

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: RSA 5980011

ชื่อโครงการ: การวิเคราะห์หน้าที่ของยีนที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตในมอดแบ่ง
โดยวิธี RNA interference

ชื่อนักวิจัย และสถาบัน ผศ.ดร.นุจิรา ทาตัน มหาวิทยาลัยพะเยา

อีเมล: nujira_t@hotmail.com

ระยะเวลาโครงการ: 3 ปี

บทคัดย่อ:

แมลงที่อาศัยอยู่ในเมล็ดพืชโดยการกินอาหารประเภทแป้งเป็นหลัก (*Tribolium castaneum*) นั้นจะใช้เอนไซม์ α -amylase ในการย่อยแป้งให้เป็น glucose จากนั้นเปลี่ยนเป็น trehalose ซึ่งสังเคราะห์โดยเอนไซม์ trehalose 6-phosphate synthase การย่อยน้ำตาล trehalose โดยเอนไซม์ trehalase จะเกิดขึ้นเมื่อร่างกายต้องการพลังงาน การแสดงออกของยีน *trehalase (Tre-1 and Tre-2)*, *trehalose-6-phosphate synthase (TPS)* และ α -amylase (*Amy*) มีความเกี่ยวข้องกับการเจริญและพัฒนาในมอดแบ่ง แต่ข้อมูลที่แสดงถึงบทบาททางสรีรวิทยาของเอนไซม์ทั้ง 4 ยังไม่มีการรายงาน เทคนิค RNA interference จะถูกนำมาใช้เพื่อการศึกษาหน้าที่ของยีนเหล่านี้ โดยการสังเคราะห์ double stranded RNA (dsRNA) และนำเข้าสู่ร่างกายของมอดแบ่ง จากนั้นบันทึกการเปลี่ยนแปลงที่ระดับยีนการทำงานของเอนไซม์ สัตว์ฐาน และชีววิทยา ในขั้นต้นผลของ dsRNA ต่อตัวหนอนนก (*Tenebrio molitor*) จะถูกทดสอบเพื่อยืนยันว่ามีความจำเพาะต่อมอดแบ่งเท่านั้น การทดลองพบว่าการแสดงออกของยีน *TcTre-1 and Tcre-2 TcAmy* และ *TcTPS* ลดลงตามความเข้มข้นของ dsRNA ที่ได้รับอย่างมีนัยสำคัญ การทำงานของเอนไซม์ trehalase, TPS และ α -amylase ลดลงเนื่องจากยีนถูกยับยั้ง และการเปลี่ยนแปลงนี้ส่งผลให้ระดับน้ำตาล trehalose และ glucose เปลี่ยนแปลงไป ความผิดปกติทางสรีรวิทยาสังเกตได้ชัดใน ปีก สีของชั้นคิวติเคิล และความผิดปกติของอวัยวะสืบพันธุ์ทั้งในเพศผู้และเมีย นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำหนักของมอดแบ่งลดลง และเกิดการตายประมาณ 50% เมื่อแมลงได้รับ dsRNA อัตราการวางไข่ลดลงประมาณ 50% เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม จากผลการวิจัยครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าเทคนิค RNAi เพื่อรบกวนการทำงานของทั้ง 4 ยีนซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตในมอดแบ่งทำให้เกิดความผิดปกติขึ้นหลายระดับ ดังนั้นจึงถือเป็นวิธีการและข้อมูลที่เป็นประโยชน์เพื่อการสร้างวิธีการใหม่ในการควบคุมแมลงศัตรูในโรงเก็บโดยไม่ส่งผลข้างเคียงต่อแมลงที่มีประโยชน์อื่น ๆ

คำหลัก : มอดแบ่ง แอลฟาอะไมเลส ทรีฮาเลส ทรีฮาโลส ยีนน็อคดาวน์

Abstract

Project Code: RSA 5980011

Project Title: Functional analysis of carbohydrate metabolizing genes in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*, using RNA interference

Investigator: Assist. Prof. Dr.Nujira Tatun, University of Phayao

E-mail Address: nujira_t@hotmail.com

Project Period: 3 years

Abstract:

In the stored grain insects (red flour beetle, *Tribolium castaneum*) living on a starch-rich diet, starch may be digested in the digestive tract into glucose by α -amylase and converted to trehalose whose biosynthesis is mediated by trehalose 6-phosphate synthase. Hydrolysis of stored trehalose to glucose by trehalase on the energy demands. Developmental stage-specific expression of the *trehalase* (*Tre-1* and *Tre-2*), *trehalose-6-phosphate synthase* (*TPS*) and α -*amylase* (*Amy*) genes involved in insect growth and development, but we have very little information on the physiological of those enzymes. RNA interference technique was used to examine function of those genes in *T. castaneum* by application dsRNA into insect's body and the changes at gene expression, enzymatic activity, morphology and biology level was observed. First synthesized dsRNA is specific to *T. castaneum* because there was no effect on *Tenebrio molitor* at all level examined. Knock-down levels of *TcTre-1* and *Tcre-2* *TcAmy* and *TcTPS* was recorded in a dose dependent manner. Enzymatic activity of trehalases, α -amylase and trehalose 6-phosphate synthase were suppressed consequently due to the down regulation of its genes. Accordingly, concentrations of trehalose and glucose altered by the reduction of gene and enzyme expression. Morphological abnormalities were recorded obviously in elytra, cuticle color and reproductive organs in both male and female beetles. Insect's body mass decreased significantly, and mortality rate reached about 50% when insects were treated with dsRNA. Egg laying rate of dsRNA treated insects decreased about 50% compared to that of control. Taken together RNAi of those 4 genes which involved in carbohydrate metabolism in *T. castaneum* bring about the abnormalities at various levels, hence the present results are a useful information to create new strategies to control stored product insects without any side effects to other beneficial insects.

Keywords: *Tribolium castaneum*, α -amylase, trehalase, TPS, RNAi, dsRNA