึ้นพร้อมกับมีการแตกแขนงออกเป็นเส้นย่อยทางด้านข้างและส่วนปลายด้วย (Comstock, 1918) (ภาพ 6)



ภาพ 7 แสดงภาพตัดขวางของปุ่มปีกระยะ nymph ของ *Celithemis elisa*

ก ภาพตัดขวางของปุ่มปีกคู่หน้า ซึ่งจะตัดผ่านก่อนถึงส่วนของ arcus พบว่าจะมีการเจริญของเส้นปีก ดังนี้

หมายเลข 1 คือ เส้น costa หมายเลข 2 คือ เส้น subcosta

หมายเลข 3 คือ เส้น R M (the coalesced radius and media)

หมายเลข 4 คือ เส้น cubitus หมายเลข 5 คือ เส้น anal vein

ข ปุ่มปีกคู่หลัง โดยจะตัดผ่านส่วนฐานทางด้าน posterior

ค บริเวณส่วนฐานของท่อนที่ปุ่มปีกคู่หลัง

ง pleurum

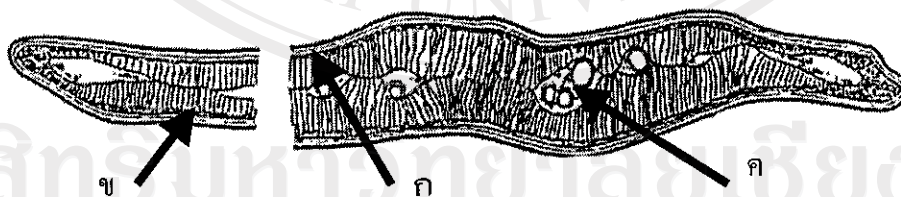
จ บริเวณ dorsum

ฉ ท่อน

ช ภาพตัดขวางของกล้ามเนื้อ

ซ ภาพตัดตามยาวของกล้ามเนื้อ

(คัดแปลจาก Comstock, 1918)



ภาพ 8 แสดงภาพตัดขวางปุ่มปีกคู่หน้าระยะ nymph ของ *Anax junius* ส่วนของข้อปีก (nodus)

ก cuticula

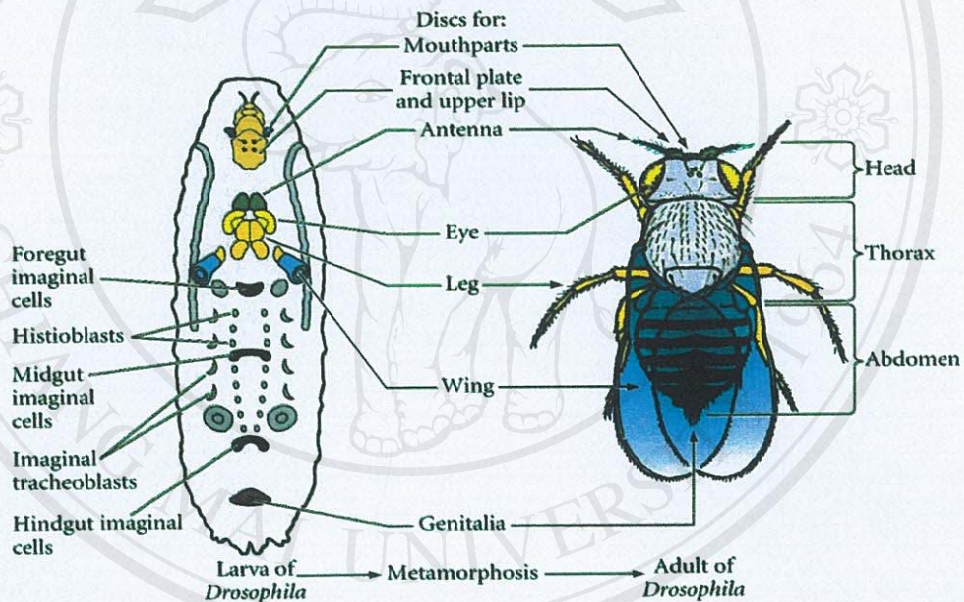
ข hypodermis เป็นลักษณะทั่วไปในการเจริญของปุ่มปีกระยะ nymph โดยมีการยึดตัวของ hypodermis cells ทั้งด้านบนและด้านล่างทำให้มีการบรรจบกัน

ค แสดงส่วนที่ไม่ได้บรรจบกัน โดยเป็นการสร้างช่องของเส้นปีกมีท่อนอยู่ภายใน

(คัดแปลจาก Comstock, 1918)

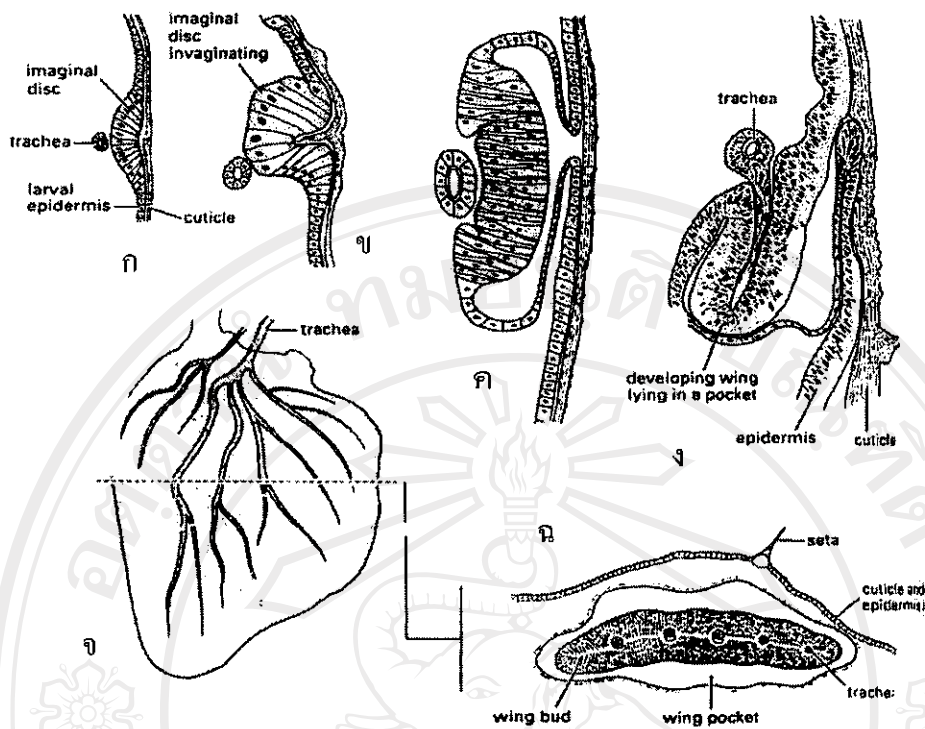
การเจริญของปีกแมลงกลุ่ม holometabolous

แมลงในกลุ่มนี้มีกระบวนการเจริญแบบ complete metamorphosis แบ่งขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงออกเป็น 4 ระยะ คือ ระยะไข่ ระยะตัวหนอน ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย ซึ่งส่วนใหญ่พบในแมลงอันดับ Lepidoptera และ Diptera การเจริญของปีกในแมลงส่วนใหญ่มีลักษณะสำคัญคล้ายกัน แต่จะมีลักษณะบางอย่างที่แตกต่างกัน ปีกของแมลงในระยะนี้เรียกว่า ปุ่มปีก พัฒนามาจาก imaginal disc (primordial cell หรือ histoblast) (ภาพ 9) ซึ่งเป็นกลุ่มเซลล์ที่จะมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นอวัยวะที่ทำหน้าที่เฉพาะ โดยปุ่มปีกนี้มีพัฒนาการภายในร่างกาย การเพิ่มจำนวนเซลล์ของปุ่มปีกเพิ่มขึ้นได้เร็วกว่าการเพิ่มขนาดลำตัว และจะเริ่มงอกออกมาหลังจากที่เกิดการลอกคราบของระยะตัวหนอนอินสตาร์สุดท้าย (Rockstein, 1973; Sehna, 1985)



ภาพ 9 แสดงลักษณะของ imaginal discs และ imaginal tissues ในระยะตัวหนอนของ *D. melanogaster*

ลักษณะที่บ่งชี้ถึงการเจริญของปุ่มปีก คือ ส่วนของ hypodermis มีความหนามากขึ้น ตัวอย่างเช่น ใน cabbage butterfly (*Pieris rapae*) ระยะตัวหนอนอินสตาร์ที่ 1 ลักษณะทางเนื้อเยื่อที่ปรากฏชัดเจน คือ imaginal disc เริ่มหนาขึ้น ต่อมาเมื่อเข้าสู่อินสตาร์ที่ 2 imaginal disc จะเริ่มชัดเจนมากขึ้น โดยเจริญยื่นเข้ามาข้างใน (invagination) มีโครงสร้างคล้ายหลุม (pocket-like structure) และเมื่อเข้าสู่อินสตาร์ที่ 3 พบว่า ส่วนที่ยื่นเข้ามานั้นเริ่มหนาตัวมากขึ้นและมีการสร้างเป็น pocket อีกทั้งส่วนที่หนาตัวขึ้นมานั้นจะพองตัวหรือยื่นออกมา (evagination) ทั้งสองข้าง ต่อมาในอินสตาร์ที่ 4 พบว่า ส่วนที่ evaginate นั้นเริ่มหนาตัวมากขึ้นและจะสังเกตเห็นการเจริญของขนาดรูปร่างและพบระบบท่อลมของปุ่มปีกได้ชัดเจนในอินสตาร์สุดท้าย (ภาพ 10)



ภาพ 10 แสดงระยะการเจริญของปมปีก ของ *P. rapae*

- ก. ปมปีกของระยะตัวหนอนอินสตาร์ที่ 1
 - ข. ปมปีกของระยะตัวหนอนอินสตาร์ที่ 2
 - ค. ปมปีกของระยะตัวหนอนอินสตาร์ที่ 3
 - ง. ปมปีกของระยะตัวหนอนอินสตาร์ที่ 4
 - จ. แสดงภาพตัดตามขวางของปมปีกระยะตัวหนอน
 - ฉ. แสดงภาพตัดขวางปมปีกระยะตัวหนอนอินสตาร์สุดท้าย
- (ดัดแปลงจาก Gullan and Cranston, 2000)

การเจริญของท่อลมของปมปีกในอินสตาร์ที่ 1 จะพบระบบท่อลมในบริเวณใกล้เคียงกับ imaginal disc แต่จะยังไม่มี การเจริญเข้าสู่ภายในของ imaginal disc จากนั้นท่อลมจะเริ่มการเจริญเข้าสู่ภายในของปมปีกในระยะต่อมา คือตั้งแต่อินสตาร์ที่ 2, 3, 4 และ 5 ตามลำดับ โดยในอินสตาร์ที่ 4 พบว่า เซลล์ของท่อลมจะมีขนาดใหญ่ขึ้นและยื่นเข้าสู่ช่องว่าง (cavity) ของปมปีก ซึ่งแต่ละเซลล์จะยาวขึ้น มีลักษณะคล้ายขด (coil) ที่เรียกว่า ท่อลมย่อย ซึ่งท่อลมย่อยนี้จะไม่ต่อกับ lumen ของท่อลมหลัก และยังไม่มีการขยายตัวมาก ต่อมาเมื่อลอกคราบเข้าสู่อินสตาร์สุดท้าย ท่อลมย่อยจะเริ่มเชื่อมต่อกับท่อลมหลัก ซึ่งจะไม่ขดตัวและมีการขยายตัวเข้าสู่ช่องเส้นปีก (vein-cavity) ดังนั้นจึงสามารถกล่าวได้ว่า ในช่วงปลายของอินสตาร์ที่ 4 หรือเมื่อเริ่มเข้าสู่อินสตาร์สุดท้าย จะเป็นช่วงการเจริญของ

ระบบท่อลมของปูมปีก ซึ่งในการเจริญแต่ละครั้งท่อลมหลักและท่อลมย่อยจะมีการขยายตัวเกิดขึ้น (Comstock, 1918; Nijhout, 1994; Gullan and Cranston, 2000) (ภาพ 10)

ปีกของแมลงระยะดักแด้

เมื่อตัวหนอนเข้าสู่อินสตาร์สุดท้าย จะมีการเจริญของปูมปีกอย่างต่อเนื่อง จนเมื่อเข้าสู่ช่วงปลายของระยะนี้ (last larval instar) หรือช่วงก่อนที่จะมีการเปลี่ยนแปลงเข้าสู่ดักแด้ (prepupal period) (ภาพ 11ก) พบว่า ท่อลมของปูมปีกจะไม่ทำหน้าที่และไม่มีอากาศอยู่ภายในเลย ในช่วงท้ายของอินสตาร์สุดท้ายกลุ่มของท่อลมย่อยของปูมปีกจะสลายไป จากนั้นเมื่อมีการลอกคราบเข้าสู่ระยะดักแด้ พบว่าชั้น intima เก้าของท่อลมในปูมปีกถูกสลัดออก แล้วท่อลมและท่อลมย่อยของปูมปีกจะเริ่มมีการเจริญขึ้น ต่อมาท่อลมจึงมีการแผ่กระจายและมีความยาวมากขึ้น ส่วนท่อลมย่อยเริ่มขยายเข้าไปตามแนวขวางของปีก โดยจะไม่มีการขด (ภาพ 11ข)



ภาพ 11 ก. แสดงปูมปีกก่อนเข้าสู่ระยะดักแด้ ของหนอนไหม (*Bombyx* sp.)

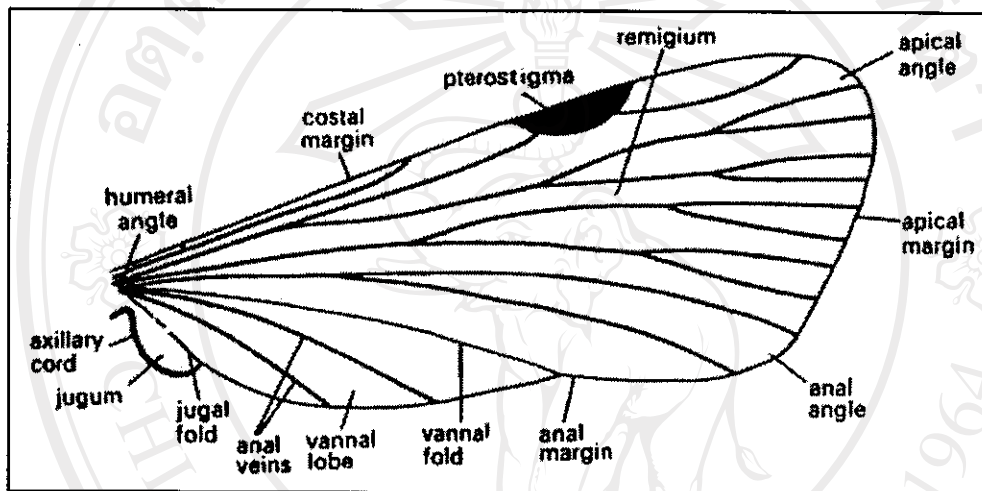
ข. แสดงลักษณะท่อลมของปูมปีก และท่อลมย่อยที่ไม่ขด ของ *Clisiocampa* sp.

(ดัดแปลงจาก Comstock, 1918)

ปีกของแมลงระยะตัวเต็มวัย

โดยทั่วไปปีกของแมลงระยะตัวเต็มวัยมีลักษณะเป็นแผ่นบาง แบน และฉีกขาดง่าย มีรูปร่างคล้ายรูปสามเหลี่ยมคือมี 3 ด้าน และมีชื่อเรียกขอบปีกแต่ละด้านคือ ขอบปีกด้านบนหรือด้านหน้าของปีก เรียกว่า costal หรือ anterior margin สำหรับขอบปีกที่อยู่ตรงส่วนปลายปีกต่อเนื่องลงมาถึงด้านล่าง เรียกว่า apical หรือ posterior margin ส่วนขอบปีกด้านล่างตรงบริเวณโคนปีก เรียกว่า anal margin พื้นที่ส่วนใหญ่บนปีกเรียกว่า remigium ซึ่งเป็นที่ตั้งของเส้นปีกตามแนวนอน ช่วยเสริมให้ปีกมีความแข็งแรงและมีประสิทธิภาพในการบิน พื้นที่ที่อยู่ถัดไปทางด้านล่างของปีก เรียกว่า clavus

แบ่งออกได้เป็น 2 ส่วน ส่วนแรกคือ vannus (anal area) เป็นที่ตั้งของ anal veins และส่วนต่อมาก็คือ jugal area เป็นที่ตั้งของ jugal veins สำหรับพื้นที่ตรงส่วนโคนปีก เรียกว่า axillary area พื้นที่บนปีก อาจถูกแบ่งตามรอยพับบนปีกที่เรียกว่า fold-lines หรือ flexion-lines พื้นที่ว่างบนปีกที่ถูกล้อมรอบ ด้วยเส้นปีก ประกอบไปด้วยเซลล์ซึ่งมีชื่อเรียกตามชื่อของเส้นปีกที่กั้นขอบด้านบนของเซลล์ปีก มีอยู่ 2 แบบได้แก่ เซลล์ปิด (closed cell) คือเซลล์ปีกที่มีขอบอยู่บริเวณกลางปีก มีเส้นปีกล้อมรอบเซลล์ปีกทุก ด้าน และเซลล์เปิด (opened cell) คือเซลล์ปีกที่ขยายตัวไปจนจรดขอบปีก เช่น พื้นที่ที่อยู่ตามปลาย ปีก (ศานิต, 2546) (ภาพ 12)



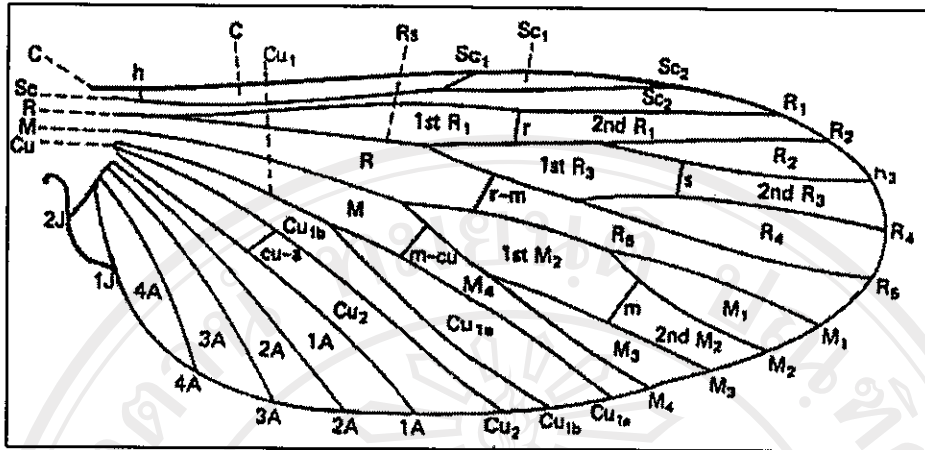
ภาพ 12 แสดงลักษณะ โครงสร้างของปีกแมลงระยะตัวเต็มวัย

(ภาควิชากีฏวิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2542)

เส้นปีกของแมลงแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท ดังนี้ (ภาพ 13)

1. เส้นปีกตามแนวนอน (longitudinal veins) คือเส้นปีกที่ทอดไปตามความยาวของปีก จากฐานปีกไปยังส่วนปลายของปีก มักมีการแตกแยกสาขาที่บริเวณปลายปีก โดยถือว่าเส้นปีกแบบนี้เป็นเส้นปีกหลัก มีทั้งหมด 6 เส้น ดังนี้
 - 1.1 Costa (C) เป็นเส้นที่ไม่มีแขนง ตั้งอยู่ที่ขอบปีกด้านบน มีลักษณะหนาและแข็งแรงกว่าเส้นอื่นๆ
 - 1.2 Subcosta (Sc) เป็นเส้นที่อยู่ใต้เส้น costa ลงมา ส่วนปลายจะแยกออกเป็นสองแขนง โดยแขนงบนเรียกว่า Sc1 (first subcosta) ส่วนแขนงล่างเรียกว่า Sc2 (second subcosta)

- 1.3 Radius (R) เป็นเส้นที่แตกแขนงในช่วงต้นออกเป็นสองแขนง แขนงบนเรียกว่า R1 (first radius) ส่วนแขนงล่างเรียกว่า Rs (radius sector) ซึ่งจะมีการแตกแขนงอีกสองครั้ง กลายเป็น 4 แขนงย่อยไปจรดที่ปลายปีก เรียกแขนงเหล่านี้จากแขนงบนสุดไปยังแขนงที่อยู่ล่างสุดว่า R2 (second radius) R3 (third radius) R4 (fourth radius) และ R5 (fifth radius) ตามลำดับ
 - 1.4 Media (M) เป็นเส้นที่มีการแตกแขนงสองครั้ง กลายเป็น 4 แขนงย่อยไปจรดที่ปลายปีก เรียกแขนงเหล่านี้จากแขนงบนสุดไปยังแขนงที่อยู่ล่างสุดว่า M1 (first media) M2 (second media) และ M4 (fourth media) ตามลำดับ
 - 1.5 Cubitus (Cu) เป็นเส้นที่มีการแตกแขนงออกในช่วงต้นออกเป็นสองแขนง แขนงบนเรียกว่า Cu1 (first cubitus) ส่วนแขนงล่างเรียกว่า Cu2 (second cubitus) ซึ่งมีการแตกแขนงอีกหนึ่งครั้ง กลายเป็นสองแขนงย่อยไปจรดที่ปลายปีก เรียกแขนงทั้งสองนี้ว่า Cu1a (first a cubitus) และ Cu1b (second b cubitus) ตามลำดับ
 - 1.6 Anal veins (A) มีลักษณะเป็นเส้นเดี่ยวๆ ไม่มีแขนง จำนวนไม่แน่นอน แตกต่างไปตามประเภทของแมลง เส้นแรกเรียกว่า 1A (first anal vein) เส้นต่อไปเรียกว่า 2A (second anal vein) เส้นต่อมาเรียกว่า 3A (third anal vein) เป็นต้น
2. เส้นปีกตามแนวขวาง (cross veins) คือเส้นปีกขวางหรือเส้นปีกที่อยู่ระหว่างเส้นปีกตามแนวนอน 2 เส้น มีทั้งหมด 7 เส้น ดังนี้
 - 2.1 Humeral cross vein (h) เป็นเส้นที่ตั้งอยู่บริเวณ โคนปีกเชื่อมระหว่าง C กับ Sc
 - 2.2 Radial cross vein (r) เป็นเส้นที่เชื่อมระหว่าง R1 กับแขนงของ Rs แขนงบน
 - 2.3 Sectorial cross vein (s) เป็นเส้นที่เชื่อมระหว่าง R3 กับ R4
 - 2.4 Radio-medial cross vein (r-m) เป็นเส้นที่เชื่อมแขนงของ Rs แขนงล่าง กับ M แขนงบน
 - 2.5 Medial cross vein (m) เป็นเส้นที่เชื่อมระหว่าง M2 กับ M3
 - 2.6 Medio-cubital cross vein (m-cu) เป็นเส้นที่เชื่อมระหว่าง M แขนงล่าง กับ Cu1 แขนงบน
 - 2.7 Cubito-anal cross vein (cu-a) เป็นเส้นที่เชื่อมระหว่างแขนงของ Cu2 กับ 1A



ภาพ 13 แสดงลักษณะโครงสร้างของเส้นปีกแมลงระยะตัวเต็มวัย (ศานิต, 2546)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับปุ่มปีกและ imaginal disc อื่นๆ

ในการศึกษาการเจริญของปุ่มปีกนั้น Bownes and Robert (1979) ได้ทำการศึกษาปุ่มปีกของ *D. melanogaster* ในช่วงระยะตัวหนอนอินสตาร์ที่ 1 ถึง 2 เมื่อผ่านกระบวนการ premature metamorphosis พบว่ามีปุ่มปีกบางส่วนที่เปลี่ยนแปลงไปคล้ายกับปีกของระยะตัวเต็มวัย โดยโครงสร้างแรกที่มีการเปลี่ยนแปลงคือส่วนของ wing hinge และ wing blade

Miner *et al.* (2000) ศึกษาการควบคุมการเจริญและการเปลี่ยนแปลงของปุ่มปีก ในระยะตัวหนอนของ buckeye (*Precis coenia*) โดยพบว่าอัตราการเจริญเติบโตของปุ่มปีกสัมพันธ์กับอัตราการเจริญของร่างกาย คือในช่วงระยะตัวหนอนอินสตาร์สุดท้ายปุ่มปีกจะมีการเจริญและการเปลี่ยนแปลงประกอบด้วย การเจริญของ lacuna และท่อลม (tracheation) ซึ่งจะกลายเป็นระบบเส้นปีกสมบูรณ์ในระยะตัวเต็มวัย นอกจากนี้ยังได้ศึกษาผลของฮอร์โมนจูวีไนล์ต่อการเจริญของปุ่มปีกพบว่าฮอร์โมนจูวีไนล์มีผลยับยั้งการเจริญของปุ่มปีก ซึ่งขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของฮอร์โมนที่ใช้ ต่อมา มีการทดลองให้ JHA แก่ระยะตัวหนอนทำให้มีการลอกคราบของระยะตัวหนอนเพิ่มขึ้นที่เรียกว่า supernumerary larval molt ยกเว้นส่วนของ imaginal disks ซึ่งจะมีการสะสมของ pupal cuticle ซึ่งกล่าวได้ว่าการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ JH ที่มีอยู่ในระยะตัวหนอน (endogenous) ไม่ส่งผลต่อการเจริญของ imaginal disks และเมื่อให้ JHA แก่ตัวหนอน (exogenous) พบว่าจะไปยับยั้งทั้ง pupal commitment การเคลื่อนที่ของเซลล์ (cell movement) และการเจริญของ imaginal discs ในช่วงอินสตาร์สุดท้ายของระยะตัวหนอน (Kremen and Nijhout, 1998)

Nijhout and Grunert (2002) ได้พบว่า bombyxin ในหนอนไหม เป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญของปุ่มปีกในระยะตัวหนอนของแมลงอันดับ Lepidoptera โดยศึกษาถึงระดับชีววิทยาโมเลกุลพบว่า bombyxin คือ neurohormone เป็นสารจำพวก insulin-like protein และพบว่า bombyxin กับ 20E มีบทบาทร่วมกันในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ รวมทั้งส่งผลต่อการเจริญเติบโตของปุ่มปีกต่อมา Niitsu (2003) ศึกษาการเจริญของปุ่มปีกระยะการเจริญหลังตัวอ่อนของ bagworm moth (*Eumeta variegata*) พบว่าในช่วง penultimate larval instar (อินสตาร์ที่ 8) มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยาเกิดขึ้นทั้งสองเพศ โดยปุ่มปีกของเพศผู้มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและมีการเพิ่มจำนวนอย่างต่อเนื่อง แต่ hemopoietic organ จะไม่พบที่ระยะนี้ ซึ่งแตกต่างจากเพศเมียโดยสิ้นเชิง

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแมลง (insect tissue culture)

เมื่อกล่าวถึงการทดลองทางด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแมลง ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1915 เป็นต้นมาจะมุ่งเน้นศึกษาเกี่ยวกับบทบาทและหน้าที่ของระบบฮอร์โมนแมลงพร้อมกับศึกษาเนื้อเยื่อหรืออวัยวะต่างๆ ซึ่งเนื้อเยื่อหรืออวัยวะดังกล่าวจะแตกต่างกันไปตามแต่ละชนิด โดยวัตถุประสงค์ของการศึกษาเพื่อให้เกิดความรู้ความเข้าใจในด้านสรีรวิทยา การเจริญและการเปลี่ยนแปลง และ metabolic activity เป็นต้น ซึ่งส่วนใหญ่ฮอร์โมนที่ใช้ศึกษาคือ JH และ ecdysteroid

Agui and Fukaya (1973) ศึกษาผลของฮอร์โมนการลอกคราบและต่อมโปรทอแรคซิค ที่มีอิทธิพลต่อการเจริญและการเปลี่ยนแปลงของปุ่มปีกใน cabbage armyworm (*Mamestra brassicae*) ในสถานะ in vitro พบว่าปุ่มปีกมีการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วเมื่อให้ฮอร์โมนที่มีความเข้มข้นสูงและมีการเปลี่ยนแปลงช้าเมื่อให้ฮอร์โมนที่มีความเข้มข้นต่ำ นอกจากนี้มีการทดสอบกิจกรรมของ molting hormone 5 ชนิด พบว่า ponasterone A, cyasterone และ ecdysterone มีกิจกรรมเท่ากันแต่จะน้อยกว่า ecdysone และ rubrosterone ตามลำดับ ต่อมา Agui (1974) ได้ศึกษาบทบาทของต่อมโปรทอแรคซิค และ oenocytes ต่อปุ่มปีกโดยทำการเพาะเลี้ยงปุ่มปีกของ *M. brassicae* ในสถานะ in vitro พบว่ากลุ่มที่มี oenocytes เพียงอย่างเดียวนั้นจะมีผลต่อการเจริญและการเปลี่ยนแปลงของปุ่มปีกน้อย นอกจากนี้ยังพบว่าการเพาะเลี้ยงปุ่มปีกของ *M. brassicae* ในอาหารเพาะเลี้ยงที่เติม α -ecdysone และมี oenocytes จะมีการเจริญและการเปลี่ยนแปลงของปุ่มปีกมากกว่ากลุ่มที่เติม α -ecdysone เพียงอย่างเดียว ส่วนกลุ่มที่เติม β -ecdysone และมี oenocytes กับกลุ่มที่เติม β -ecdysone เพียงอย่างเดียวผลการทดลองไม่มีความแตกต่างกัน

De Moraes *et al.* (1995) นำต่อมน้ำลาย (salivary gland) ของ caribbean fruit flies (*Anastrepha suspensa*) ไปเพาะเลี้ยงใน Schneider's medium ที่เติม Fetal Bovine Serum (FBS) 10% และ antibiotic ในสภาวะ in vitro พบว่า acid phosphatase activity มีอัตราการเมตาบอลิซึมที่อยู่ในสภาพทำงานได้ดีซึ่งต่อมน้ำลายที่นำไปเพาะเลี้ยงมีกิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับในต่อมน้ำลายสภาวะปกติ

Mukhovatova and Kakpakov (1975) ทำการศึกษาผลของ α และ β -ecdysone ต่อการเจริญและการเปลี่ยนแปลงของ eye และ leg imaginal discs ของ *D. melanogaster* ในสภาวะ in vitro โดยนำ imaginal discs ทั้งสองชนิดในช่วงต้นของระยะอินสตาร์ที่ 3 มาเพาะเลี้ยงร่วมกับ neural ganglia ใน medium C-39 จากการทดลองพบว่ากลุ่มที่ไม่เติมฮอร์โมน eye และ leg imaginal discs จะไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่ถ้าเป็นช่วงปลายของอินสตาร์พบว่า eye imaginal discs เริ่มมีการสร้าง pigment ในสัปดาห์ที่ 5 ส่วน leg imaginal discs จะเริ่มมีปล้องของขาในสัปดาห์ที่ 4 ต่อมาเมื่อนำ leg imaginal discs ในช่วงปลายระยะอินสตาร์ที่ 3 มาเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม β -ecdysone พบว่าสามารถเจริญและการเปลี่ยนแปลงได้ โดยมีการสร้างไคติน และ neuromuscular tissue ส่วน eye imaginal discs พบว่าฮอร์โมน α และ β -ecdysone สามารถชักนำให้เกิดการสะสมของ pigment ได้

ต่อมา Milner and Sang (1977) พบว่า β -ecdysone ส่งผลต่อการเจริญและการเปลี่ยนแปลงของแมลงในช่วงเมตามอร์โฟซิส โดยทำให้ภายในนิวเคลียสมีระดับของโพแทสเซียมเพิ่มขึ้น พร้อมกับการลดลงของระดับโซเดียม ทำการทดสอบได้โดย 2 วิธี ซึ่งการทดลองแรก นำเอา imaginal discs ของ *D. melanogaster* ในช่วงปลายของระยะอินสตาร์ที่ 3 มาเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม β -ecdysone ความเข้มข้น 0.2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ inhibitor ของ active ion transport จากการทดลองพบว่า non-specific inhibitor จะไปยับยั้งกระบวนการในการเจริญและการเปลี่ยนแปลงรวมทั้งการ eversion ของ imaginal discs ซึ่งไปมีผลต่อ sulphydryl groups เช่น iodoacetic acid, N-ethylmaleimide ethacrinic acid และ flurocemide ส่วน Ouabain ซึ่งเป็น specific-inhibitor เพียงชนิดเดียวในกระบวนการ active transport ของ Na^+ และ K^+ จะไม่ส่งผลต่อการเจริญและการเปลี่ยนแปลงของ imaginal discs ต่อมาวิธีที่ 2 ทำการทดลองโดยเพิ่มระดับความเข้มข้นของ K^+ และลดระดับความเข้มข้นของ Na^+ ในอาหารเพาะเลี้ยงที่เติมและไม่เติม β -ecdysone จากผลการทดลองทั้งสองกลุ่มพบว่า imaginal discs ไม่มีการเจริญและการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น ต่อมา Guillermet and Mandaron (1980) ได้นำปูมปีกในช่วงปลายระยะตัวหนอนอินสตาร์ที่ 3 ของ *D. melanogaster* มาใส่ในอาหารเพาะเลี้ยงที่เติม ecdysterone ความเข้มข้นแตกต่างกัน พบว่าอาหารเพาะเลี้ยงที่มีความเข้มข้นของ ecdysterone ต่ำจะทำให้การ evagination ของปูมปีกเกิดขึ้นไม่สมบูรณ์ ส่วนที่ความเข้มข้นสูงจะทำให้ evagination ของปูมปีกเกิดขึ้นได้สมบูรณ์ ส่วนความเข้มข้นที่พอเหมาะนั้นพบได้ว่า

ปุ่มปีกมีการ evagination ปกติ ทำให้โครงสร้างของปุ่มปีกมีการเจริญอีกทั้งสามารถหลัง imaginal cuticle และ pupal cuticle ภายใต้อายุ apolysis ได้

นอกจากนี้ยังพบว่ามีการศึกษาการเจริญของ imaginal discs ใน *D. melanogaster* โดยนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารในสภาพที่เหมาะสม ที่เติมอินซูลินและ JHA จากนั้นทำการปรับสภาพโดยก้อนไขมันพบว่า disks มีการแบ่งตัวของเซลล์และโครงสร้างของคิวดิเคิลมีการเจริญและการเปลี่ยนแปลงปกติ (Davis and Shearn, 1977)

Oberlander (1976) ได้ศึกษาการควบคุมของฮอร์โมนต่อการเจริญและการเปลี่ยนแปลงของ imaginal discs ในสภาวะ in vitro พบว่า β -ecdysone จำเป็นต่อกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนและ RNA ที่ส่งผลต่อการ evagination และการสร้างคิวดิเคิล ของ imaginal discs จากสมมติฐานที่ว่าฮอร์โมนเอกไดโซนมีบทบาทต่อการกระตุ้นการสังเคราะห์โมเลกุลขนาดใหญ่ (macromolecular synthesis) ใน imaginal disc โดยมีการศึกษาเกี่ยวกับ actinomycin D และ cycloheximide แสดงให้เห็นว่าการสังเคราะห์โปรตีนและ RNA ที่เกิดขึ้นในช่วง ecdysone-dependent period มีความจำเป็นต่อการพัฒนาการของ discs ในขั้นต่อไป และจากการทดสอบบทบาทของ β -ecdysone ต่อการชักนำการสังเคราะห์ไคติน โดยทำการเพาะเลี้ยงปุ่มปีกของ *P. interpunctella* (Hubner) พบว่า β -ecdysone สามารถกระตุ้นการดูดซึมและการรวมกันของ tritiated-glucosamine แต่เมื่อเติม hexosamines ลงในอาหารเพาะเลี้ยงพบว่าไม่มีผลต่อการสะสมของคิวดิเคิล ซึ่งกล่าวได้ว่าฮอร์โมนเอกไดโซนมีบทบาทต่อเอนไซม์ในกระบวนการของไคติน (chitin pathway) ซึ่งจะกระตุ้นทั้งการ evaginate และการสะสมของคิวดิเคิลในปุ่มปีก ของ *P. interpunctella* ต่อมา Oberlander and Leach (1978) ทำการศึกษาการสังเคราะห์โปรตีนในปุ่มปีกของ *P. interpunctella* (Hubner) ที่ช่วงการเจริญของระยะตัวหนอน โดยนำปุ่มปีกมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม β -ecdysone ในสภาวะ in vitro หลังจากก็นำไป incubate เป็นเวลา 2 ชั่วโมงพบว่าปุ่มปีกมีการสังเคราะห์โปรตีน โดยสังเคราะห์สูงสุดที่เวลา 16 ชั่วโมง จากการวิเคราะห์รูปแบบของโปรตีนโดยวิธีอิเล็กโตรโฟเรซิสพบว่าลักษณะการสังเคราะห์โปรตีนของปุ่มปีก ในสภาวะ in vitro คล้ายคลึงกับช่วงการเจริญของปุ่มปีก ในสภาวะ in vivo

Kawasaki (1995) ได้ศึกษาความเข้มข้นของ ecdysteroid ที่สามารถชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนเซลล์ (cell proliferation) ในปุ่มปีก ของ *B. mori* โดยนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม 20E ความเข้มข้นต่างกันหลายระดับ พบว่าอาหารเพาะเลี้ยงที่เติม 20E ความเข้มข้นระหว่าง 0.02 ถึง 0.2 ไมโครกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร สามารถชักนำให้ปุ่มปีกมีการเจริญคล้ายลักษณะปีกของตัวเต็มวัย คือมีการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสการเพิ่มจำนวนเซลล์ การสะสมของคิวดิเคิล และการยึดตัวของเนื้อเยื่อคล้ายกับในสภาวะธรรมชาติ

Izzetoglu and Karacali (2003) ทำการทดลองใน hemocyte ของ *Calleria mellonella* ที่ระยะตัวหนอนอินสตาร์สุดท้าย โดยแบ่งเป็น 3 กลุ่มการทดลอง คือ กลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ให้ฮอร์โมน 20E ความเข้มข้น 10 และ 30 ไมโครลิตร โดยทำการนับจำนวนของ plasmatocyte, granulocyte และจำนวนของเซลล์ทั้งหมด จากการทดลองพบว่ากลุ่มที่ให้ฮอร์โมนทั้ง 2 กลุ่ม มีจำนวนของ granulocyte และเซลล์ทั้งหมดลดลง ส่วน plasmatocyte จะเพิ่มสูงขึ้น

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการแสดงของยีนและการเจริญของปมปีก

กระบวนการเมตามอร์โฟซิสและการลอกคราบของแมลง ถูกควบคุมโดยฮอร์โมน 2 กลุ่มคือ ฮอร์โมนจูวีไนล์และฮอร์โมนเอกไดโซน (Hiruma *et al.*, 1999; Browder *et al.*, 2001; Gu and Chow, 2003) ซึ่งทำให้เกิดการเพิ่มจำนวน (cell proliferation), การเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (cell differentiation) และการตาย (programmed cell death) ของเซลล์ โดย ecdysteroid ทำให้เกิดการลอกคราบและสามารถตอบสนองต่อการเริ่มเกิดโปรแกรมทางพันธุกรรม (genetic program) ที่มีความจำเป็นต่อกระบวนการเมตามอร์โฟซิส ส่วน JH ที่พบในระยะตัวหนอนนั้นจะป้องกันการเกิดโปรแกรมทางพันธุกรรมนี้ ดังนั้นกระบวนการเมตามอร์โฟซิสจะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อ ecdysteroids เพิ่มขึ้น ส่วน JH ขาดหายไปในช่วงระยะตัวหนอนอินสตาร์สุดท้าย (Milan *et al.*, 1997; Zhou *et al.*, 1998; D'Avino and Thummei, 2000)

Matsuoka and Fujiwara (2000) ได้ศึกษาการแสดงออกของ ecdysteroid-regulated genes ในปมปีกของหนอนไหม ซึ่งพบว่าการแสดงออกของ gene ดังกล่าวลดลงในกลุ่มของ wing-deficient mutant (*fl*) โดยจากการเพาะเลี้ยงปมปีกของกลุ่ม wild-type และกลุ่ม *fl* wing discs ที่เติม 20E และไม่เติม 20E พบว่าในช่วงระหว่างเมตามอร์โฟซิส mRNAs ของ BHR3 และ Urbain (ecdysteroid-inducible genes) ของกลุ่ม *fl* wing discs ที่เติม 20E จะลดลงประมาณ 50% และกลุ่ม wild-type ลดลง 20% ซึ่งแสดงให้เห็นว่า *fl* genes มีผลต่อ ecdysteroid signaling ของปมปีก และทำให้เกิดความบกพร่องในการสร้างปีก

Hiruma and Riddiford (2001) พบว่าการแสดงออกของ E75A และ MHR3 mRNAs ใน *M. sexta* ถูกชักนำโดยการเพิ่มขึ้นของระดับ ecdysteroid แต่พบว่า MHR4 mRNA จะแสดงออกเมื่อระดับ ecdysteroid เริ่มลดลงและถ้าระดับลดต่ำลงจะมีการแสดงออกของ betaFTZ-F1 mRNA ตามมาเมื่อนำอิมิตอร์มิสของ *M. sexta* มาเพาะเลี้ยงในสภาวะ in vitro ที่เติม 20E จะพบการแสดงออกของ MHR4 mRNA ที่ 12 และ 21 ชั่วโมง โดยจะมีค่าสูงที่สุดช่วง 24 ชั่วโมง ต่อมาทดลองให้ cycloheximide และ anisomycin (protein synthesis inhibitor) ทั้งในสภาวะ in vivo และ in vitro พบว่า MHR4 เกิดการ transcription ได้โดยการชักนำของ 20E และในการแสดงออกของ MHR4 mRNA

นั้นต้องการฮอร์โมน 20E โดยจะไม่มีผลกระทบของ MHR4 mRNA เกิดขึ้นจนกว่า 20E-induced inhibitory protein จะหายไป

Josephraj Kumar and Subrahmanyam (2002) ทำการศึกษากระบวนการสังเคราะห์ DNA ในปุ่มปีกของ american bollworm (*Helicoverpa armigera* (Hubner)) โดยการนำเอาปุ่มปีกมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติมฮอร์โมน สภาวะ in vitro จากการทดลองพบว่าการสังเคราะห์ DNA เพิ่มขึ้นหลังจากที่เริ่มนำไป incubate จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 8 และจากนั้นจะเริ่มลดลง ในทำนองเดียวกันพบว่า การเติม 20E จะช่วยเสริมให้มีการสังเคราะห์ DNA ในปุ่มปีก ต่อมาได้ทดลองให้ plumbagin และ azadiractin แก่ระยะตัวหนอนอินสตาร์สุดท้าย หลังจากนั้นในวันที่ 4 ทำการผ่าตัดเอาปุ่มปีกมาเพาะเลี้ยงในสภาวะ in vitro พบว่าอัตราการสังเคราะห์ DNA และปริมาณโปรตีนของปุ่มปีกจะลดลงอย่างรวดเร็ว โดยกลุ่มที่ได้รับ plumbagin ส่งผลยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนมากกว่ากลุ่มที่ได้รับ azadiractin

เอกไดโซนรีเซปเตอร์ (Ecdysone receptor) ในแมลง

ในปัจจุบันมีการศึกษาเกี่ยวกับ Ecdysone receptor (EcR) ของแมลง โดยพบว่า Ecdysone receptor complex เกิดจากการจับกันของฮอร์โมนเอกไดโซนกับ EcR และ Ultraspiracle (USP) เกิดการกระตุ้นการทำงานของ regulatory gene ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระยะต่อไป ซึ่ง EcR เป็นรีเซปเตอร์ที่อยู่ในกลุ่ม nuclear hormone receptor superfamily (Henrich and Brown, 1995) ประกอบด้วยส่วนต่างๆ 5 ส่วน คือ N-terminal A/B, C (DNA binding domain; DBD), D, E (ligand binding domain; LBD) และ F (Hu *et al.*, 2003) ใน *D. melanogaster* มี 3 isoforms ประกอบด้วย EcR-A, EcR-B1 และ EcR-B2 โดย Schubiger *et al.* (2003) รายงานว่า EcR ทั้ง 3 isoforms จะแตกต่างกันที่ส่วน N-terminal A/B แต่ที่ส่วนของ C และ E จะไม่ต่างกัน แต่ในแมลงส่วนใหญ่จะมี 2 isoforms คือ EcR-A และ EcR-B1 เช่นใน *M. sexta* (Fujiwara *et al.*, 1995; Jindra *et al.*, 1996) และ *B. mori* (Kamimura *et al.*, 1996: 1997)

Fujiwara *et al.* (1995) ได้ศึกษา *Manduca sexta* ecdysone receptor (MsEcR) B1 ที่มีกรดอะมิโน คล้ายคลึงกับ *Drosophila melanogaster* ecdysone receptor (DmEcR) ในส่วน N-terminal A/B, C และ E ที่ 50, 95 และ 70% ตามลำดับ โดยพบ mRNA encoding MsEcR ได้ทั้งในปุ่มปีกและต่อมโปรทอแรกซิกของระยะตัวหนอน และที่ปีกของระยะดักแด้ ที่ระยะตัวหนอนอินสตาร์สุดท้าย หลังจากเข้าสู่ระยะ wandering (W1) 1 วัน พบ mRNA ได้มากในปุ่มปีก ส่วนต่อมโปรทอแรกซิกพบว่า EcR mRNA มีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและอยู่ในระดับสูงในวันที่ 2 และอยู่ในระดับสูงเช่นเดิมในเวลาต่อมา เมื่อเริ่มเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยหลังจาก pupal ecdysis จะพบปริมาณ EcR mRNA ที่มีค่าสูงที่

สุดครั้งแรกในวันที่ 3-5 และวันที่ 8 ทั้งสองช่วงนี้สัมพันธ์กับช่วงเวลาการเพิ่มขึ้นของระดับ ecdysone และ 20E ตามลำดับ ต่อมา Jindra *et al.* (1996) ได้ศึกษารูปแบบการเจริญของ EcR-A และ EcR-B1 ของ *M. sexta* โดยบริเวณอพิเตอร์มิสของ *M. sexta* ในระยะตัวหนอน ระยะดักแด้ และตัวเต็มวัย จะมีการสร้างคิวติเคิลซึ่งพบ EcR-B1 ได้มากตลอดระยะตัวหนอน ดักแด้ และช่วงต้นของการพัฒนาเป็นตัวเต็มวัย ในทางตรงกันข้าม EcR-A จะพบได้จากการสังเคราะห์คิวติเคิลใหม่ ช่วงลอกคราบของระยะตัวหนอน และจะพบทั้ง 2 isoforms ได้ที่บริเวณ larval wing discs หลังจากเกิด pupal commitment และยังคงอยู่ตลอดในช่วงการเจริญและการเปลี่ยนแปลงของระยะดักแด้ ต่อมา มีการทดลองนำ dorsal abdominal epidermis ของระยะตัวหนอนอินสตาร์สุดท้าย มาเพาะเลี้ยงใน Grace's medium ในกลุ่มที่เติมฮอร์โมน 20E พบว่า ฮอร์โมน 20E สามารถชักนำให้เกิด MsEcR-A และ MsEcR-B1 mRNAs ได้โดยตรง แต่ mRNA ของ EcR-B1 จะสะสมได้เร็วกว่าและจะมีค่าสูงที่สุดในช่วง 3 ชั่วโมง และพบว่าการเกิดของ protein synthesis inhibitor ส่งผลต่อ EcR-B1 ทำให้มีการสะสมของ mRNA ช้าลง ส่วน EcR-A พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของ mRNA

Hiruma *et al.* (1999) กล่าวว่ากระบวนการลอกคราบและเมตามอร์โฟซิสของแมลงนั้นเป็นผลมาจากการแสดงออกของฮอร์โมน ecdysteroid และ JH พบว่าที่บริเวณอพิเตอร์มิสของ dorsal abdominal segment ของ *M. sexta* ในช่วงของการลอกคราบและเมตามอร์โฟซิสนั้นเกี่ยวข้องกับ ecdysone receptor complex โดยเมื่อมีการลอกคราบของระยะตัวหนอนเพื่อเข้าสู่ระยะดักแด้การเกิดโปรแกรมทางพันธุกรรมส่งผลทำให้มีการสูญเสีย USP-1 แต่จะมี USP-2 ขึ้นมาแทน ซึ่งเป็นผลมาจากการเพิ่มขึ้นของ 20E นอกจากนี้ยังพบว่า JH นั้นจำเป็นต่อการปรับระดับของ USP-1 mRNA โดยทดลองนำอพิเตอร์มิสของระยะตัวหนอนมาเพาะเลี้ยงในสภาวะ in vitro พบว่า 20E ที่ความเข้มข้นสูงมีผลทำให้ mRNA ของ USP-1 ลดลง และเมื่อทำการตัดต่อคอร์พัส อัลเลตัม ของหนอนจะทำให้ไม่มี JH เกิดขึ้น ซึ่งในช่วงการลอกคราบเข้าสู่ระยะดักแด้ พบว่า USP-2 mRNA จะเพิ่มปกติ แต่ USP-1 ยังคงมีระดับของ mRNA สูงจนกว่าจะเข้าสู่ระยะดักแด้ กล่าวได้ว่า USP RNAs จะถูกควบคุมหรือถูกกำหนดโดย ecdysteroid และ JH นั้นจะส่งผลต่อการปรับระดับ USP RNAs ด้วยเช่นกัน

Kamimura *et al.* (1996) ได้ทำการแยก *Bombyx mori* ecdysone receptor (BmEcR) B1 ที่มีกรดอะมิโน คล้ายคลึงกับ DmEcR-B1 ในส่วน N-terminal A/B, C และ E ที่ 51, 95 และ 71% ตามลำดับ โดยพบ EcR gene ได้มากทั้งในปมปีกและก้อนไขมันในระยะเริ่มต้นของกระบวนการเมตามอร์โฟซิส ในขณะที่ส่วนปลาย (posterior) และส่วนกลาง (middle) ของต่อมไหม (silk gland) พบ mRNA มีปริมาณน้อยมากหรือแทบจะไม่มีเลย โดยระยะตัวหนอนอินสตาร์สุดท้ายพบว่า ปมปีกมีการแสดงออกของ mRNA สูงสุดในช่วง wandering

ต่อมาในปี ค.ศ. 1997 Kamimura *et al.* ได้ทำการแยก *Bombyx mori* ecdysone receptor (BmEcR) A และศึกษาการแสดงออกของ EcR mRNA ทั้ง 2 isoforms ในช่วงการลอกคราบและกระบวนการเมตาโมอร์โฟซิส จากการทดลองในช่วงการเปลี่ยนแปลงของระยะตัวหนอนเข้าสู่ระยะดักแด้ พบว่า BmEcR-B1 จะมีการแสดงออกของ mRNA อย่างเด่นชัดที่บริเวณกระเพาะอาหารส่วนกลาง, อีพิเดอร์มิส, ก้อนไขมัน และปมปีก ส่วนการแสดงออกของ mRNA ของ BmEcR-A จะพบที่ต่อมไหมส่วนต้น (anterior)

Perera *et al.* (1999) ได้ศึกษา EcR 2 isoforms ของ spruce budworm (*Choristoneura fumiferana*) โดยทำการแยก *Choristoneura fumiferana* ecdysone receptor (CfEcR) A ซึ่งพบว่าแตกต่างจาก *Choristoneura fumiferana* ecdysone receptor (CfEcR) B ที่ส่วน N-terminal A/B region โดย CfEcR-A specific region มีกรดอะมิโน คล้ายคลึงกับ EcR-A ของ *M. sexta*, *B. mori*, *D. melanogaster* และ *Tenebrio molitor* เมื่อศึกษาถึงการแสดงออกของ EcR-A และ EcR-B mRNAs พบว่าระดับของ mRNA ของทั้ง 2 isoforms จะเพิ่มขึ้นในระหว่างการลอกคราบ โดยในระยะตัวหนอนอินสตาร์ที่ 6 พบระดับของ EcR-A และ EcR-B mRNA เพิ่มขึ้นชัดเจนที่บริเวณกระเพาะอาหารส่วนกลางเมื่อเปรียบเทียบกับบริเวณอีพิเดอร์มิสและก้อนไขมัน

Koch *et al.* (2003) รายงานว่ารูปแบบการเจริญของสปีกในกลุ่มผีเสื้อกลางวันจะถูกกำหนดโดยการเจริญในช่วงท้ายของระยะตัวหนอนอินสตาร์สุดท้ายและช่วงแรกของการเข้าดักแด้ ซึ่งในกระบวนการเมตาโมอร์โฟซิสจะถูกควบคุมโดย ecdysteroid และเกี่ยวข้องกับ nuclear hormone receptor ต่อมาทำการทดลองโดยหาลำดับเบส (sequence) ที่ส่วน common region ของ EcR ใน *P. coenia* พบว่ามีความคล้ายคลึงกับ EcR ของ *M. sexta* โดย PcEcR-B1 มีกรดอะมิโนคล้ายคลึงกับ MsEcR-B1 ส่วน A/B region 80.4% เมื่อใช้ antibody ที่ติดอยู่กับส่วนของ MsEcR-B1 ในการหาตำแหน่งของ EcR protein ในช่วงการเจริญและการเปลี่ยนแปลงของปีกใน *P. coenia* พบ EcR ได้จากนิวเคลียสที่ย้อมติดสี ในเซลล์ที่แตกต่างกัน ส่วนใหญ่จะพบการเกิดรูปแบบของสปีก โดย EcR ที่พบในนิวเคลียสของเซลล์อยู่ในตำแหน่ง wing lacuna และบริเวณที่คาดว่าจะเป็เส้นปีก ซึ่งกล่าวได้ว่าตำแหน่งที่ EcR มีการแสดงออกนั้นสัมพันธ์กับช่วงการเจริญและการเปลี่ยนแปลงของปีก อีกทั้งยังสัมพันธ์กับการสร้างรูปแบบของสปีก

Siaussat *et al.* (2004) ได้ทำการแยก *Plodia interpunctella* lepidopteran (IAL-PID2) cell line มาจากปมปีกของ *P. interpunctella* ระยะตัวหนอนอินสตาร์สุดท้าย พบว่า IAL-PID2 cell นี้จะตอบสนองต่อ 20E โดยหยุดการเพิ่มจำนวนของเซลล์และเกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาตามมา ต่อมาการชักนำของ 20E นี้จะถูกยับยั้งโดย JH-II จากนั้นได้ทำการ clone cDNA sequence encoding *Plodia interpunctella* ecdysone receptor (PiEcR) B1 พบว่ากรดอะมิโนมีความ

คล้ายคลึงกับ BmEcR-B1, MsEcR-B1 และ CfEcR-B1 ซึ่งการชักนำของ 20E ส่งผลต่อ PiEcR-B1 mRNA มีลักษณะการตอบสนอง 2 ชั้น โดยจะมีค่าสูงที่สุดในช่วง 2 และ 18 ชั่วโมง นอกจากนี้พบว่า การเกิดของ anisomycin (protein synthesis inhibitor) สามารถชักนำให้ระดับของ PiEcR-B1 mRNA ลดลงได้ จึงกล่าวได้ว่า 20E สามารถชักนำ PiEcR-B1 mRNA ได้โดยตรง และระดับของ mRNA ขึ้นอยู่กับกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน

The seal of Chiang Mai University is a circular emblem. In the center is a stylized elephant facing left, with a flame-like sunburst above its head. The elephant is surrounded by a circular border containing the text "CHANG MAI UNIVERSITY 1964". Above the elephant, the Thai text "มหาวิทยาลัยเชียงใหม่" is written in a circular path.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved