

การศึกษาไอโซโทปของเอนไซม์เอสเทอร์ส และแอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส
ในระหว่างการเจริญของหนอนไหม *Bombyx mori* L.

ปริญดาพนธ์

ของ

วาสนา สิงห์ดวง

10 ก.ย. 2536

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเคมีชีวภาพ

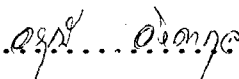
มีนาคม 2536

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

185715

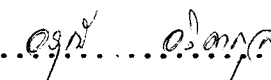
คณะกรรมการควบคุม และคณะกรรมการสอบได้พิจารณาปริญญานิพนธ์ฉบับนี้แล้ว
เห็นสมควรได้รับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเคมีชีวภาพ
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒได้

คณะกรรมการควบคุม

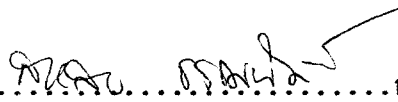
..........ประธาน
(ดร.อรุณี อิงคากุล)

..........กรรมการ
(ดร.ยุวดี นาคะผดุงรัตน์)

คณะกรรมการสอบ

..........ประธาน
(ดร.อรุณี อิงคากุล)

..........กรรมการ
(ดร.ยุวดี นาคะผดุงรัตน์)

..........กรรมการที่แต่งตั้งเพิ่มเติม
(ดร.สายสนม ธรรมพิทักษ์)

บัณฑิตวิทยาลัยอนุมัติให้รับปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเคมีชีวภาพ ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

..........คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศ.ดร.สมพร บัวทอง)

วันที่... ๕ ...เดือน... สิงหาคม ...พ.ศ. ๒๕๓๖

ประกาศคุณประการ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จได้ด้วยความสะดวกจากอาจารย์หลาย ๆ ท่าน ข้าพเจ้า ขอกราบขอบพระคุณ ดร.อรุณี อิงคากุล ประธานกรรมการควบคุมปริญญานิพนธ์ที่กรุณาเสียสละเวลา ให้คำแนะนำปรึกษาและคอยเป็นห่วงอย่างสม่ำเสมอด้วยความเมตตากรุณา และที่สำคัญ ข้าพเจ้าจะไม่มีวันลืมถึงพระคุณของอาจารย์ ที่ทำให้ข้าพเจ้ามีโอกาสเข้ามาเป็นนักวิจัยโครงการปรับปรุงพันธุ์ใหม่ซึ่งจากประสบการณ์การทำงานที่ข้าพเจ้าได้รับครั้งนี้ เป็นสิ่งที่มีคุณค่ายิ่ง

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.ยุวดี นาคะผดุงรัตน์ ที่เป็นกรรมการที่ปรึกษาร่วม จึงทำให้ข้าพเจ้าได้มีโอกาสทำปริญญานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จ ข้าพเจ้ารู้สึกขอบพระคุณอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.สายสนม ธรรมพิทักษ์ ที่ร่วมเป็นกรรมการสอบในครั้งนี้และกรุณาเสียสละเวลา พร้อมทั้งให้คำปรึกษาที่เป็นประโยชน์

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.พรรณภา คักดีสูง โครงการปรับปรุงพันธุ์ใหม่ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์พันธุ์ใหม่เพื่อใช้ในการทดลอง และได้ให้ความช่วยเหลือในด้านของเอกสารต่าง ๆ ประกอบการวิจัย และที่สำคัญได้ให้ข้าพเจ้าใช้อุปกรณ์ และเครื่องมือชนิดต่าง ๆ ของโครงการปรับปรุงพันธุ์ใหม่ มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ บางเขน

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.สุเมธทา พรหมบุญ ที่ได้ให้กำลังใจแก่ข้าพเจ้าเสมอมาและคอยพยายามติดต่อให้ความช่วยเหลือทุกอย่างไม่ว่าจะยากลำบากเพียงใดก็ตาม จึงทำให้ข้าพเจ้าได้มีโอกาสต่อสู้กับอุปสรรคและความยากลำบากถึงแม้ในบางครั้งจะเกิดความรู้สึกท้อถอย แต่กำลังใจจากอาจารย์จึงทำให้ข้าพเจ้าเกิดความมานะเพื่อที่ได้รับสิ่งที่ดีที่สุดในชีวิต

ข้าพเจ้ายังระลึกถึงเพื่อนเอกเคมีชีวภาพทุกคน ที่คอยให้กำลังใจเสมอมา และคอยพยายามติดต่อให้ความช่วยเหลือต่อข้าพเจ้าทุกอย่างเท่าที่จะทำได้

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่าน ในภาควิชาเคมี และ ชีววิทยา มหาวิทยาลัย ศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร และมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน ที่ได้ให้ความรู้ ความช่วยเหลือ และรวมทั้งให้คำแนะนำในการศึกษา และการทำปริญญานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณผู้อำนวยการ ไพจิตร วัฒนากุล คณะครู-อาจารย์และนักเรียน โรงเรียนเนินมะปรางศึกษาวิทยา ที่ได้ให้กำลังใจและคอยถามถึงการทำปริญญานิพนธ์ด้วยความห่วงใยเสมอมา

ขอกราบขอบพระคุณ พี่บุญซ้อ เพิ่มผล และพี่ไรวี แก่นทอง ที่เป็นกำลังใจ และเป็นเสมือนพี่สาวที่ดีที่สุดต่อข้าพเจ้า ให้ความช่วยเหลือด้วยความจริงใจในตอนที่ข้าพเจ้า

ปฏิบัติการทดลองอยู่ที่มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน

ท้ายสุดนี้ ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่ได้สละร่างกายและแรงใจ เพื่อสนับสนุนการศึกษา และเป็นกำลังใจอันสำคัญยิ่งต่อข้าพเจ้า ทำให้สามารถฟันฝ่าอุปสรรคต่าง ๆ มาได้ และขอบคุณน้อง ๆ ทุกคนที่เป็นแรงใจที่สำคัญมาโดยตลอด

วาสนา สิงห์ดวง

มีนาคม 2536

สารบัญ

บทที่

หน้า

1	บทนำ	1
	ความมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า	15
	ความสำคัญของการศึกษาค้นคว้า	15
	ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า	16
	ประโยชน์ของการศึกษาค้นคว้า	16
2	วิธีการวิจัย	17
	วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	17
	วิธีดำเนินการทดลอง	18
3	ผลการวิจัย	22
4	อภิปรายและสรุปผลการทดลอง	80
	ข้อเสนอแนะ	85
	บรรณานุกรม	87
	ภาคผนวก	91
	ภาคผนวก ก	91
	ภาคผนวก ข	94
	ประวัติของผู้วิจัย	97

บัญชีตาราง

ตาราง

หน้า

1	แสดงชนิดของพืชที่ไหม้กินเป็นอาหาร ชนิดของไหม และชนิดของเส้นไหม	4
2	แสดงการเคลื่อนที่ของแถบไอโซไซม์ของเอนไซม์เอสเทอร์สในหนอนไหม สายพันธุ์ AC ₃ และ TH ₂ ที่เจริญในระยะวัย 1 ถึง วัย 4	76
3	แสดงการเคลื่อนที่ของแถบไอโซไซม์ของเอนไซม์เอสเทอร์สที่จากแยกจาก อีโมลิฟในหนอนไหมสายพันธุ์ไทยและพันธุ์ต่างประเทศ	77
4	แสดงการเคลื่อนที่ของแถบไอโซไซม์ของเอนไซม์เอสเทอร์สที่จากแยกจาก ทางเดินอาหารของหนอนไหมสายพันธุ์ไทยและพันธุ์ต่างประเทศ	78
5	แสดงการเคลื่อนที่ของแถบไอโซไซม์ของเอนไซม์แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทสใน หนอนไหมสายพันธุ์ไทยและพันธุ์ต่างประเทศ	79

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ

หน้า

1	แสดงวงจรชีวิตของไหม	3
2	(ก) แสดงเอสเทอร์สไอโซไซม์จากหนอนไหมสายพันธุ์ AC ₃ และ TH ₂ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 1 ถึง วัย 4	25
2	(ข) แสดงรูปแบบเอสเทอร์สไอโซไซม์จากหนอนไหมสายพันธุ์ AC ₃ และ TH ₂ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 1 ถึง วัย 4	26
3	(ก), (ข), (ค), (ง), (จ), (ฉ), (ช), (ช) แสดงเอสเทอร์สไอโซไซม์จาก อีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ TH ₂ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 1-8	27
4	(ก) แสดงเอสเทอร์สไอโซไซม์จากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ AC ₃ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5	31
4	(ข) แสดงรูปแบบของเอสเทอร์สไอโซไซม์จากอีโมลิฟของหนอนไหม สายพันธุ์ AC ₃ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5	32
5	(ก) แสดงเอสเทอร์สไอโซไซม์จากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ TH ₂ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5	33
5	(ข) แสดงรูปแบบของเอสเทอร์สไอโซไซม์จากอีโมลิฟของหนอนไหม สายพันธุ์ TH ₂ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5	34
6	(ก) แสดงเอสเทอร์สไอโซไซม์จากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ นางลาย ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5	35
6	(ข) แสดงรูปแบบของเอสเทอร์สไอโซไซม์จากอีโมลิฟของหนอนไหม สายพันธุ์นางลาย ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5	36
7	(ก) แสดงเอสเทอร์สไอโซไซม์จากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ BB ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5	37
7	(ข) แสดงรูปแบบของเอสเทอร์สไอโซไซม์จากอีโมลิฟของหนอนไหมสาย พันธุ์ BB ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5	38
8	(ก) แสดงเอสเทอร์สไอโซไซม์จากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ C ₁ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5	39
8	(ข) แสดงรูปแบบของเอสเทอร์สไอโซไซม์จากอีโมลิฟของหนอนไหม สายพันธุ์ C ₁ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5	40

[illegible]

16	(ข) แสดงรูปแบบของเอสเทอร์ไฮโดรไลซ์จากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ นางลาย TH ₂ AC ₃ C ₁ C ₃ และ BB ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5	56
17	(ก) แสดงเอสเทอร์ไฮโดรไลซ์จากทางเดินอาหารของหนอนไหมสายพันธุ์ นางลาย TH ₂ AC ₃ C ₁ C ₃ และ BB ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5	57
17	(ข) แสดงรูปแบบของเอสเทอร์ไฮโดรไลซ์จากทางเดินอาหารของหนอนไหม สายพันธุ์ นางลาย TH ₂ AC ₃ C ₁ C ₃ และ BB ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5	58
18	(ก) แอลคาไลน์ฟอสฟาเทสไฮโดรไลซ์ จากส่วนที่เป็นของเหลวทั้งตัวของหนอนไหม สายพันธุ์ AC ₃ และ TH ₂ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 1 ถึง วัย 4	59
18	(ข) แสดงรูปแบบของแอลคาไลน์ฟอสฟาเทสไฮโดรไลซ์ จากส่วนที่เป็น ของเหลวทั้งตัวของหนอนไหมสายพันธุ์ AC ₃ และ TH ₂ ที่เจริญอยู่ใน ระยะวัย 1 ถึง วัย 4	60
19	แสดงแอลคาไลน์ฟอสฟาเทสไฮโดรไลซ์ จากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ C ₁ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5	61
20	(ก) แสดงแอลคาไลน์ฟอสฟาเทสไฮโดรไลซ์จากทางเดินอาหารของหนอนไหมสาย พันธุ์ AC ₃ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5	62
20	(ข) แสดงรูปแบบของแอลคาไลน์ฟอสฟาเทสไฮโดรไลซ์จากทางเดินอาหาร ของหนอนไหมสายพันธุ์ AC ₃ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5	63
21	(ก) แสดงแอลคาไลน์ฟอสฟาเทสไฮโดรไลซ์จากทางเดินอาหารของหนอน ไหมสายพันธุ์ TH ₂ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5	64
21	(ข) แสดงรูปแบบของแอลคาไลน์ฟอสฟาเทสไฮโดรไลซ์จากทางเดินอาหารของหนอน ไหมสายพันธุ์ TH ₂ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5	65
22	(ก) แสดงแอลคาไลน์ฟอสฟาเทสไฮโดรไลซ์จากทางเดินอาหารของหนอน ไหมสายพันธุ์ นางลาย ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5	66
22	(ข) แสดงรูปแบบของแอลคาไลน์ฟอสฟาเทสไฮโดรไลซ์จากทางเดินอาหาร ของหนอนไหมสายพันธุ์ นางลาย ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5	67
23	(ก) แสดงแอลคาไลน์ฟอสฟาเทสไฮโดรไลซ์จากทางเดินอาหารของหนอน ไหมสายพันธุ์ BB ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5	68
23	(ข) แสดงรูปแบบของแอลคาไลน์ฟอสฟาเทสไฮโดรไลซ์จากทางเดินอาหาร ของหนอนไหมสายพันธุ์ BB ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5	69

24	(ก) แสดงแอลคาไลน์ฟอสฟาเตสไอโซไซม์จากทางเดินอาหารของหนอนไหม สายพันธุ์ C_1 ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5	70
24	(ข) แสดงรูปแบบของแอลคาไลน์ฟอสฟาเตสไอโซไซม์จากทางเดิน อาหารของหนอนไหมสายพันธุ์ C_1 ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5	71
25	(ก) แสดงแอลคาไลน์ฟอสฟาเตสไอโซไซม์จากทางเดินอาหารของหนอนไหม สายพันธุ์ C_3 ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5	72
25	(ข) แสดงรูปแบบของแอลคาไลน์ฟอสฟาเตสไอโซไซม์จากทางเดินอาหาร ของหนอนไหมสายพันธุ์ C_3 ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5	73
26	(ก) แสดงแอลคาไลน์ฟอสฟาเตสไอโซไซม์จากทางเดินอาหารของหนอน ไหมสายพันธุ์ นางลาย TH_2 AC_3 TH_2 C_1 C_3 และ BB ที่เจริญอยู่ ในระยะวัย 5 วันที่ 5	74
26	(ข) รูปแบบของแอลคาไลน์ฟอสฟาเตสไอโซไซม์จากทางเดินอาหารของ หนอนไหมสายพันธุ์ นางลาย TH_2 AC_3 TH_2 C_1 C_3 และ BB ที่เจริญอยู่ ในระยะวัย 5 วันที่ 5	75

บทที่ 1

บทนำ

จากความก้าวหน้าทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีที่มนุษย์สามารถพัฒนาวิธีการเลี้ยงไหม การสาวไหม รวมทั้งการปรับปรุงพันธุ์ไหม ทำให้ได้เส้นไหมที่มีคุณภาพสามารถผลิตเป็นเส้นค้าส่งออกที่ทำรายได้ให้กับประเทศ ในประเทศไทยมีการปลูกหม่อนเลี้ยงไหมในหลายพื้นที่ โดยเฉพาะบริเวณภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ซึ่งได้มีการถ่ายทอดวัฒนธรรมการเลี้ยงไหมสืบต่อกันมาจากรุ่นสู่รุ่น

ได้มีการค้นพบอารยธรรมเกี่ยวกับไหม (silk) บริเวณลุ่มแม่น้ำ Huang Ho และ Chang Jiang ในประเทศจีนเป็นครั้งแรก โดยชุดพบเศษของเปลือกรังไหม มีอายุอยู่ในยุคหินที่มณฑล Shanxi นอกจากนี้ยังได้ค้นพบชิ้นส่วนของผ้าไหม ที่มีอายุระหว่าง 2,750 – 2,850 ปี ก่อนคริสตกาล ความรู้เกี่ยวกับไหมเป็นความลับภายในราชวงศ์ของจีนตลอดมา ชาวต่างประเทศไม่มีโอกาสล่วงรู้วิธีการได้เลย แต่ด้วยความพยายามของชาวยุโรปในที่สุดความลับต่าง ๆ เกี่ยวกับไหมก็ได้ถูกเปิดเผยขึ้น ดังนั้นการเลี้ยงไหมจึงแผ่ขยายไปยังประเทศเกาหลี ญี่ปุ่น และประเทศต่าง ๆ ทั่วโลก

ชีววิทยาของไหม

ไหมเป็นสัตว์ที่จัดอยู่ในไฟลัม อาร์โทรโปดา (Phylum Arthropoda) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Bombyx mori* L. จัดอยู่ใน

Phylum Arthropoda

Class Hexapoda or Insecta

Division Endopterygota

Order Lepidoptera

Family Bombycidae

Genus Bombyx

Species mori

ไหมมีการเจริญเติบโตแบบ คอสมพลีเทตามอร์โฟซิส (complete metamorphosis) คือมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างในแต่ละขั้นตอนของการเจริญเติบโตอย่างชัดเจน จึงนิยมใช้เป็นตัวอย่างในการศึกษาเกี่ยวกับชีววิทยาของแมลง และการศึกษาทางด้านพันธุศาสตร์เช่นเดียวกับแมลงหวี่ ซึ่งเป็นแมลงจำพวกเดียวกับไหม

วงจรชีวิตและการเจริญเติบโตของไหม

วงจรชีวิตของไหมทุก ๆ สปีชีส์ แบ่งออกเป็น 4 ขั้นตอนที่สำคัญคือ ไข่ (egg) ตัวหนอน (larvae) ดักแด้ (pupa) และตัวเต็มวัย (adult) ในแต่ละขั้นตอนของวงจรชีวิตมีลักษณะการเจริญเติบโตและระยะเวลาแตกต่างกันดังนี้ (ภาพประกอบ 1)

1. ไข่ (egg) ใช้เวลาประมาณ 10-11 วัน ไข่ไหมแบ่งออกเป็น 2 ชนิดตามลักษณะการเปลี่ยนสีก่อนฟักออกเป็นตัว ได้แก่ ไข่ไหมชนิดที่มีการพักตัว (diapause egg) กับไข่ไหมชนิดที่ไม่มีการพักตัว (non-diapause egg) (ภาคผนวก ข)

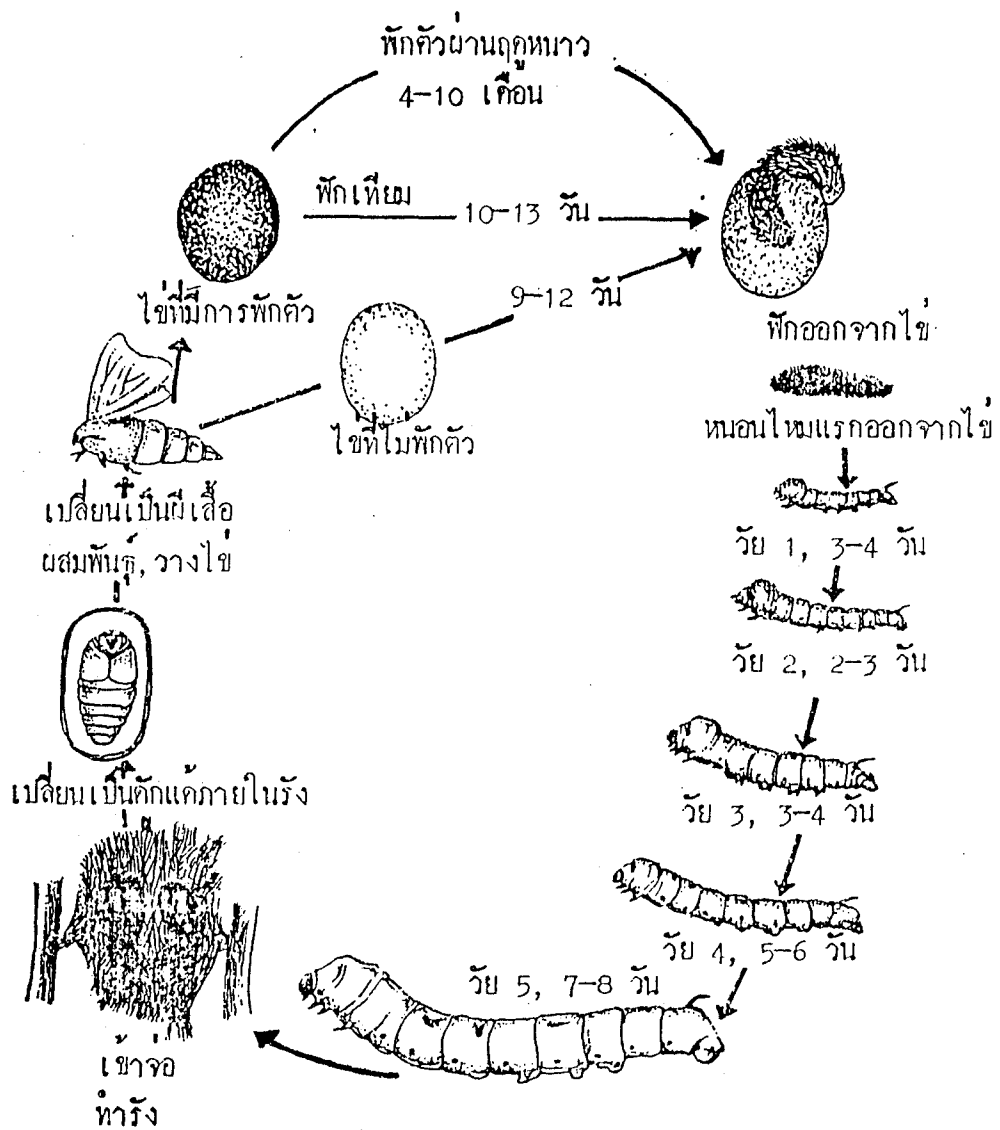
2. ไข่เป็นตัวหนอน (larvae) ใช้เวลาประมาณ 25-30 วัน ไข่ไหมมีการลอกคราบถึง 4 ครั้งจึงแบ่งระยะที่เป็นตัวหนอนออกเป็น 5 วัย ได้แก่ หนอนไหมวัย 1 วัย 2 วัย 3 วัย 4 และวัย 5 ในการลอกคราบแต่ละครั้ง หนอนไหมจะหยุดกินอาหารและหยุดเคลื่อนไหวประมาณ 1 วัน ซึ่งเรียกว่าไหมหนอนวัย 5 เป็นระยะที่หนอนไหมมีการเจริญเติบโตเต็มที่ สามารถสร้างเส้นใย (silk fiber) เพื่อห่อหุ้มตัวเรียกว่ารังไหม (cocoon) ขณะที่หนอนไหมหยุดกินอาหารลำตัวจะใสจึงเรียกไหมในระยะนี้ว่าไหมสุก (prepupa)

3. ระยะเป็นดักแด้ (pupa) เมื่อไหมสร้างรังแล้วจะลอกคราบเปลี่ยนเป็นดักแด้อยู่ภายในรังไหม ใช้เวลาประมาณ 10-12 วัน

4. ระยะเป็นตัวแก่หรือตัวเต็มวัย (adult) มีลักษณะเป็นผีเสื้อกลางคืน (moth) มีสีครีม ไม่กินอาหาร และจะเริ่มผสมพันธุ์ โดยตัวเมียจะวางไข่ภายใน 24 ชั่วโมง ระยะที่ดักแด้เปลี่ยนเป็นตัวเต็มวัยใช้เวลาประมาณ 10-12 วัน

อาหารของหนอนไหม

ไหมมีหลายชนิด แต่ละชนิดกินใบพืชต่าง ๆ กันเป็นอาหาร ทำให้เส้นไหมที่ได้มีลักษณะแตกต่างกัน ดังแสดงในตาราง 1 สำหรับไหม *Bombyx mori* L. เป็นไหมชนิดที่กินใบหม่อน (mulberry leaf) เป็นอาหารตามธรรมชาติ จากการทดลองเกี่ยวกับการเลือกกินอาหารของหนอนไหม พบว่าหนอนไหมจะกินใบไม้ได้หลายชนิด แต่การเจริญเติบโต และเมตามอร์โฟซิสจะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อได้รับสารอาหารจากใบหม่อนเท่านั้น (ประภา ศิริบุญย. 2508) ไหม *Bombyx mori* L. มีวิวัฒนาการจากไหมป่า *Bombyx mandarina* โดยไหมป่าจำพวกนี้จะอาศัยอยู่บนต้นหม่อน (Alikhan. 1989) พบไหมพวกนี้ได้ในประเทศญี่ปุ่น จีน และประเทศทางเอเชียตะวันออกเฉียงใต้



ภาพประกอบ 1 วงจรชีวิตของไหม (Sampath. 1987)

ตาราง 1 แสดงชนิดของพืชที่ไหม้กินเป็นอาหาร ชนิดของไหม และชนิดของเส้นไหม
(Sampath. 1987)

ชนิดของเส้นไหม	ชนิดของไหม	ชนิดของพืชที่ไหม กินเป็นอาหาร
1. Mulberry silk	Mulberry silkworm (<i>Bombyx mori</i> L.) Family: <i>Bombycidae</i>	Mulberry (<i>Morus alba</i> , <i>M. Indica</i> etc.)
2. Tasar silk	Tasar silkworm (<i>Antheraea mylitta</i>) Oak tasar silkworm (<i>Antheraea proylei</i> , <i>Antheraea pernyi</i> etc.,)	Asan (<i>Terminalia tomentosa</i>) Arjun (<i>T. arjuna</i>) Oak (<i>Quercus serrata</i>) (<i>Q. dealbata</i>) (<i>Q. incana</i>) etc.
3. Eri, Endi or Errandi silk	Eri silkworm (<i>Philosamia ricini</i>)	Castor (<i>Recinus communis</i>) Kesseru (<i>Heteropanax fragrans</i>)
4. Muga	Muga silkworm (<i>Antheraea assamensis</i>)	Som (<i>Machilus bombycina</i>) Soalu (<i>Litsaea polyantha</i>)

สารอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญของหนอนไหม

การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับอาหารเทียม (artificial diet) (सान วิไล. 2529) (Moon and Sohn. 1988) ทำให้มีการศึกษารายละเอียดเกี่ยวกับสารอาหาร ที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของหนอนไหมซึ่ง ได้แก่

1. คาร์โบไฮเดรต มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของหนอนไหม (JOVC. 1975) สารอาหารคาร์โบไฮเดรตชนิดที่หนอนไหมมีความต้องการมาก ได้แก่ กลูโคส ฟรุคโตส ซูโครส เซลโลไบโอส มอลโตส แรฟไฟโนส และซอร์บิตอล สำหรับสารอาหารคาร์โบไฮเดรตชนิดที่มีความต้องการปกติ ได้แก่ แมนโนส เมลลิไบโอส แล็กโตส ทรีฮาโลส และอาจจะรวมถึงสารจำพวกแป้ง (starch) และ เดกซ์ตริน และสารอาหารคาร์โบไฮเดรต ชนิดที่มีความต้องการน้อย ได้แก่ ไซโลส กาแลกโตส แมนิทอล และอาจจะรวมถึงพวกแป้งและเดกซ์ตริน ซึ่งมีความต้องการน้อยมากในไหมบางชนิด

2. กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของหนอนไหม ได้แก่ อาร์จินีน ฮิสติดีน ไโอโซลิวซีน ลิวซีน ไลซีน เมทไธโอนีน ฟีนิลอะลานีน ทรีโอนีน ทรีปโตเฟน และเวเลิน (Ito and Inokuchi. 1981)

3. ไขมัน และ น้ำมัน สารอาหารไขมันชนิดที่มีความจำเป็นต่อเมตาบอลิซึมของหนอนไหม คือ สเตอรอยด์ (Ito. 1961)

4. วิตามิน ชนิดที่หนอนไหมมีความต้องการในปริมาณมากคือ โคเลีน อินositol และ แอสคอร์บิก แอสิต วิตามินบางชนิดหนอนไหมมีความต้องการในปริมาณน้อย ดังนั้นในการผลิตอาหารเทียมได้เติมวิตามินต่าง ๆ เหล่านี้เป็นส่วนผสมเพื่อเพิ่มคุณค่าทางอาหาร

5. สารประกอบอินทรีย์ ที่มีความสำคัญต่อการเจริญของหนอนไหม ได้แก่ โพแทสเซียม ฟอสฟอรัส แคลเซียม แมกนีเซียม สังกะสี แมงกานีส และเหล็ก เป็นต้น

การย่อยอาหารของไหม

สารอาหารที่อยู่ในไหมก่อนมีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ และส่วนใหญ่เป็นส่วนประกอบอยู่ในผนังเซลล์พืชในรูปของเซลลูโลส ซึ่งหนอนไหมจะต้องมีกระบวนการเปลี่ยนสารที่ไม่ละลายน้ำให้เป็นสารที่ละลายน้ำได้เพื่อการดูดซึมนำไปใช้ประโยชน์ การเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ เหล่านี้รวมเรียกว่า กระบวนการย่อย

อวัยวะที่ใช้ในการย่อยอาหารอยู่กลางลำตัวตามความยาวของร่างกายเรียกว่าทางเดิน

อาหาร (gut) ซึ่งเริ่มจากปากไปจนจรดส่วนท้ายของลำตัว คือ ส่วนของทวารหนัก บริเวณตอนกลางของทางเดินอาหาร (mid gut) เป็นส่วนที่ทำหน้าที่ในการผลิตและหลั่งน้ำย่อยซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์ที่จำเป็นสำหรับการย่อยสารอาหารประเภทต่าง ๆ ได้แก่ เอนไซม์อะมัยเลส โปรตีเอส เอสเทอเรส และแอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส (Eguchi and Iwamoto. 1975; Kanekatsu. 1978) นอกจากนั้นบริเวณลำไส้ตอนกลางซึ่งมีหน้าที่ดูดซึมสารอาหารที่ย่อยแล้ว

เส้นไหม (Silk)

เส้นไหม เป็นเส้นใยโปรตีนที่หนอนไหมสร้างเป็นรังห่อหุ้มป้องกันอันตรายในระยะที่ตัวไหมเปลี่ยนไปเป็นดักแด้ ระยะที่เป็นดักแด้เป็นระยะที่แสดงให้เห็นความสมบูรณ์ของหนอนไหม ถ้าหนอนไหมมีความแข็งแรงก็จะสามารถมีชีวิตอยู่รอดและเจริญไปเป็นดักแด้ที่มีรังไหมขนาดใหญ่และเปลือกแข็งแรง เมื่อนำไปสาวไหมจะได้ไหมที่มีคุณภาพ หนอนไหมที่ไม่แข็งแรงจะมีอัตราการตายสูงก่อนจะเจริญไปเป็นดักแด้ ทำให้ได้ผลผลิตรังไหมและเส้นไหมมีคุณภาพต่ำ

องค์ประกอบทางเคมีของเส้นไหม

เส้นไหมมีองค์ประกอบทางเคมี 2 ชนิดคือ โปรตีน และ ไซ (wax) ส่วนของโปรตีนหลั่งออกมาจาก ต่อมสร้างเส้นไหม (silk gland) และไซหลั่งออกมาจาก Fillipi's gland (Lesworth. 1956; JOVC. 1975; Sampath. 1987) โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบหลักในเส้นไหมมี 2 ชนิดคือ

1. ไฟโบรอิน เป็นโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในส่วนที่เป็นแกนกลางของเส้นไหม (Tsukada and others. 1988)
2. เซอริซิน เป็นโปรตีนที่มีลักษณะเป็นไซห่อหุ้มไฟโบรอิน สารเซอริซินที่อยู่ในเส้นไหมมี 3 ชนิดคือ เซอริซิน 1 (sericin I) อยู่ชั้นในสุด เซอริซิน 2 (sericin II) อยู่ชั้นกลาง และเซอริซิน 3 (sericin III) อยู่ชั้นนอกสุด (Hag and others. 1988)

หนอนไหมสังเคราะห์โปรตีนทั้ง 2 ชนิดจากสารอาหารในใบหม่อนที่กินเป็นอาหารในระยะที่เป็นตัวหนอน เมื่อหนอนไหมมีการพัฒนาสมบูรณ์ที่สุดก็จะเริ่มสร้างของเหลวที่ใช้สร้างเส้นไหม (silk fluid) จากต่อมสร้างเส้นไหมแล้วส่งไปที่ปาก เมื่อหนอนไหม พ่นของเหลวไปสัมผัสกับอากาศจะทำให้เกิดเป็นเส้นใยที่แข็งและต่อเนื่องกันเป็นสายยาว และห่อหุ้มเป็นรังไหม

พันธุ์ใหม่

ปัจจุบันมีการเลี้ยงไหมอยู่ทั่วไปทั้งในเขตร้อนและเขตอบอุ่น ทำให้เกิดพันธุ์ไหมหลากหลายชนิด ดังนั้นจึงมีการจัดจำแนกพันธุ์ไหม โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเป็นเกณฑ์ในการจำแนกได้ดังนี้ (พรณี ศรีบรรเทา. 2530; กรมวิชาการเกษตร. 2523; JOVC. 1975)

1. จำแนกตามจำนวนครั้งของการลอกคราบ ในระยะที่เป็นตัวหนอน (molting) หนอนไหมมีการลอกคราบเพื่อเปลี่ยนผิวหนัง เนื่องจากหนอนไหมมีการเจริญเติบโต ทำให้ลำตัวมีขนาดใหญ่ขึ้น จำนวนครั้งของการลอกคราบขึ้นอยู่กับชนิดของไหม จึงจำแนกพันธุ์ไหมตามจำนวนครั้งของการลอกคราบได้หลายชนิด มีทั้งชนิดที่มีการลอกคราบ 3 ครั้ง 4 ครั้ง และ 5 ครั้ง

2. จำแนกตามแหล่งกำเนิด ระยะแรกไหมถือกำเนิดมาจากไหมป่า

Bombyx mandarina (Maekawa and others. 1988) ต่อมาจึงมีการปรับตัวต่อสภาพแวดล้อม เพื่อการดำรงเผ่าพันธุ์ ประกอบกับการพัฒนาด้านการปรับปรุงพันธุ์ไหม ทำให้มีลักษณะแตกต่างไปจากเดิม สามารถจำแนกพันธุ์ไหมตามแหล่งกำเนิดได้หลายชนิดเช่น พันธุ์จีน พันธุ์ญี่ปุ่น พันธุ์ยุโรป และ พันธุ์เขตร้อน

3. จำแนกตามลักษณะของการผสมข้ามพันธุ์ ปัจจุบันมีการปรับปรุงพันธุ์ไหมเพื่อให้ได้พันธุ์ที่มีคุณสมบัติตามต้องการ โดยพัฒนาไหมพันธุ์ลูกผสม (hybrid) ขึ้น มีทั้งลูกผสมช่วงที่ 1 ลูกผสมช่วงที่ 2 และลูกผสมรวมสายพันธุ์

4. จำแนกตามสีของรังไหม รังไหมมีสีแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพันธุ์ไหม (กรมวิชาการเกษตร. 2523) เช่น รังไหมสีขาว สีเหลือง สีเหลืองทอง สีเหลืองอมชมพู สีชมพู และ สีเขียวอ่อน

5. จำแนกตามฤดูของการเลี้ยงไหม เนื่องจากไหมสามารถเจริญเติบโตได้ทั้งในเขตร้อนและเขตอบอุ่น ซึ่งฤดูใบไม้ผลิเป็นระยะที่สิ่งแวดล้อมเหมาะสม สำหรับการเลี้ยงไหมมากที่สุด พันธุ์ไหมที่เลี้ยงได้ในสภาพแวดล้อมเช่นนี้จะให้ผลผลิตสูงในฤดูร้อน และต้นฤดูใบไม้ร่วงอุณหภูมิค่อนข้างสูงประกอบกับไหมหม่อนมีคุณภาพต่ำ ดังนั้นไหมที่จะเลี้ยงได้ในสภาพแวดล้อมดังกล่าว ต้องเป็นพันธุ์ที่มีความแข็งแรงด้วยเหตุนี้จึงจำแนก เป็นพันธุ์ที่เลี้ยงในฤดูใบไม้ผลิ พันธุ์ที่เลี้ยงในฤดูร้อน และพันธุ์ที่เลี้ยงในฤดูใบไม้ร่วง

6. จำแนกตามชนิดของพืชที่ไหมกินเป็นอาหาร เช่น ไหมหม่อน ไหมไค้ ไหมมันสำปะหลัง ไผ่หน่ ฯลฯ

7. จำแนกตามจุดหรือแต้มบนลำตัวของหนอนไหม จุดหรือแต้มที่ปรากฏบนลำตัวของหนอนไหม ขึ้นอยู่กับชนิดของไหม (กรมวิชาการเกษตร. 2523) เช่น หนอนไหมที่มีสีขาวทั้งตัว

มีลายกระด้ากระต่าง หรือมีสีด้าล้วนทั้งตัว

8. จำแนกตามสีของไข่ไหม ไข่ไหมที่เกิดจากพันธุ์ที่ฟักออกตามธรรมชาติได้ 1-2 ครั้งต่อปีนั้น หลังจากที่ได้แม่ผีเสื้อวางไข่ ระยะแรกไข่จะมีสีเหลืองอ่อน หรือสีครีม หลังจากนั้นประมาณ 1 วัน ไข่จะเริ่มเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน น้ำตาลอมชมพู น้ำตาลเข้ม และในที่สุดเปลี่ยนเป็นสีเทาเข้มปนน้ำตาล แล้วจึงฟักออกเป็นหนอนไหมได้ ส่วนไข่ไหมที่ฟักออกเป็นตัวหนอนได้ตลอดทั้งปี หลังจากที่ได้แม่ผีเสื้อวางไข่ แล้วประมาณ 7-8 วัน สีของไข่ไหมจะเปลี่ยนจากสีเหลืองอ่อน และเกิดจุดสีน้ำเงินเข้มบนริมฟองไข่ และในที่สุดจะกลายเป็นสีน้ำเงินทั้งฟอง แล้วจึงฟักออกเป็นหนอนไหมได้

9. จำแนกตามความย่นของผิวรัง เช่นพันธุ์ที่ผิวรังมีความย่นมาก พันธุ์ที่ผิวรังมีความย่นน้อย และพันธุ์ที่มีผิวรังเรียบ

10. จำแนกตามรูปร่างของรังไหมได้หลายชนิด เช่น พันธุ์ที่มีรูปร่างรูปฝักถั่ว รูปกลม รูปไข่ เป็นต้น

11. จำแนกตามตามจำนวนครั้งที่ไข่ไหมฟักออกตามธรรมชาติในรอบปี เป็นการจำแนกจากลักษณะที่ปรากฏ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน จึงเป็นวิธีการจำแนกที่เหมาะสมต่อการศึกษากลับมาเกี่ยวกับการปรับปรุงพันธุ์ไหมในประเทศไทย การจัดจำแนกโดยวิธีนี้แบ่งพันธุ์ไหมเป็น 3 ชนิดคือ

11.1 ชนิดที่ฟักออกจากไข่ตามธรรมชาติ 1 ครั้งต่อปี (uni-voltine) ซึ่งมีถิ่นกำเนิดในเขตรูโรหรือเขตอบอุ่น ผีเสื้อไหมจะผสมพันธุ์และวางไข่ในฤดูร้อน และไข่ไหมจะมีการฟักตัวตลอดช่วงฤดูหนาวจนกระทั่งฟักออกจากไข่ในตอนต้นฤดูใบไม้ผลิของปีถัดไป และจะเจริญเติบโตตามขั้นตอนจนถึงระยะเป็นผีเสื้ออีกครั้ง ไข่ไหมชนิดนี้มีวงจรชีวิตครั้งเดียวในรอบ 1 ปี

11.2 ชนิดที่ฟักออกจากไข่ตามธรรมชาติได้ 2 ครั้งต่อปี (bi-voltine) มีถิ่นกำเนิดในเขตอบอุ่น ไข่ไหมจะฟักออกเป็นตัวหนอนตอนต้นฤดูใบไม้ผลิ และเจริญเติบโตจนกระทั่งเป็นผีเสื้อจึงเริ่มผสมพันธุ์และวางไข่ เนื่องจากยังมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ไข่ไหมจึงฟักออกเป็นตัวหนอนและเจริญเติบโตได้อีกครั้งหนึ่ง ไข่ไหมชนิดนี้จึงมีวงจรชีวิต 2 ครั้งในรอบ 1 ปี

11.3 ชนิดที่ฟักออกจากไข่ตามธรรมชาติได้หลายครั้งต่อปี (polyvoltine) ไข่ไหมชนิดนี้มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อน ไข่ไหมจะไม่มีอาการฟักตัวเลยไม่ว่าจะมีการวางไข่ในเวลาใด หลังจากผีเสื้อไหมวางไข่แล้วประมาณ 10 วัน ก็จะสามารถฟักออกเป็นตัวหนอนได้เลย

ไข่ไหมชนิดที่ฟักออกจากไข่ตามธรรมชาติได้ 1-2 ครั้งต่อปี หนอนไหมจะมีขนาดใหญ่ แข็งแรงและให้ผลผลิตรังไหมสูง และรังไหมมีขนาดใหญ่เปลือกแข็งแรงให้เส้นใยไหมมาก จึงเป็นที่นิยมใช้เลี้ยงกันมากแม้ในประเทศเขตร้อน สำหรับการเลี้ยงไหมชนิดนี้ในเขตร้อนนั้นจะมีข้อ

จำกัดตามลักษณะธรรมชาติของ ไหมพันธุ์ แต่ก็สามารถทำให้มีการฟักออกเป็นตัวหนอนได้ โดยการ ฝึกเหี้ยม (JOVC. 1975; Sampath. 1987)

การพัฒนาสายพันธุ์ไหม

การเลี้ยงไหมเป็นอาชีพหลักที่สำคัญของหลายประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และบางประเทศมีอุตสาหกรรมเกี่ยวกับไหม ซึ่งทำรายได้ปีละมาก ๆ เช่นประเทศญี่ปุ่น การ เลี้ยงไหมในระยะแรกของประเทศญี่ปุ่นมีขอบเขตจำกัด เนื่องจากสภาพภูมิประเทศเป็นเกาะ จึง มีพื้นที่ในการเพาะปลูกน้อยมาก บริเวณที่เป็นเขตพื้นที่ราบสูงจะมีอากาศเย็น ซึ่งเหมาะสมสำหรับการ เจริญเติบโตของไหมสายพันธุ์ญี่ปุ่น (Japanese strain) และในบริเวณพื้นที่ราบต่ำ มีสภาพ อากาศร้อนเป็นส่วนใหญ่ และมีอากาศเย็นในช่วงเวลาสั้น ๆ ไหมสายพันธุ์ที่เลี้ยงในบริเวณนี้ สามารถเลี้ยงได้ปีละหลาย ๆ ครั้ง และมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมในบริเวณที่ราบเขตร้อน ได้ดี แต่ไม่สามารถเลี้ยงในบริเวณอื่น จึงได้พยายามพัฒนาไหมสายพันธุ์ญี่ปุ่น โดยทำการปรับปรุง พันธุ์ไหมสายพันธุ์ลูกผสม จากไหมสายพันธุ์ญี่ปุ่นและไหมสายพันธุ์ชนิดที่มีความทนทาน เพื่อให้มี คุณลักษณะตามที่ต้องการ นอกจากนี้ยังได้ทำการพัฒนาพ่อพันธุ์ และแม่พันธุ์ไหม (parent strains) ให้มีคุณสมบัติที่เหมาะสม (JOVC. 1975) ดังนี้

1. มีความต้านทานต่อสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้ดี
2. ใช้ไหมมีการฟักเป็นตัวหนอนพร้อมกัน
3. หนอนไหมมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว
4. รังไหมที่ได้มีขนาดของเส้นใยใหญ่ขึ้น
5. รังไหมที่ได้มีรูปร่างและมีคุณภาพที่ดีขึ้นเหมือนกันทั้งหมดและได้คุณลักษณะที่ดีกว่าไหม ที่ใช้กับพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์

นอกจากจะมีการปรับปรุงพันธุ์ไหมแล้ว ยังมีการนำความรู้และเทคโนโลยีใหม่ ๆ มา ปรับปรุงคุณภาพของไหม่อน มีการค้นคว้าวิจัยถึงคุณค่าทางอาหารของไหม่อน เพื่อผลิตอาหาร เหยื่อให้ไหมได้รับสารอาหารที่มีประโยชน์ครบถ้วนเพื่อให้ได้รังไหมที่มีคุณภาพ และเหมาะสมกับ สภาพพื้นที่ของประเทศไทยซึ่งมีอยู่จำกัด

การเลี้ยงไหมมีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศที่กำลังพัฒนาหลาย ๆ ประเทศ เช่น ประเทศอินเดีย ซึ่งมีประชากรจำนวนมาก และส่วนใหญ่เป็นชาวชนบท ที่ประกอบอาชีพเลี้ยงไหม จึงทำให้เกิดอุตสาหกรรมเกี่ยวกับไหม เนื่องจากค่าแรงมีราคาต่ำ ทำให้มีการจ้างงานเกิดขึ้น เป็นการลดปัญหาการว่างงาน จึงทำให้อุตสาหกรรมเกี่ยวกับไหมกลายเป็นอุตสาหกรรมหลักที่

ทำรายได้ให้กับประเทศ ประเทศอินเดีย ส่งสินค้าไหม (India Silk) เป็นสินค้าส่งออกให้กับประเทศต่าง ๆ กว่า 50 ประเทศทั่วโลก ดังนั้นตลาดการค้าเกี่ยวกับไหม จึงยังมีความต้องการอยู่มากทั้งในปัจจุบันและในอนาคต

การปลูกหม่อนเลี้ยงไหมในประเทศไทยเกิดขึ้นมาเป็นเวลานานจนกลายเป็นวัฒนธรรมคู่กับชีวิตความเป็นอยู่ของคนไทย ปัจจุบันผ้าไหมของไทยเป็นที่รู้จักกันอย่างกว้างขวางทั้งในและต่างประเทศ โดยเฉพาะผ้าไหมมัดหมี่ของไทยมีชื่อเสียงโด่งดังในด้านความเป็นมันวาว และเป็นงานฝีมือที่มีมาแต่ดั้งเดิม ผ้าไหมไทยได้กลายเป็นหนึ่งในบรรดาผ้าไหมที่มีราคาแพงที่สุด ทำให้เกิดการอุตสาหกรรมไหมขึ้นในประเทศไทย ทำรายได้ให้กับประเทศ และได้รับการยกย่องจากทั่วโลก (วนิดา จรุงจิตต์. 2530)

ในปัจจุบันนี้ไหมที่เลี้ยงอยู่ในประเทศไทยเป็นไหมพันธุ์ลูกผสมต่างประเทศ ซึ่งใช้ผลิตเส้นไหมยืน สำหรับไหมพันธุ์ไทยพื้นเมืองนิยมใช้เป็นเส้นไหมพุ่ง เนื่องจากประเทศผลิตเส้นไหมยืนได้เพียง 20 เปอร์เซ็นต์ของความต้องการ ดังนั้นประเทศไทยจึงจำเป็นต้องสั่งซื้อไหมพันธุ์ลูกผสมต่างประเทศ และเส้นไหมยืนจากต่างประเทศ

เนื่องจากไหมพันธุ์ไทยพื้นเมืองรังไหมมีสีเหลือง และเส้นใยสั้น น้ำหนักโดยเฉลี่ยต่อรังน้อย แต่สามารถเลี้ยงได้ปีละหลายครั้ง ทนทานต่อสภาวะอากาศและสิ่งแวดล้อมภายนอก ทนทานต่อโรค ส่วนไหมพันธุ์ต่างประเทศมีลักษณะเส้นใยเป็นมันวาว น้ำหนักโดยเฉลี่ยต่อรังสูง สามารถเลี้ยงได้ปีละ 1 หรือ 2 ครั้ง ไข่ไหมมีการฟักตัวในฤดูหนาว และหลังจากนั้นไข่ไหมก็จะฟักเป็นตัวหนอน ซึ่งถ้าปล่อยให้ไข่ไหมฟักโดยธรรมชาติจะต้องใช้เวลานาน จึงมีการพัฒนาวิธีการฟักเทียมขึ้น แต่หนอนไหมชนิดนี้ไม่ทนต่อสภาวะที่ไม่เหมาะสม และจะเจริญได้ในสภาวะที่เหมาะสมเท่านั้น ถ้าอุณหภูมิไม่เหมาะสม ไข่ไหมก็อาจจะไม่สามารถฟักเป็นตัวหนอนได้ หากนำไหมพันธุ์ต่างประเทศไปเลี้ยงในบริเวณที่มีอากาศร้อน ซึ่งมีสภาพไม่เหมาะสมต่อการเลี้ยงไหมชนิดนี้ จะทำให้มีโอกาสรังไหมได้ยาก ดังนั้นนักปรับปรุงพันธุ์จึงให้ไหมพันธุ์ต่างประเทศเป็นหลักในการพัฒนาพันธุ์ไหมโดยทำการผสมพันธุ์ไหมจากพ่อพันธุ์ และแม่พันธุ์ที่มีคุณภาพเพื่อผลิตไหมพันธุ์ลูกผสมที่มีคุณสมบัติตามที่ต้องการ ในประเทศที่มีอุตสาหกรรมเกี่ยวกับไหมจะต้องมีการปรับปรุงพันธุ์ไหมให้มีคุณภาพสูง เช่น ในประเทศเกาหลี ไหมสายพันธุ์ JAM 124 ใช้เป็นพันธุ์หลักในการผลิตไหมพันธุ์ลูกผสมสำหรับการเลี้ยงเพื่อการค้า สำหรับประเทศไทยกรมวิชาการเกษตรได้ทำการผลิตไหมพันธุ์ลูกผสมต่างประเทศให้แก่เกษตรกรได้ทดลองใช้ (พรณี ศรีบรรเทา. 2530)

ในปัจจุบันได้มีการนำความรู้ในทางชีวเคมีของไหมในระดับโมเลกุลมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ไหม สำหรับการวิจัยในประเทศไทยที่เกี่ยวกับลักษณะทางพันธุกรรมของไหมได้มีการศึกษากันอยู่ ได้แก่ การศึกษาเกี่ยวกับลายพิมพ์ ดี เอ็น เอ (DNA fingerprints) ของหนอน

ไหม *Bombyx mori* L. (จิรันทร ยูนิยม และคนอื่น ๆ. 2534) เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการจำแนกสายพันธุ์ต่าง ๆ นอกจากนี้ยังสามารถแสดงความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างหนอนไหมภายในสายพันธุ์เดียวกันได้อีกด้วย

ด้วยเหตุที่การค้นคว้าวิจัยเกี่ยวกับไหมในประเทศไทยยังมีน้อย และประกอบกับงานวิจัยต่าง ๆ เกี่ยวกับเอนไซม์เอสเทอเรส แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส (alkaline phosphatase) และแอซิด ฟอสฟาเทส (acid phosphatase) ในหนอนไหม *Bombyx mori* L. เท่าที่ผ่านมานั้นพบว่า เป็นการศึกษาคุณสมบัติโดยทั่วไปของเอนไซม์เป็นส่วนใหญ่ และการศึกษาเกี่ยวกับไอโซไซม์ในไหม ส่วนใหญ่มีการศึกษาในอีโมลิฟมากกว่าในทางเดินอาหาร

ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจ ที่จะศึกษาเกี่ยวกับไอโซไซม์ของเอนไซม์เอสเทอเรส และฟอสฟาเทส ทั้งในอีโมลิฟและในทางเดินอาหาร เปรียบเทียบระหว่างไหมพันธุ์ไทย และพันธุ์ต่างประเทศ เพื่อเป็นการวิจัยด้านพื้นฐานที่จะนำไปช่วยในการจำแนกสายพันธุ์ และการปรับปรุงพันธุ์ไหม ให้มีคุณภาพตามต้องการ

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ก่อนที่จะเริ่มมีการศึกษาถึงบทบาทของเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ในไหม *Bombyx mori* L. ในระยะเริ่มแรกได้มีการศึกษาถึงคุณสมบัติของอีโมลิฟในแมลงหลาย ๆ ชนิดพบว่าอีโมลิฟ มีบทบาทสำคัญอย่างมากต่อการเจริญในระยะต่าง ๆ และในกระบวนการเมตาโมอร์โฟซิสในแมลง (Laufer. 1960)

ต่อมาได้มีการพัฒนาเทคนิคอิเล็กโตรโฟเรซิสเพื่อแยกโปรตีน ในระยะแรก Smithies ได้พัฒนาวิธี สตาร์ช เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส (Starch gel electrophoresis) (Smithies. 1955) และมีการพัฒนาเทคนิคอิเล็กโตรโฟเรซิสชนิดต่าง ๆ รวมทั้ง โพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส (polyacrylamide gel electrophoresis) (Raymond and Weintraub. 1959) ทำให้มีการศึกษาเอนไซม์ในสัตว์ชนิดต่าง ๆ กันอย่างกว้างขวาง (Shaw. 1965)

จากการพัฒนาเทคนิคอิเล็กโตรโฟเรซิส ทำให้มีการศึกษาบทบาทของเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ทั้งในอีโมลิฟและทางเดินอาหารของหนอนไหม *Bombyx mori* L. เช่น เอสเทอเรส (Alikhan , Moon and Lee. 1988; Alikhan. 1989) แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส (Eguchi , Sawaki and Suzuki. 1971, 1972) และ อะมัยเลส (Hara , Fujii and Sakaguchi. 1986; Asakawa and Hamano. 1989)

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาไอโซไซม์ของเอนไซม์โปรติเอส เอสเทอเรส และแอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส จากทางเดินอาหารของหนอนไหมในระหว่างกระบวนการเมตามอร์โฟซิส (Eguchi and Iwamoto. 1975)

เอนไซม์ แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส แอลดีด ฟอสฟาเทส และเอสเทอเรส เป็นเอนไซม์ ที่ไฮโดรไลสัพันธะเอสเทอร์เหมือนกัน แต่มีชื่อเรียกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของสับสเตรท (Abraham and Bernard. 1967)

สำหรับเอนไซม์เอสเทอเรส มีการศึกษาทั้งในพืช และในสัตว์โดยเฉพาะในแมลง ซึ่ง รวมถึงแมลงจำพวกไหมด้วย การศึกษาเอนไซม์เอสเทอเรสจากอวัยวะต่าง ๆ ของแมลงพบว่า มีความจำเพาะต่อสับสเตรทได้หลายชนิดและสามารถไฮโดรไลสัพันธะเอสเทอร์ จากสาร ประกอบสังเคราะห์ เช่น เบตา-แนพทิล อะซิเตต (Alikhan. 1989)

Gamo ศึกษาคุณสมบัติของเอนไซม์เอสเทอเรส จากฮีโมลิฟของไหมพบว่า เอนไซม์ เอสเทอเรสในไหมก็มีความจำเพาะต่อสับสเตรทได้หลายชนิด และมีความสามารถในการเร่ง ปฏิกิริยาได้แตกต่างกัน ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของสับสเตรท (Gamo. 1978) อ้างโดย (Alikhan. 1989)

Sasaki ศึกษาเกี่ยวกับบทบาทของเอนไซม์เอสเทอเรส ในการควบคุมเมตาบอลิซึม ของสิ่งมีชีวิตในระยะที่มีการหยุดพักการเจริญ และเพื่อวิเคราะห์ความแปรผันทางพันธุกรรม (genetic variation) ของสัตว์โดยเฉพาะพวกแมลง (Sasaki. 1974) อ้างโดย (Chatterjee , Ashawath and Rajendra. 1988)

การศึกษาเอนไซม์เอสเทอเรสในหนอนไหม *Bombyx mori* L.

พบว่าเอนไซม์เอสเทอเรสในไหม *Bombyx mori* L. มีบทบาทในการไฮโดรไลสั คาร์บอกซิลิก เอสเทอร์ ซึ่งมีความสำคัญต่อการเมตามอร์โฟซิส ตั้งแต่ในระยะที่เป็นไข่ โดย ตรวจพบแอกติวิตีของเอนไซม์เอสเทอเรสที่สกัดได้จากไข่ชนิดที่มีการฟักตัว (Kai , Yungen and Takawai. 1988)

Eguchi และ Sugimoto ได้ศึกษาไซโมแกรมของเอนไซม์เอสเทอเรสของไหม ระหว่างการเจริญในระยะที่เป็นตัวหนอน จนถึงดักแด้ พบว่าไซโมแกรมที่ได้มี 5 แถบ และ แอกติวิตีของเอนไซม์เอสเทอเรสจะลดลงในระยะที่เป็นดักแด้ (Eguchi and Sugimoto. 1965) อ้างโดย (Alikhan. 1989)

Liu และ Yoshitake ได้ศึกษาเอนไซม์เอสเทอร์จากลำไส้ตอนกลาง และพบว่า มีแถบของไอโซไซม์ 8 แถบ จึงเป็นจุดเริ่มต้นทำให้มีผู้สนใจเอสเทอร์ไอโซไซม์กันมากขึ้น (Liu and Yoshitake. 1984) อ้างโดย (Chatterjee and others. 1988)

Chatterjee และ Rajendra ศึกษาเกี่ยวกับความแปรผันทางพันธุกรรมของเอนไซม์เอสเทอร์ จากอีโมลิฟของหนอนไหมวัย 5 เปรียบเทียบระหว่างหนอนไหม 2 ชนิด คือ หนอนไหมชนิดที่ไซมีการฟักเป็นตัวหนอนได้ 2 ครั้งต่อปี จากการวิเคราะห์ไซโมแกรม ปรากฏว่าทุก ๆ ไซโมแกรมปรากฏแถบทั้งหมด 11 แถบ และแถบที่ 8 และ 9 มีแอกติวิตีสูงกว่าแถบอื่น ๆ (Chatterjee and others. 1988)

ในการศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมในไหม *Bombyx mori* L. ซึ่งมีถิ่นอาศัยทางภูมิศาสตร์แตกต่างกัน ได้แก่ ประเทศญี่ปุ่น ประเทศจีน ประเทศแถบยุโรป และประเทศในเขตร้อน โดยศึกษาไอโซไซม์ของเอนไซม์เอสเทอร์ ในอีโมลิฟของหนอนไหม 96 สายพันธุ์ ด้วยวิธี ทิน แลเยอร์ อาการ์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส (thin layer agar gel electrophoresis) จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างความแปรผันทางพันธุกรรมของเอสเทอร์ไอโซไซม์กับการกระจายและถิ่นที่อยู่อาศัยของไหมชนิดต่าง ๆ พบว่าในหนอนไหมมีแถบเอสเทอร์ไอโซไซม์ 7 แถบดังนี้คือ Est1 Est2 Est3 Est4 Est5 Est6 และ Est7 ไหมที่มีถิ่นที่อยู่ในประเทศญี่ปุ่นและประเทศจีน มีความแปรผันทางพันธุกรรม ใกล้เคียงกันมาก ซึ่งมีความแปรผันทางพันธุกรรมมากกว่าไหมที่มีถิ่นที่อยู่ในประเทศแถบยุโรปและประเทศในเขตร้อน (Alikhan. 1988)

ได้มีการศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมี ของเอนไซม์เอสเทอร์ในอีโมลิฟของไหม *Bombyx mori* L. โดยการศึกษาแอกติวิตีและไซโมแกรมของเอสเทอร์ไอโซไซม์ องค์ประกอบของกรดอะมิโน ความจำเพาะต่อสับสเตรท และผลของอุณหภูมิ

Alikhan ศึกษาเอสเทอร์ไอโซไซม์จากอีโมลิฟ ในระยะที่เป็นตัวหนอนและดักแด้ โดยเปรียบเทียบสายพันธุ์ต่าง ๆ ได้แก่ สายพันธุ์จีน (Jam 124) สายพันธุ์ญี่ปุ่น (Jam 123) สายพันธุ์ลูกผสม (Jam 123 x Jam 124) และสายพันธุ์ไหมป่า *Bombyx mandarina*

จากการตรวจสอบรูปแบบเอสเทอร์ไอโซไซม์ จากไหมเพศผู้และเพศเมียด้วย อากาโรส เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส ปรากฏผลดังนี้

สายพันธุ์จีน (Jam 124) ตรวจพบว่ามี เอสเทอร์ไอโซไซม์ 3 แถบ

สายพันธุ์ญี่ปุ่น (Jam 123) มี 4 แถบ

สายพันธุ์ลูกผสม (Jam 123 x Jam 124) มี 4 แถบ

การศึกษาไอโซไซม์ในไหมสายพันธุ์ญี่ปุ่น (Jam 123) สายพันธุ์ลูกผสม (Jam 123 x Jam 124) และสายพันธุ์ไหมป่า *Bombyx mandarina* พบว่ารูปแบบไอโซไซม์ที่ได้ขึ้นอยู่กับเพศของไหม และ

เนื่องจากเพศของไหมมีผลต่อความแปรปรวนของเอนไซม์ จึงได้เลือกกลุ่มตัวอย่างจากไหมสายพันธุ์จีน ในการศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีด้านอื่น ๆ (Alikhan. 1989)

Alikhan ศึกษาความจำเพาะต่อสับเสตรของเอสเทอร์ไฮโดรไลเซสในระยะเวลาต่าง ๆ ของวงจรชีวิตของไหมทั้งเพศผู้และเพศเมีย ผลปรากฏว่า เอสเทอร์ไฮโดรไลเซสไม่มีความจำเพาะต่อสับเสตร และการศึกษาแอกติวิตีของเอสเทอร์ไฮโดรไลเซส พบว่าในไหมเพศเมียแสดงแอกติวิตีสูงกว่าในไหมเพศผู้ และแอกติวิตีจะลดลงในช่วงตอนปลายของระยะที่เป็นดักแด้ (Alikhan. 1989)

Alikhan ศึกษาความคงตัวต่ออุณหภูมิ (heat stability) ของเอสเทอร์ไฮโดรไลเซสไม่ขึ้นกับชนิดของเพศ โดยที่ แอมไพไรเอส Est1 ซึ่งพบทั้งในระยะที่เป็นตัวหนอนและดักแด้ มีความคงตัวต่ออุณหภูมิมากกว่า Est2 และ Est3 (Alikhan. 1989)

Alikhan ศึกษาชนิดของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบ พบว่าเอสเทอร์ไฮโดรไลเซสมีลำดับของกรดอะมิโนต่างกัน โดยมีกรดอะมิโน อาร์จินีน และ อะลานีน เป็นองค์ประกอบหลัก (Alikhan. 1989)

การศึกษาเอนไซม์ แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทสและเอนไซม์แอลดีไฮด์ ฟอสฟาเทส ในหนอนไหม

Bombyx mori L.

แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส และ แอลดีไฮด์ ฟอสฟาเทส ในหนอนไหม *Bombyx mori* L. เร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของ ฟอสเฟต โมโนเอสเทอร์ เหมือนกันแต่ในสภาพความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่างกัน (Abraham and Bernard. 1967)

แอลดีไฮด์ ฟอสฟาเทส พบในอวัยวะขับถ่ายของไหม (malpighian tube) ซึ่งนอกจากจะช่วยในการขับถ่ายของเหลวแล้ว ยังผลิตสารสีเหลืองคล้ายแป้ง ซึ่งช่วยในการลอกคราบ โดยสารนี้จะแทรกซึมอยู่ระหว่างผิวหนังเก่ากับผิวหนังใหม่ ในขณะที่หนอนไหมมีการลอกคราบสารดังกล่าวนี้เป็นส่วนประกอบของแคลเซียม ออกซาเลต วิตามินบีสอง และกรดยูริก (กรมวิชาการเกษตร. 2523)

Yoshitake และ Akiyama ได้ศึกษาไอโซไซม์ของเอนไซม์ แอลดีไฮด์ ฟอสฟาเทส ในอีโมลิฟของไหม *Bombyx mori* L. และพบว่าการสังเคราะห์เอนไซม์นี้อยู่ภายใต้การควบคุมของโคโดมิแนนท์ อัลลีลส์ (codominant alleles) บนยีนที่ตำแหน่งต่างกัน (Yoshitake and Akiyama. 1964) อ้างโดย (Alikhan. 1989)

มีการศึกษาไอโซไซม์ของเอนไซม์ แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส ในทางเดินอาหารของ หนอนไหม *Bombyx mori* L. ปรากฏแถบไอโซไซม์ 2-3 แถบ (Eguchi , Sawaki and Suzuki. 1971, 1972)

Eguchi and Iwamoto ได้ศึกษาเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์เอสเทอร์ส แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส และโปรติเอส ในทางเดินอาหารของหนอนไหม *Bombyx mori* L. พบว่าเอนไซม์เอสเทอร์สของหนอนไหมวัย 5 มีแอกทิวิตีสูงกว่า แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส และ โปรติเอส (Eguchi and Iwamoto. 1975)

การค้นคว้าวิจัยทางชีวเคมีของไหม *Bombyx mori* L. ในประเทศไทยปัจจุบันได้มีการ เปรียบเทียบแบบแผนลายพิมพ์ ดี เอ็น เอ ของหนอนไหมสายพันธุ์ไทย (KUBP1) และสายพันธุ์ญี่ปุ่น (G1 และ G2) (จิรันทร ยูนิยม และคนอื่น ๆ. 2534) ในการสร้างลายพิมพ์ ดี เอ็น เอ นี้ใช้ เอนไซม์ตัดจำเพาะหลายชนิด ได้แก่ RsaI HaeIII BamHI EcoRI และ PstI ย่อย นิวเคลียร์ ดี เอ็น เอ หลังจากนั้นทำ Southern blot hybridization ด้วย M13 mp19 probe พบว่าลายพิมพ์ ดี เอ็น เอ ของหนอนไหม *Bombyx mori* L. สายพันธุ์ไทย (KUBPI) และสายพันธุ์ญี่ปุ่น (G1 และ G2) ที่เกิดจากการย่อยด้วยเอนไซม์ HaeIII มีความแตกต่างกัน อย่างชัดเจน ดังนั้นการศึกษาแบบแผนลายพิมพ์ ดี เอ็น เอ นี้สามารถใช้ประโยชน์ในการจำแนก สายพันธุ์ของหนอนไหม *Bombyx mori* L. และยังสามารถใช้แสดงความแตกต่างทางพันธุกรรม ของหนอนไหม *Bombyx mori* L. แต่ละตัวในสายพันธุ์เดียวกันได้อีกด้วย

ความมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า

เพื่อศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ เอสเทอร์ส และ แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส ในฮีโมลิม์และทางเดินอาหารของหนอนไหม *Bombyx mori* L. วัย 5 พันธุ์ไทย และพันธุ์ ต่างประเทศ โดยวิธีโพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส

ความสำคัญของการศึกษาค้นคว้า

1. จากการทดลองเพื่อศึกษาไอโซไซม์ของเอนไซม์เอสเทอร์ส และแอลคาไลน์ ฟอสฟาเทสที่แยกได้ และนำมาเขียนแสดงรูปแบบไอโซไซม์ของหนอนไหมสายพันธุ์ต่าง ๆ ทั้งพันธุ์ ไทยและพันธุ์ต่างประเทศ เพื่อใช้เป็นแนวทางในการตรวจสอบและจำแนกสายพันธุ์ไหม โดย เปรียบเทียบกับรูปแบบไอโซไซม์ที่ได้ทำไว้เป็นมาตรฐาน

2. ศึกษาโพลีเมอร์ฟิคของเอนไซม์เอสเทอร์เลส และแอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส ในหนอนไหม *Bombyx mori* L. และใช้เป็นแนวทางในการศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรม และการจำแนกพันธุ์ไหม

ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า

1. ศึกษาารูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์เอสเทอร์เลส และ แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทสจากหนอนไหมทั้งตัว (total enzymes) สายพันธุ์ AC₃ และ TH₂ วัย 1 ถึงวัย 4 โดยวิธีโพลีอะคริลามิด เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส
2. ศึกษาารูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์เอสเทอร์เลสในอีโมลิฟ และทางเดินอาหารของหนอนไหมสายพันธุ์ไทย TH₂ วัย 5 วันที่ 1 ถึง 8
3. ศึกษาารูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์เอสเทอร์เลส และแอลคาไลน์ฟอสฟาเทสในอีโมลิฟและทางเดินอาหารของหนอนไหมสายพันธุ์ไทย AC₃, TH₂ และ นางลายและสายพันธุ์ต่างประเทศ BB, C₁ และ C₃ วัย 5 วันที่ 5

ประโยชน์ของการศึกษาค้นคว้า

1. ทำให้ทราบรูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์เอสเทอร์เลส และ แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทสในอีโมลิฟของหนอนไหมวัย 5 พันธุ์ไทย และพันธุ์ต่างประเทศ
2. ทำให้ทราบรูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ เอสเทอร์เลส และ แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทสในทางเดินอาหารของหนอนไหมวัย 5 พันธุ์ไทย และพันธุ์ต่างประเทศ

บทที่ 2

วิธีการวิจัย

วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. การเตรียมตัวอย่าง

อุปกรณ์

- 1.1 เครื่องวัด พีเอช (Orion 501)
- 1.2 กรรไกร
- 1.3 คีม
- 1.4 หลอดหยด (dropper)
- 1.5 แอลกอฮอล์ 70 %
- 1.6 จานเพาะเชื้อ (petri dish)
- 1.7 ที่หยดสารละลายขนาดเล็ก (micropipette)
- 1.8 หลอดพลาสติกสำหรับใส่ตัวอย่างที่บดแล้วเพื่อนำไปเข้าเครื่องเหวี่ยง (microcentrifuge)
- 1.9 สำลี (ใช้สำลีกรองเนื้อเยื่อโดยใช้หลอดฉีดยาบีบอัด)
- 1.10 หลอดฉีดยาขนาด 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร
- 1.11 เครื่องปั่นชนิดอุณหภูมิต่ำ (refrigerated centrifuge)

2. พันธุ์ไหมที่ใช้ในการทดลอง

ไหม *Bombyx mori* L. ที่นำมาศึกษาได้รับความอนุเคราะห์จากโครงการปรับปรุงพันธุ์ไหม ภาควิชาพันธุศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน

ไหมที่นำมาศึกษาทั้งหมด 6 สายพันธุ์ได้แก่

ไหมสายพันธุ์ไทย AC₃, TH₂ และ นางลาย

ไหมสายพันธุ์ต่างประเทศ BB, C₁ และ C₃

3. การทำอิเล็กโตรโฟเรซิส

อุปกรณ์

- 3.1 ชุดเครื่องมือในการทำอิเล็กโตรโฟเรซิสชนิดแผ่น (slab gel)
- 3.2 ไซริงค์ (syringe) ขนาด 50 ไมโครลิตร
- 3.3 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียม เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส
- 3.4 น้ำยาย้อมแอนไซม์เอสเทอร์และแอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส (ภาคผนวก ก)

3.5 ภาชนะสำหรับใส่น้ำยาล้อมเอนไซม์ (staining box)

3.6 อุปกรณ์ถ่ายภาพเจล

4. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียม เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส

การซีล (Seal)

30 % Acrylamide, 0.8 % Bisacrylamide

10 % Ammonium persulfate

TEMED (N,N,N,N tetramethylethylenediamine)

เซพาเรตติ้ง เจล (Separating gel or Running gel)

30 % Acrylamide, 0.8 % Bisacrylamide

1.5 M Tris-HCl, pH 8.8

10 % Ammonium persulfate

TEMED

สแตคกิ้ง เจล (Stacking gel)

0.5 M Tris-HCl, pH 6.5

30 % Acrylamide, 0.8 % Bisacrylamide

10 % Ammonium persulfate

TEMED

วิธีดำเนินการทดลอง

1. การเตรียมตัวอย่าง

การเตรียมตัวอย่างทุกขั้นตอน ต้องควบคุมอุณหภูมิให้เย็นอยู่เสมอเพื่อรักษาเอกติวิตีของเอนไซม์

1.1 เตรียมเอนไซม์จากหนอนไหมทั้งตัว วัย 1-วัย 4 โดยบดหนอนไหมด้วยแท่งแก้วสำหรับคนสาร แล้วนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นชนิดอุณหภูมิต่ำด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นตุลส่วนที่เป็นของเหลวใส่ด้วยไมโครปิเปตใส่ไว้ในหลอดเก็บตัวอย่าง (microcentrifuge) จำนวนหนอนไหมที่นำมาศึกษาต่อหลอดเก็บตัวอย่างขึ้นอยู่กับวัยของหนอนไหม ได้แก่

หนอนไหมวัย 1 100 ตัว

หนอนไหมวัย 2 60 ตัว

หนอนไหมวัย 3 40 ตัว

หนอนไหมวัย 4 20 ตัว

1.2 เตรียมอีโมลิฟจากหนอนไหมที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 1-8 พันธุ์ละ 10 ตัว โดยใช้กรรไกรตัดขาหน้าของหนอนไหม ให้อีโมลิฟหยดลงในหลอดเก็บตัวอย่างที่เย็น และมีฟีนิลไทโอยูเรีย (phenylthiourea) อยู่เล็กน้อย (Chatterjee and others. 1988) หลอดละ 1 ตัว แล้วนำเข้าเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้ (Tanaka and Kusano. 1980)

1.3 เตรียมเอนไซม์จากทางเดินอาหารของหนอนไหม ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 1-8 พันธุ์ละ 10 ตัว โดยใช้กรรไกรผ่าตัดตามแนวกลางลำตัว โดยเริ่มจากส่วนทวารหนัก ไปจนถึงช่องปากของหนอนไหม ใช้คีมค้อย ๆ คีบส่วนของลำไส้ทั้งหมดออกมา (พยายามอย่าให้เนื้อเยื่อเกิดการฉีกขาด) วางในจานเพาะเชื้อล้างด้วยน้ำกลั่น และซับด้วยกระดาษทิชชูให้แห้ง คีบส่วนของลำไส้ทั้งหมด ใส่ในหลอดเก็บตัวอย่างเก็บตัวอย่างที่เย็นและมีฟีนิลไทโอยูเรียอยู่เล็กน้อย หลอดละ 1 ตัว บดด้วยแท่งแก้ว แล้วนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นชนิดอุณหภูมิต่ำด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นดูดส่วนที่เป็นของเหลวใส่ด้วยไมโครปิเปต ใส่ไว้ในหลอดเก็บตัวอย่าง แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้ (Eguchi and Iwamoto. 1976)

สำหรับหนอนไหมวัย 5 วันที่ 7 และ 8 เมื่อนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นชนิดอุณหภูมิต่ำ แล้ว ส่วนที่เป็นของเหลวจะข้นกว่าหนอนไหมวัย 5 วันที่ 1-6 เนื่องจากมีไขมันสูง ให้นำส่วนที่เป็นของเหลวนี้ไปกรองเพื่อกำจัดไขมัน โดยใช้กระบอกฉีดยาที่มีสาลี่อุดปลายหลอดและดันก้านหลอดฉีดยาให้ของเหลวไหลออกมา ซึ่งส่วนที่เป็นของเหลวที่ได้นี้จะใสขึ้น เก็บส่วนนี้ไว้ในหลอดเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้

2. การแยกเอนไซม์โดยเทคนิค โพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส (Davis. 1964; Ornstein. 1964)

2.1 การเตรียมแผ่นเจล

นำแผ่นกระจกขนาด 8 x 10 เซนติเมตร ที่ล้างสะอาดแล้วซับด้วยกระดาษทิชชูทั้งไว้ให้แห้ง หลังจากนั้นเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ประกอบแผ่นกระจกเข้าด้วยกัน และนำแผ่นซิลิโคน (silicone) หรือพลาสติก (plastic) ที่ทาซิลิโคนกรีซ (silicone grease) ไปวางระหว่างแผ่นกระจกทั้งสองติดตัวหนีบ (clip) เพื่อยึดแผ่นกระจกทั้งสองไว้

ซีลล์ (seal) ด้านล่างของแผ่นกระจกให้เรียบร้อยแล้วให้ดูดสารละลาย เซฟาเรตติง เจล ด้วยหลอดหยดใส่ลงในระหว่างแผ่นกระจกทั้งสอง ให้มีความสูงประมาณ 5.5

เซนติเมตร และเติมน้ำกลั่นเล็กน้อยเพื่อรักษาผิวหน้าเจลให้เรียบ ทั้งให้เจลแข็งตัวประมาณ 20 นาที เมื่อเจลแข็งตัวแล้วเทน้ำที่ผิวหน้าเจลออก ใส่หวี (comb) ซึ่งเป็นแผ่นพลาสติกเป็นซี่ฟัน 11 ซี่ แต่ละซี่กว้าง 0.5 เซนติเมตร ยาว 2.0 เซนติเมตร เพื่อให้ สแตกกิง เจล เป็นร่องลึก ลงไป สำหรับใส่สารตัวอย่าง เมื่อใส่สแตกกิง เจล จนเต็มแผ่นแล้วตั้งทิ้งไว้จนเจลแข็งตัว เติม running buffer ให้ท่วมเจล แล้วดึงหวีออก

2.2 การเตรียมตัวอย่างทดสอบ

ปริมาณสารตัวอย่างที่ใช้ทดสอบจากส่วนที่เป็นของเหลวใสจากหนอนไหมทั้งตัว สำหรับไหมพันธุ์ไทยใช้ 20 ไมโครลิตร และไหมพันธุ์ต่างประเทศใช้ 15 ไมโครลิตร

ปริมาณตัวอย่างอีโมลิฟของไหมพันธุ์ไทยใช้ 15 ไมโครลิตร และพันธุ์ต่างประเทศใช้ 8 ไมโครลิตร

สำหรับตัวอย่างที่เตรียมจากทางเดินอาหารของไหมพันธุ์ไทย ใช้ 20 ไมโครลิตร และพันธุ์ต่างประเทศใช้ 12 ไมโครลิตร

ดูตสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ ใส่ลงในหลอดทดสอบหลอดละ 1 ตัวอย่าง เติมโบรโมฟีนอลบลู (bromophenol) 0.5 เปอร์เซ็นต์ 5 ไมโครลิตร และกลีเซอรอล 1.0 เปอร์เซ็นต์ 5 ไมโครลิตร ทำให้ส่วนผสมในหลอดทดลองเข้ากันด้วยเครื่องผสม

2.3 การแยกเอนไซม์

ใช้ไซริงค์ดูดสารทดสอบที่เตรียมในข้อ 2.3 ใส่ลงในหลอดเจล หลุมละ 1 ตัวอย่าง โดยอีโมลิฟของหนอนไหมพันธุ์ไทยใช้ 20 ไมโครลิตร และส่วนของทางเดินอาหาร ใช้ 25 ไมโครลิตร สำหรับไหมพันธุ์ต่างประเทศ ใช้อีโมลิฟ 12 ไมโครลิตร และส่วนของทางเดินอาหารใช้ 17 ไมโครลิตร เมื่อใส่สารทดสอบเรียบร้อยแล้ว จ่ายกระแสไฟฟ้ากระแสตรง 30 มิลลิแอมแปร์ สังเกตตำแหน่งสีของโบรโมฟีนอลบลู เมื่อเคลื่อนมาถึงขอบเจลส่วนที่ซีลไว้ จึงปิดเครื่องกำเนิดกระแสไฟฟ้า

2.4 การย้อมเอนไซม์เอสเทอเรส

หาคำแหน่ง เอนไซม์ เอสเทอเรสบนแผ่น เจล โดยแยกเอาแผ่นโพลีอะครีลาไมด์ ออกจากแผ่นกระจก แล้วนำแผ่นเจลไปย้อมเอสเทอเรสไอโซไซม์ ด้วยน้ำยาย้อมเอนไซม์ เอสเทอเรส (ภาคผนวก ก) บ่มในที่มืดประมาณ 1-2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ล้างแผ่นเจลด้วยน้ำกลั่น แล้วแช่แผ่นเจลในน้ำยากรดอะซิติก 7 เปอร์เซ็นต์ และกลีเซอรอล 10 เปอร์เซ็นต์ ประมาณ 12 ชั่วโมง

2.5 การย้อมเอนไซม์แอลคาไลน์ฟอสฟาเทส

นำแผ่นเจลซึ่งอยู่ระหว่างแผ่นกระจกออกมา แช่ในน้ำยาย้อมเอนไซม์ แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส (ภาคผนวก ก) บ่มในที่มืด 1-5 ชั่วโมง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ล้างแผ่นเจลด้วยน้ำกลั่น แล้วแช่แผ่นเจลในน้ำยา fixing solution (ภาคผนวก ก) หลังจากย้อมสีแล้วเก็บเจลในถุงพลาสติกที่ 4 องศาเซลเซียส

2.6 การแปลผลจากแถบไอโซไซม์

2.6.1 ถ่ายภาพเจล เพื่อศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์เอสเทอร์เลส และแอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส ของหนอนไหมสายพันธุ์ต่าง ๆ

2.6.2 เขียนรูปแบบไซโมแกรม (zymogram pattern) ตามความเข้มของแถบสี และระยะทางที่แถบสีต่าง ๆ ของเอนไซม์เคลื่อนที่ไปจากจุดเริ่มต้น

2.6.3 การคำนวณค่า RF ของแถบไอโซไซม์ (อัตราส่วนระหว่างระยะทางที่ไอโซไซม์เคลื่อนที่ไปบนแผ่นเจลในสนามไฟฟ้าต่อระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่)

บทที่ 3
ผลการวิจัย

การศึกษารูปแบบเอสเทอร์ไฮโดรไลซิสของหนอนไหมในระยะต่าง ๆ

1. คศึกษารูปแบบเอสเทอร์ไฮโดรไลซิสจากส่วนที่เป็นของเหลวทั้งตัว ของหนอนไหมสายพันธุ์ไทย 2 สายพันธุ์ คือ AC_3 และ TH_2 ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 1 - วัย 4 จากการแยกเอโนไซม์เอสเทอร์ จากส่วนที่เป็นของเหลวทั้งตัวของหนอนไหมสายพันธุ์ไทย 2 สายพันธุ์ คือ AC_3 และ TH_2 ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 1 - วัย 4 ด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิส ผลการทดลองที่ได้แสดงดังภาพประกอบ 2(ก) เมื่อนำผลการทดลองมาเขียนรูปแบบไฮโดรไลซิสของเอโนไซม์เอสเทอร์ดังภาพประกอบ 2(ข) พบว่าแถบเอสเทอร์ไฮโดรไลซิสของหนอนไหมสายพันธุ์ AC_3 และ TH_2 มีจำนวนแถบไฮโดรไลซิส 4 แถบเท่ากัน และแถบไฮโดรไลซิสแต่ละแถบมีค่า Rf ใกล้เคียงกัน ซึ่งแสดงด้วย TEst1 TEst2 TEst3 และ TEst4 ตามลำดับ ในตาราง 2 แถบสีที่มีความคมชัดปรากฏอยู่ในส่วนด้านล่างของเจลมากกว่าด้านบน

2. คศึกษารูปแบบเอสเทอร์ไฮโดรไลซิสจากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ TH_2 ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 1 - 8 จากการแยกเอโนไซม์เอสเทอร์ จากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ TH_2 ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 1 - 8 ด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิส ผลการทดลองที่ได้แสดงดังภาพประกอบ 3(ก), (ข), (ค), (ง), (จ), (ฉ), (ช) และ(ช) จากการตรวจเอสเทอร์ไฮโดรไลซิส พบว่าแถบไฮโดรไลซิสมีสีเข้มขึ้นเรื่อย ๆ เริ่มตั้งแต่หนอนไหมมีการเจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 1 ไปจนเข้มที่สุดในวันที่ 8

เอสเทอร์ไฮโดรไลซิสจากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ TH_2 ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 ให้แถบไฮโดรไลซิสซึ่งปรากฏเป็นแถบสีที่มีความคมชัดและมีจำนวนของแถบไฮโดรไลซิสมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับแถบไฮโดรไลซิสของหนอนไหมที่เจริญอยู่ในวัย 5 ในระยะอื่น ๆ แถบไฮโดรไลซิสที่ตรวจพบมีประมาณ 12 แถบ ซึ่งสามารถจัดแบ่งเป็นแถบสีหลักได้ 4 แถบ คือ HEst1 HEst2 HEst3 และ HEst4 แสดงดังภาพประกอบ 5(ข) ดังนั้นในการศึกษารูปแบบไฮโดรไลซิสของเอโนไซม์เอสเทอร์และแอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส ของหนอนไหมสายพันธุ์ไทย AC_3 , TH_2 , นางลาย และสายพันธุ์ต่างประเทศ BB, C_1 และ C_3 จึงเลือกเก็บตัวอย่างจากหนอนไหมที่มีการเจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5

3. ศึกษาารูปแบบเอสเทอร์ไอโซไซม์จากอีโมลิฟของหนอนไหมพันธุ์ไทยและพันธุ์ต่างประเทศ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 การแยกเอนไซม์เอสเทอร์จากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ไทย AC_3 , TH_2 , นางลาย และสายพันธุ์ต่างประเทศ BB, C_1 และ C_3 ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 ด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิส ผลการทดลองแสดงดังภาพประกอบ 4(ก) 5(ก), 6(ก), 7(ก), 8(ก) และ 9(ก) เมื่อนำผลการทดลองมาเขียนรูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์เอสเทอร์ดังภาพประกอบ 4(ข), 5(ข), 6(ข), 7(ข), 8(ข) และ 9(ข) แถบไอโซไซม์ที่เคลื่อนที่ไปบนแผ่นเจล จากจุดเริ่มต้นซึ่งเป็นหัวลบไปยังหัวบวกมีจำนวนแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ แต่สามารถจัดแบ่งเป็นแถบสีหลักได้ 4 แถบเท่ากัน คือ HEst1 HEst2 HEst3 และ HEst4 ซึ่งแต่ละแถบมี Rf ใกล้เคียงกัน ข้อมูลแสดงในตาราง 3 ในทุกกรณีแถบสีที่มีความคมชัดปรากฏอยู่ในส่วนด้านล่างของเจลมากกว่าด้านบน

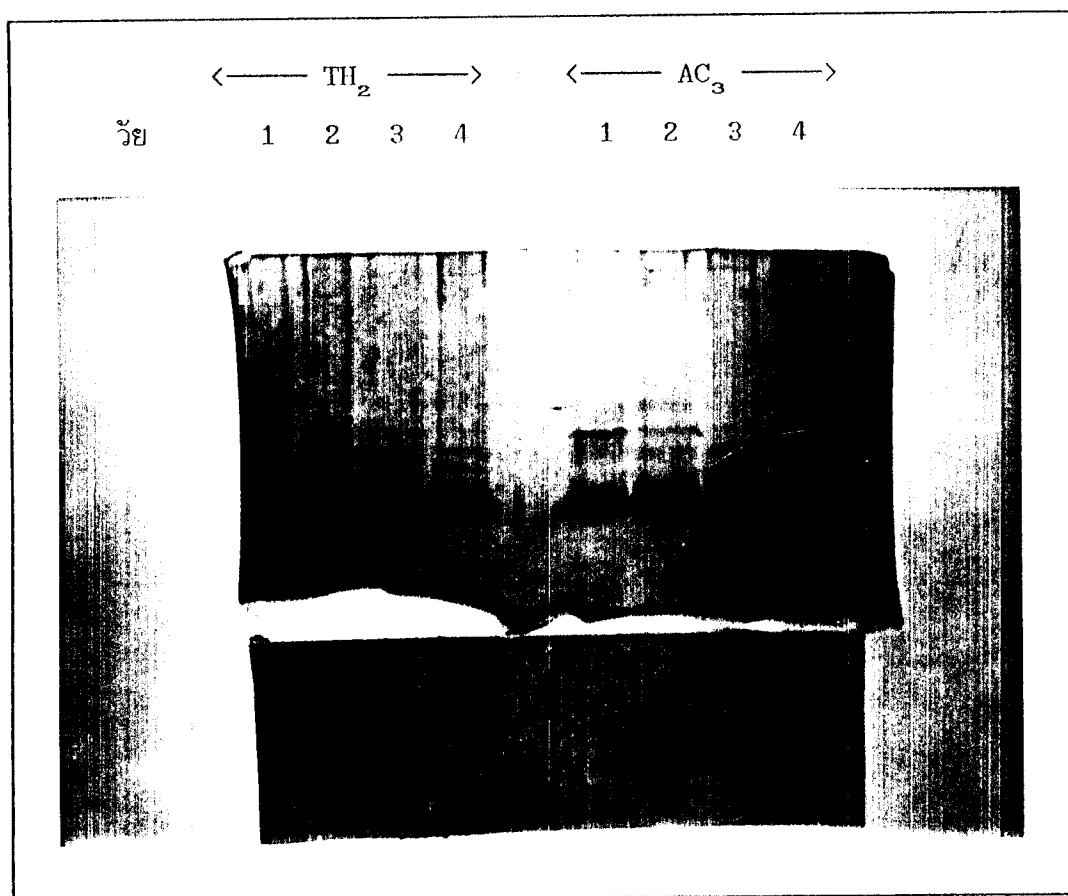
4. ศึกษาารูปแบบเอสเทอร์ไอโซไซม์จากทางเดินอาหารของหนอนไหมพันธุ์ไทยและพันธุ์ต่างประเทศ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 การแยกเอนไซม์เอสเทอร์จากทางเดินอาหารของหนอนไหมสายพันธุ์ไทย AC_3 , TH_2 , นางลาย และสายพันธุ์ต่างประเทศ BB, C_1 และ C_3 ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 ด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิส ผลการทดลองแสดงดังภาพประกอบ 10(ก), 11(ก), 12(ก), 13(ก), 14(ก) และ 15(ก) เมื่อนำผลการทดลองมาเขียนรูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์เอสเทอร์ดังภาพประกอบ 10(ข), 11(ข), 12(ข), 13(ข), 14(ข) และ 15(ข) แถบไอโซไซม์ที่เคลื่อนที่ไปบนแผ่นเจล จากจุดเริ่มต้นซึ่งเป็นหัวลบไปยังหัวบวกมีจำนวนแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ และสามารถจัดแบ่งเป็นแถบสีหลักได้ 3 แถบเท่ากัน คือ GEst1 GEst2 และ GEst3 ซึ่งแต่ละแถบมี Rf ใกล้เคียงกัน ข้อมูลแสดงในตาราง 4 และแถบสีที่มีความคมชัดปรากฏอยู่ในส่วนด้านล่างของเจลมากกว่าด้านบน

การศึกษารูปแบบไอโซไซม์ แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส ของหนอนไหมในระยะต่าง ๆ

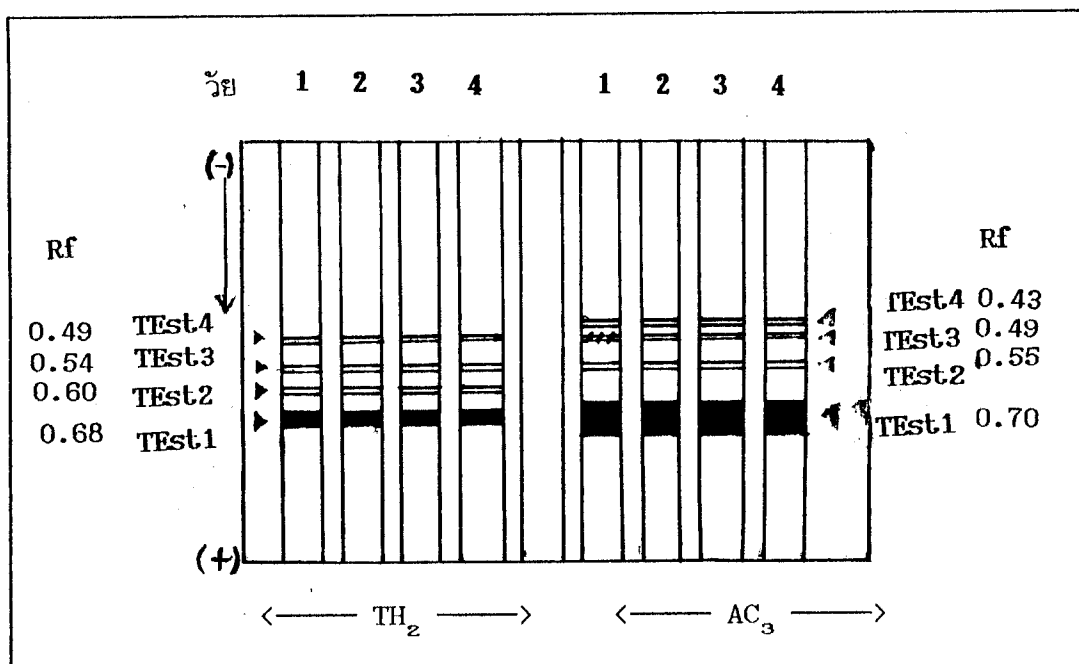
1. ศึกษาารูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส จากส่วนที่เป็นของเหลวทั้งตัวของหนอนไหมสายพันธุ์ AC_3 และ TH_2 ที่เจริญอยู่ในวัย 1 - วัย 4 การแยกเอนไซม์แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส จากส่วนที่เป็นของเหลวทั้งตัวของหนอนไหมสายพันธุ์ไทย 2 สายพันธุ์ คือ AC_3 และ TH_2 ที่เจริญอยู่ใน ระยะวัย 1 ถึง วัย 4 ด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิส ผลการทดลองที่ได้แสดงดังภาพประกอบ 18(ก) เมื่อนำผลการทดลองมาเขียนรูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์แอลคาไลน์ฟอสฟาเทส ดังภาพประกอบ 18(ข) พบว่ามีจำนวนแถบไอโซไซม์ 2 แถบเท่ากัน และแต่ละแถบมีค่า Rf ใกล้เคียงกัน ซึ่งแสดงด้วย APS1 และ APS2 ตามลำดับ

2. ศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทสจากอีโมลิฟของหนอนไหมพันธุ์ไทยและพันธุ์ต่างประเทศ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 การแยกไอโซไซม์แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทสในอีโมลิฟของหนอนไหมด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟเรซิส พบว่าในการตรวจสอบรูปแบบ ไอโซไซม์จะต้องใช้ปริมาณของอีโมลิฟเพิ่มมากขึ้นจาก 12 ไมโครลิตรเป็น 25 ไมโครลิตร แถบ ไอโซไซม์ที่ได้ปรากฏเป็นแถบสีที่จางมาก และไม่สามารถบอกความแตกต่างของแถบไอโซไซม์ได้ ชัดเจนผลการทดลอง ดังภาพประกอบ 19

3. ศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส จากทางเดินอาหาร ของหนอนไหมพันธุ์ไทยและพันธุ์ต่างประเทศ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 การแยกเอนไซม์ แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส จากทางเดินอาหารของหนอนไหมสายพันธุ์ไทย AC_3 , TH_2 , นางลาย และสายพันธุ์ต่างประเทศ $BB C_1$ และ C_3 ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 ด้วยเทคนิค อิเล็กโตรโฟเรซิส ผลการทดลองแสดงดังภาพประกอบ 20(ก), 21(ก), 22(ก), 23(ก), 24(ก) และ 25(ก) เมื่อนำผลการทดลองมาเขียนรูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์เอสเทอร์ส ดังภาพประกอบ 20(ข), 21(ข), 22(ข), 23(ข), 24(ข) และ 25(ข) พบว่ามีจำนวน ไอโซไซม์แตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ และสามารถจัดแบ่งเป็นแถบสีหลักได้ 3 แถบ ซึ่งแสดง ด้วย $APs1$, $APs2$ และ $APs3$ ข้อมูลแสดงในตาราง 5 ลักษณะแถบไอโซไซม์ที่ตรวจพบเป็น แถบสีที่มีความหนา ไม่คมชัดเหมือนกับแถบเอสเทอร์สไอโซไซม์

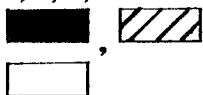


ภาพประกอบ 2(ก) เอสเทอร์ไฮโซไซม์ที่แยกจากส่วนที่เป็นของเหลวทั้งตัวของหนอนไหม
 สายพันธุ์ TH_2 และ AC_3 ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 1 ถึง วัย 4 วิเคราะห์ด้วยเทคนิค
 โพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส



ภาพประกอบ 2(ข) รูปแบบของเอสเทอร์ไอโซไซม์จากส่วนที่เป็นของเหลวทั้งตัวของหนอน
ไหมสายพันธุ์ TH₂ และ AC₃ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 1 ถึง วัย 4 วิเคราะห์ด้วยเทคนิค
โพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส

1, 2, 3, 4



TEst1 , TEst2

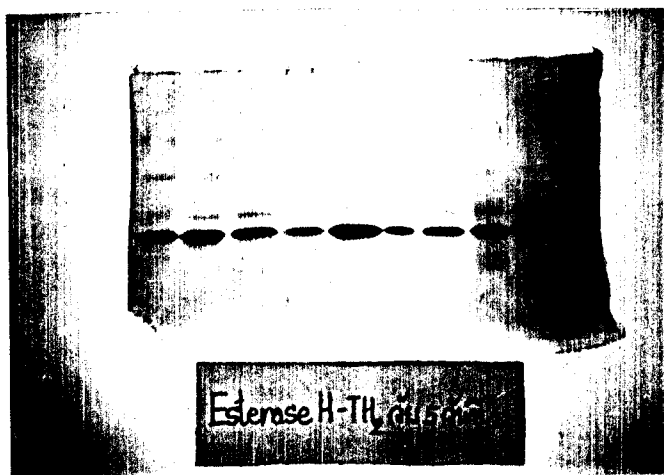
TEst3 , TEst4

: หนอนไหมที่เจริญอยู่ในระยะวัย 1 ถึง วัย 4

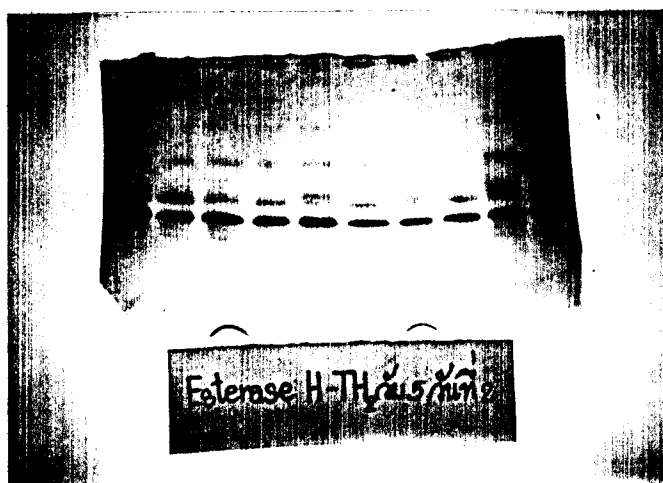
: แถบไอโซไซม์ที่มีความเข้มของสีของแอนไซม์เอสเทอร์
เรียงลำดับจากสีที่มีความเข้มมากไปหาสีที่มีความเข้มน้อย

: แถบของแอนไซม์เอสเทอร์ ที่มีการเคลื่อนที่ในเจลเรียง
ลำดับจาก แถบที่มีการเคลื่อนที่ได้เร็วไปหาแถบที่มีการเคลื่อนที่
ได้ช้า

No. 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

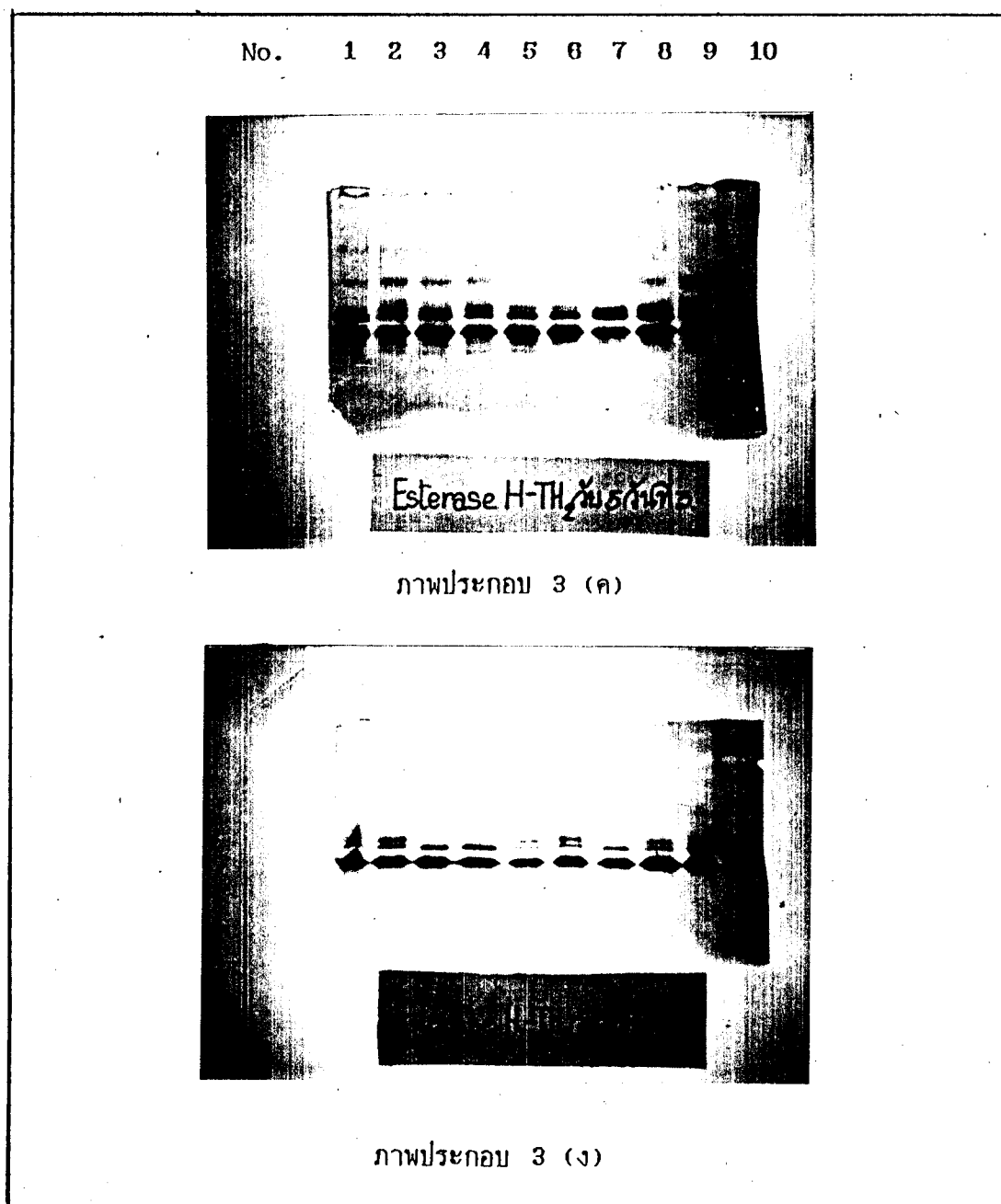


ภาพประกอบ 3 (ก)



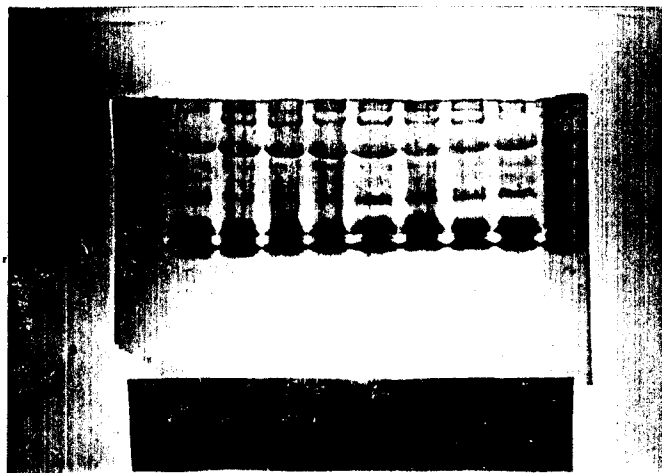
ภาพประกอบ 3 (ข)

ภาพประกอบ 3 (ก), (ข) เอสเทอร์ไฮโดรไลซิสจากอีโมลิฟของหนองไหมสายพันธุ์ TH₂ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 1 - 2 อย่างละ 10 ตัว วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส

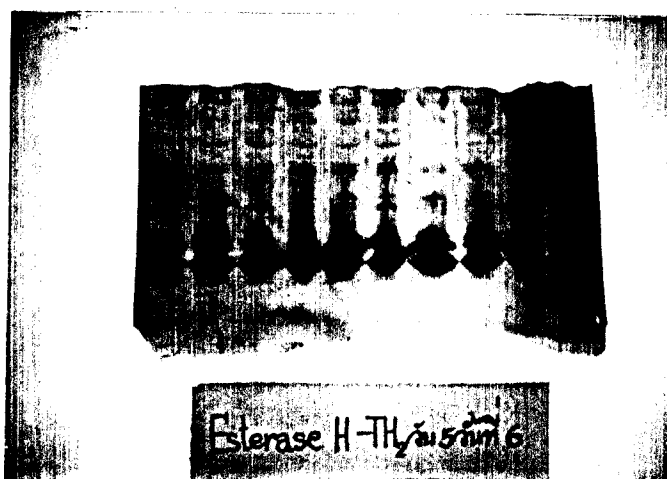


ภาพประกอบ 3 (ค), (ง) เอสเทอเรสไอโซไซม์จากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ TH₂ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 3 - 4 อย่างละ 10 ตัว วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส

No. 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

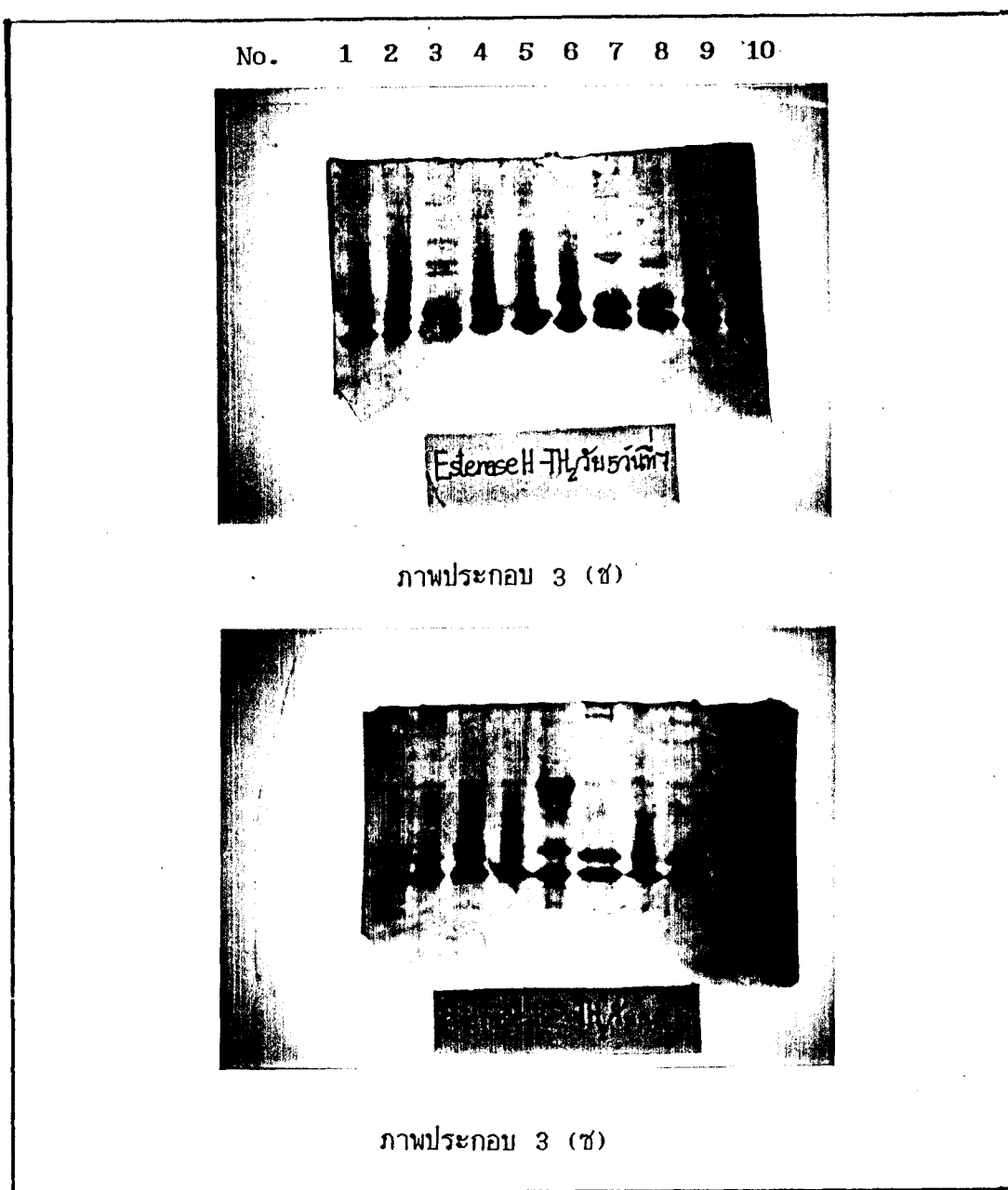


ภาพประกอบ 3 (จ)

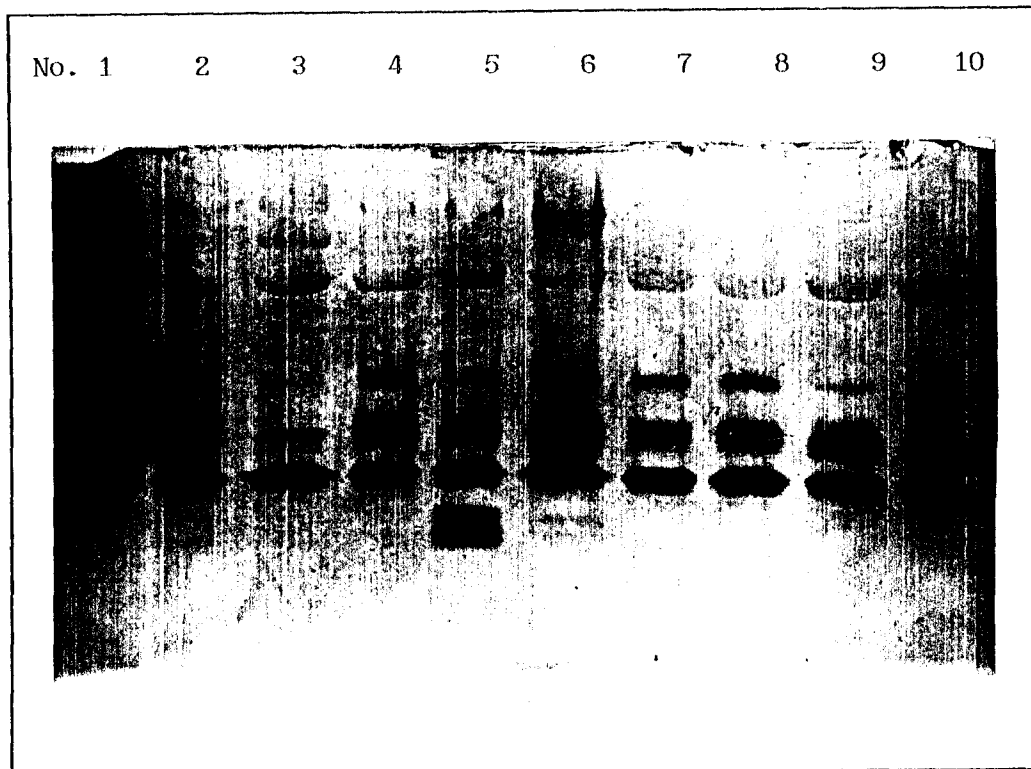


ภาพประกอบ 3 (ฉ)

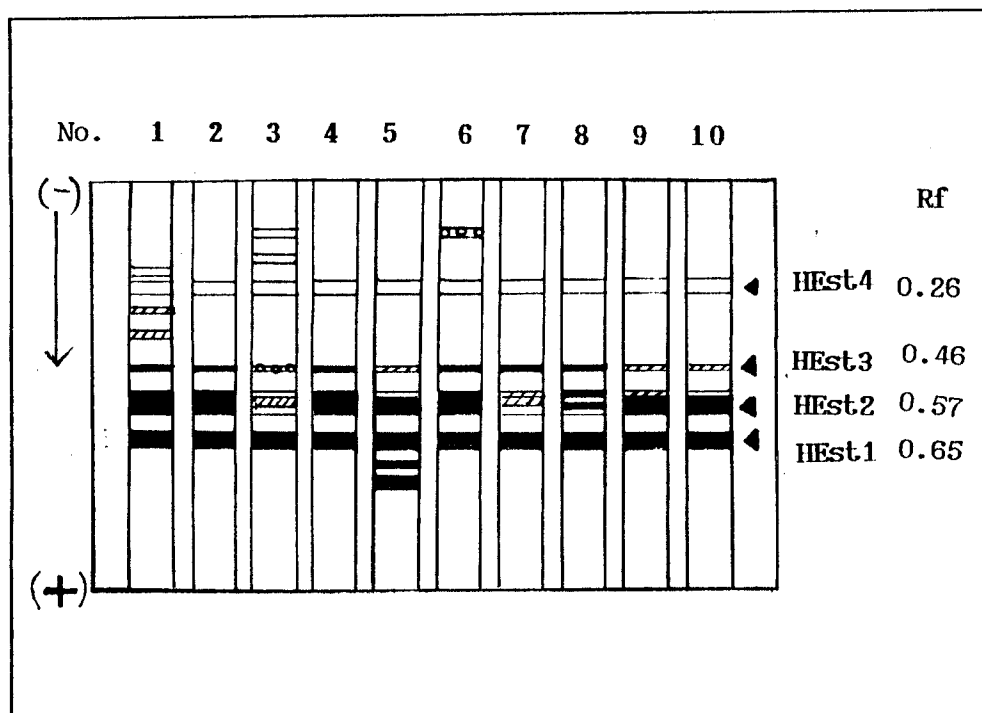
ภาพประกอบ 3 (จ), (ฉ) เอสเทอเรสไอโซไซม์จากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ TH₂ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 - 6 อย่างละ 10 ตัว วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส



ภาพประกอบ 3 (ช), (ซ) เอสเทอร์ไฮโดรไลซิสจากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ TH_2 ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 7 - 8 อย่างละ 10 ตัว วิเคราะห์ด้วยเทคนิค โพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส

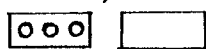


ภาพประกอบ 4 (ก) เอสเทอร์เอสไอโซไซม์จากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ AC_3 ที่เจริญ
อยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจล
อิเล็กโตรโฟเรซิส



ภาพประกอบ 4 (ข) รูปแบบของเอสเทอร์ไอโซไซม์จากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ AC_3 ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส

1, 2, 3, ..., 10



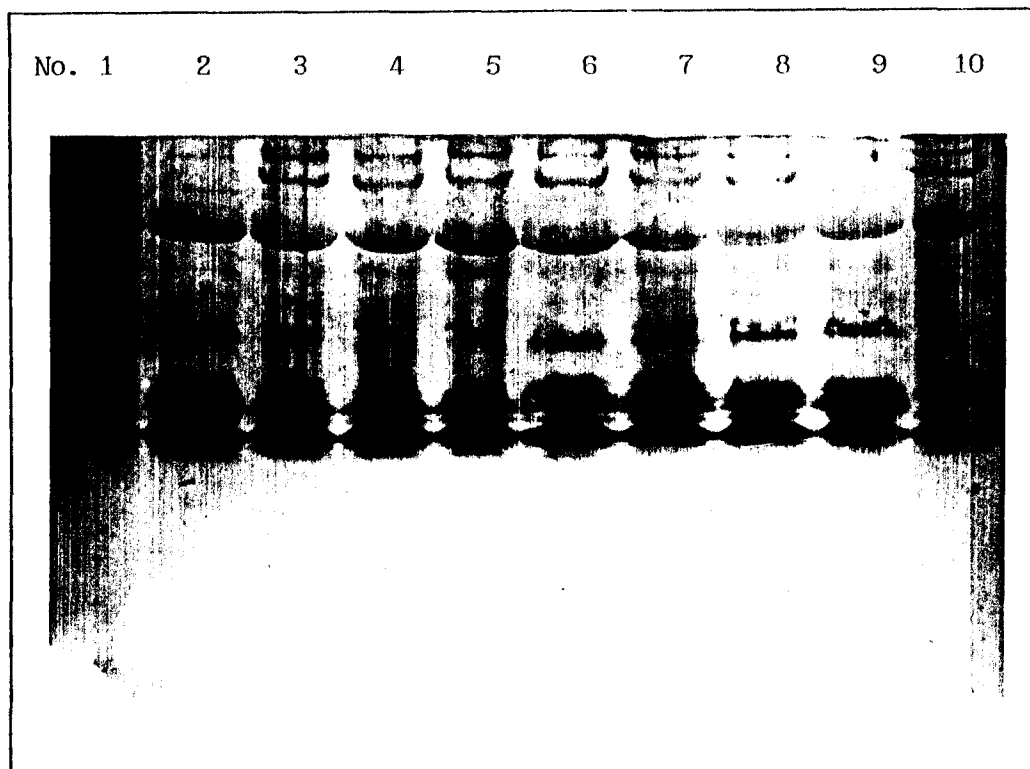
HEst1, HEst2

HEst3, HEst4

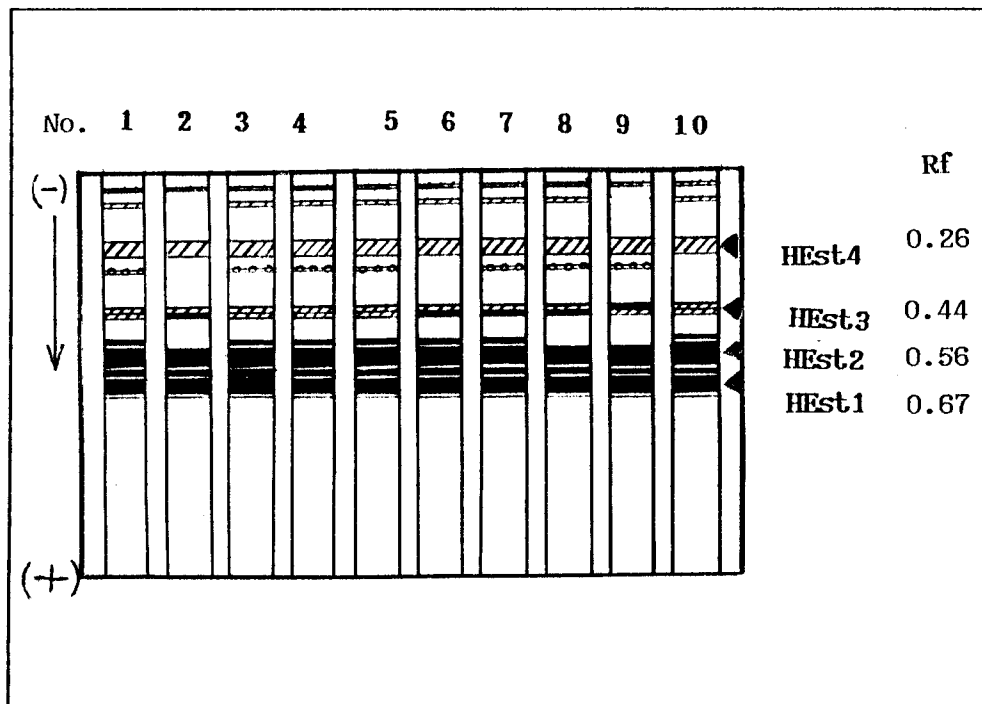
: หนอนไหมที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว

: แถบไอโซไซม์ที่มีความเข้มของสีย้อมแอนไซม์เอสเทอร์ เรียงลำดับจากสีที่มีความเข้มมากไปหาสีที่มีความเข้มน้อย

: แถบของแอนไซม์เอสเทอร์ ที่มีการเคลื่อนที่ในเจล เรียงลำดับจากแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้เร็วไปหาแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้ช้า

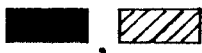


ภาพประกอบ 5 (ก) เอสเทอร์ไฮโซไซม์จากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ TH_2 ที่เจริญ
 อยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจล
 อิเล็กโตรโฟเรซิส



ภาพประกอบ 5 (ข) รูปแบบของเอสเทอร์ไอโซไซม์จากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ TH_2 ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส

1, 2, 3, ..., 10



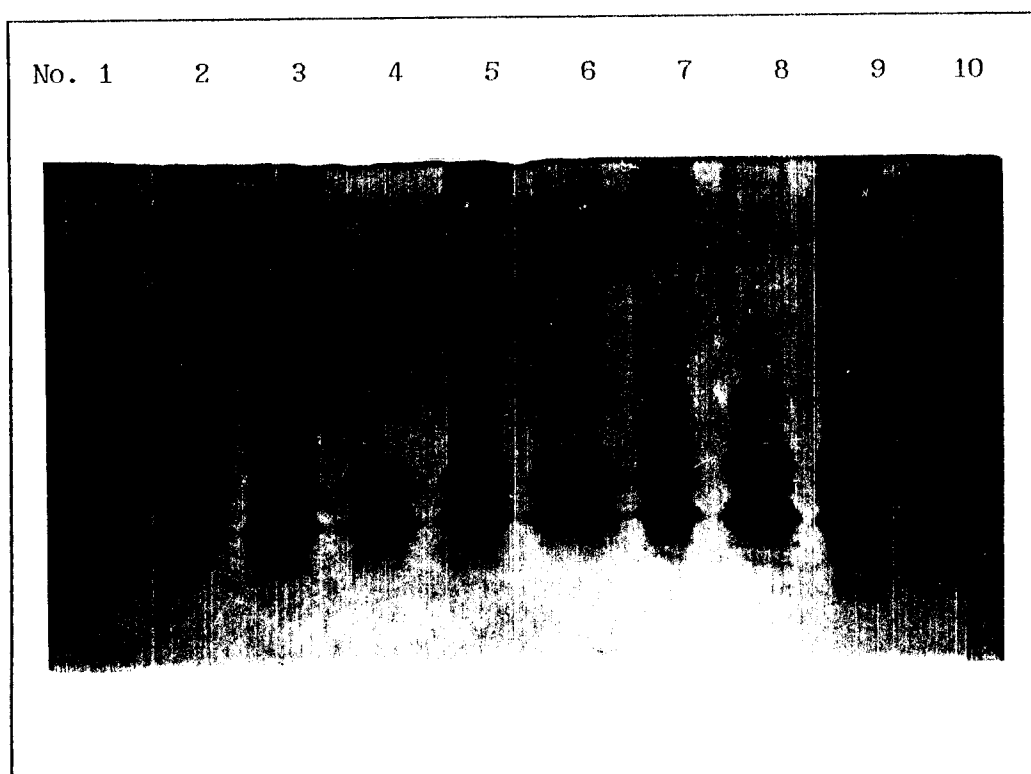
HEst1 , HEst2

HEst3 , HEst4

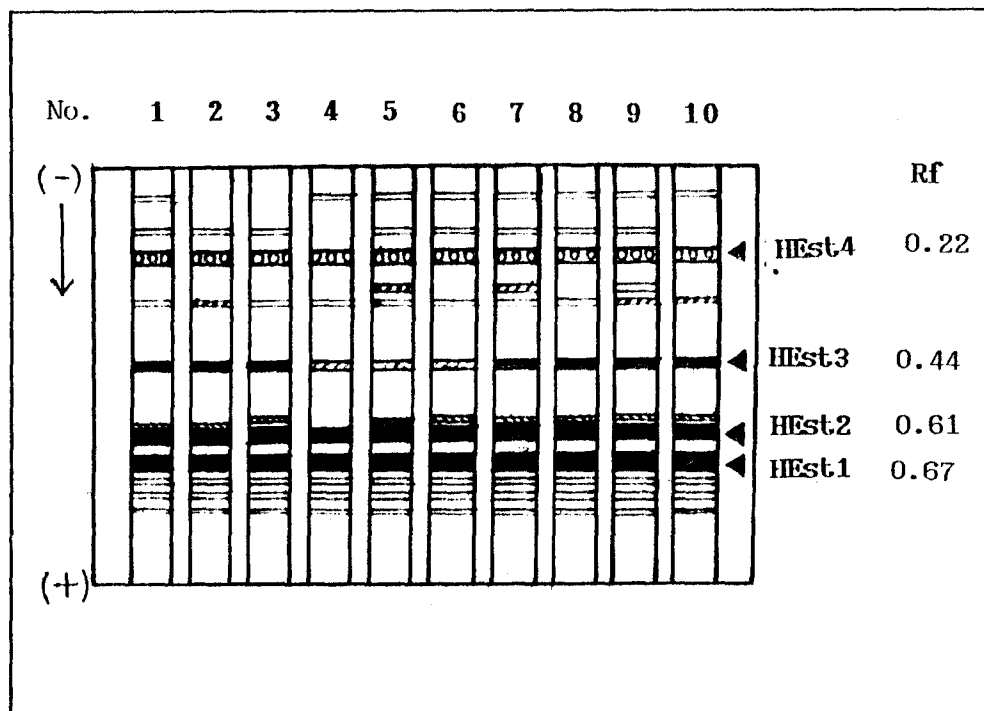
: หนอนไหมที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว

: แถบไอโซไซม์ที่มีความเข้มของสีย้อมเอนไซม์เอสเทอร์ส เรียงลำดับจากสีที่มีความเข้มมากไปหาสีที่มีความเข้มน้อย

: แถบของเอนไซม์เอสเทอร์ส ที่มีการเคลื่อนที่ในเจล เรียงลำดับจากแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้เร็วไปหาแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้ช้า

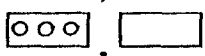


ภาพประกอบ 6 (ก) เอสเทอร์สไอโซไซม์จากสีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ นางลาย ที่
เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจล
อิเล็กโตรโฟรีซิส



ภาพประกอบ 6 (ข) รูปแบบของเอสเทอร์ไอโซไซม์จากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์นางลาย ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจลอิเล็กโตรโฟเรซิส

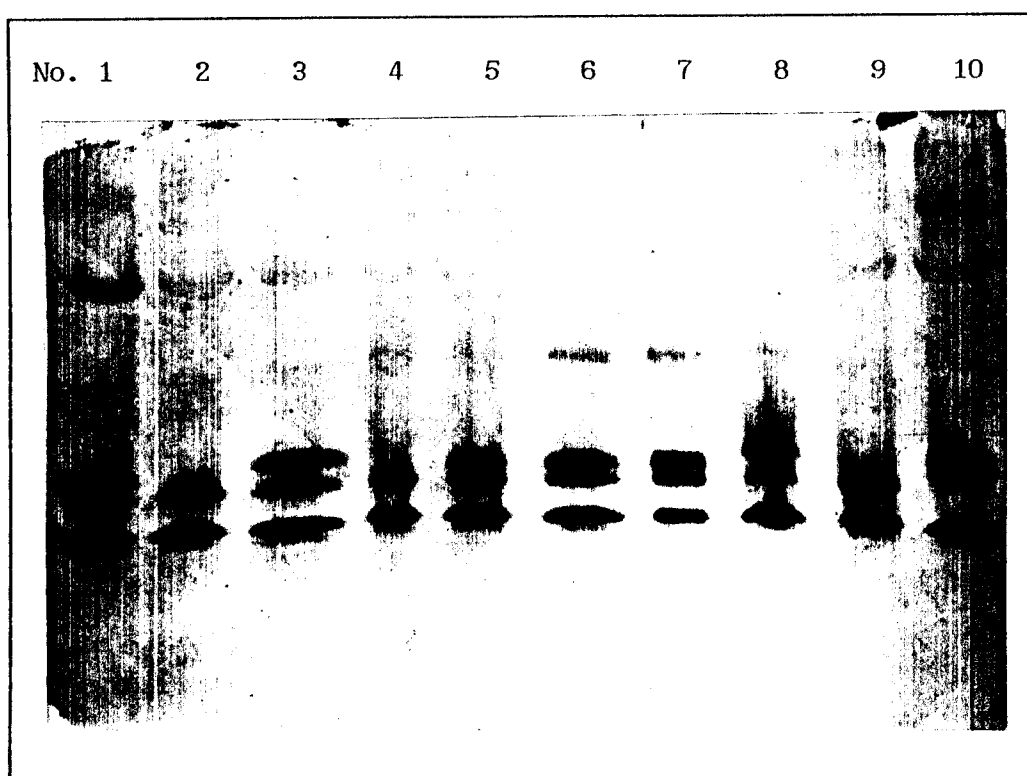
1, 2, 3, ..., 10



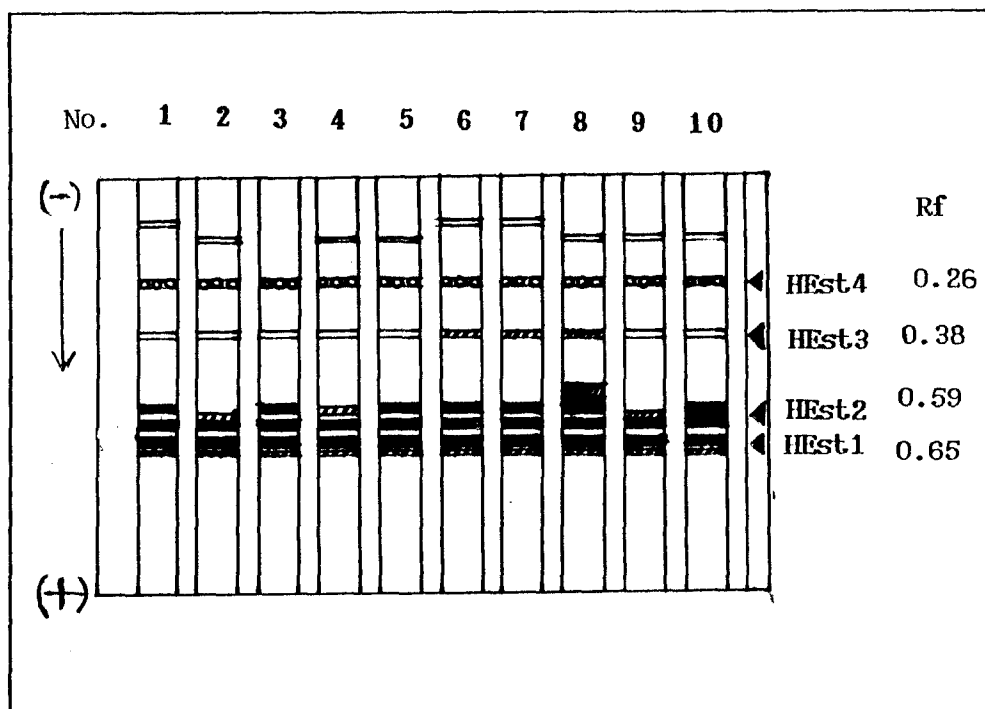
HEst1 , HEst2

HEst3 , HEst4

- : หนอนไหมที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว
- : แถบไอโซไซม์ที่มีความเข้มของสีย้อมเอนไซม์เอสเทอร์เรียงลำดับจากสีที่มีความเข้มมากไปหาสีที่มีความเข้มน้อย
- : แถบของเอนไซม์เอสเทอร์ ที่มีการเคลื่อนที่ในเจลเรียงลำดับจากแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้เร็วไปหาแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้ช้า

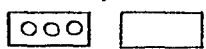


ภาพประกอบ 7 (ก) เอสเทอร์สไอโซไซม์จากฮีโมลิพของหนอนไหมสายพันธุ์ BB ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส



ภาพประกอบ 7 (ข) รูปแบบของเอสเทอร์ไฮโดรไลซ์จากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ BB ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส

1, 2, 3, ..., 10



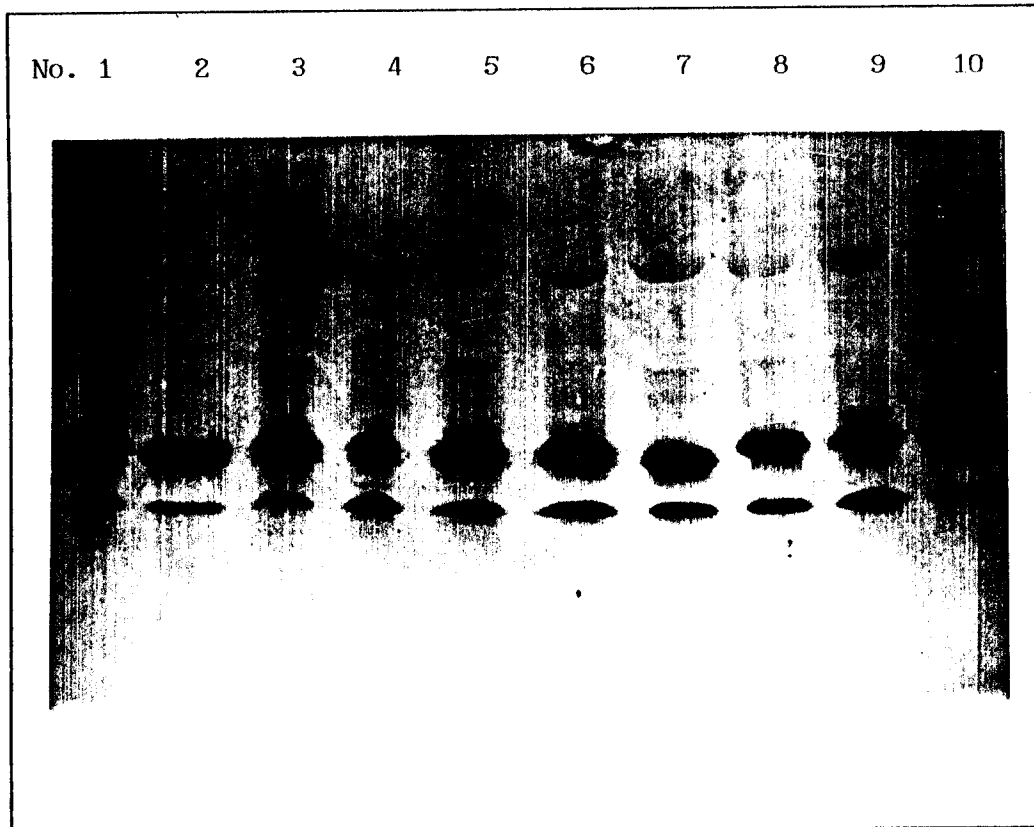
HEst1 , HEst2

HEst3 , HEst4

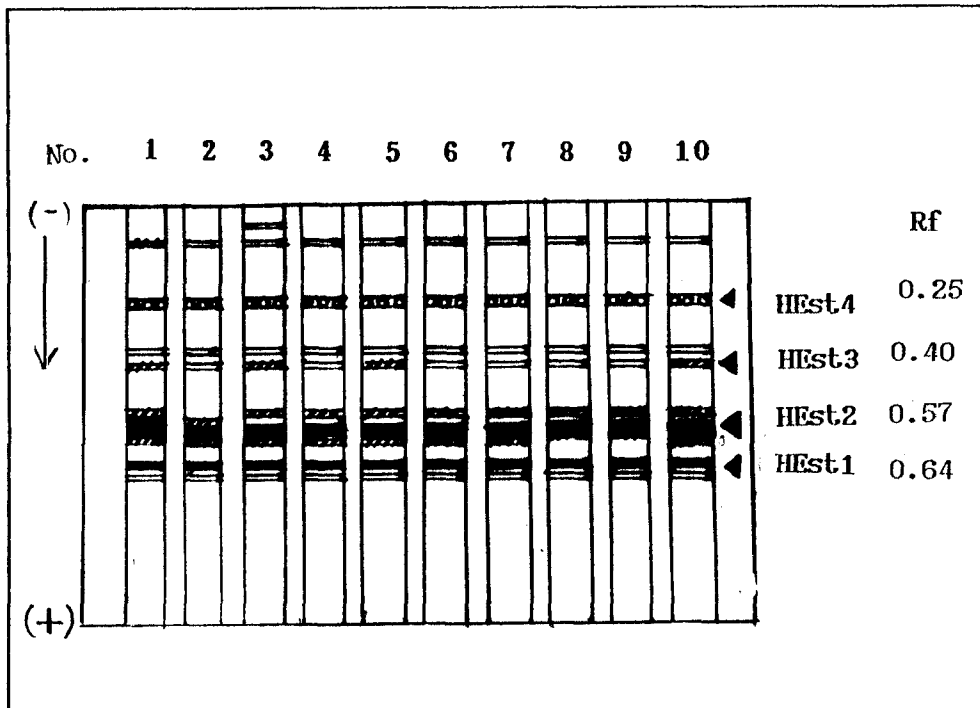
: หนอนไหมที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว

: แถบไฮโดรไลซ์ที่มีความเข้มของสีย้อมแอนไฮม์เอสเทอร์ส เรียงลำดับจากสีที่มีความเข้มมากไปหาสีที่มีความเข้มน้อย

: แถบของแอนไฮม์เอสเทอร์ส ที่มีการเคลื่อนที่ในเจล เรียงลำดับจากแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้เร็วไปหาแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้ช้า

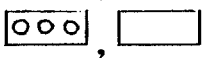


ภาพประกอบ 8 (ก) เอสเทอร์ไฮโดรไลซ์จากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ C_1 ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส



ภาพประกอบ 8 (ข) รูปแบบของเอสเทอร์ไอโซไซม์จากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ C_1 ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส

1, 2, 3, ..., 10



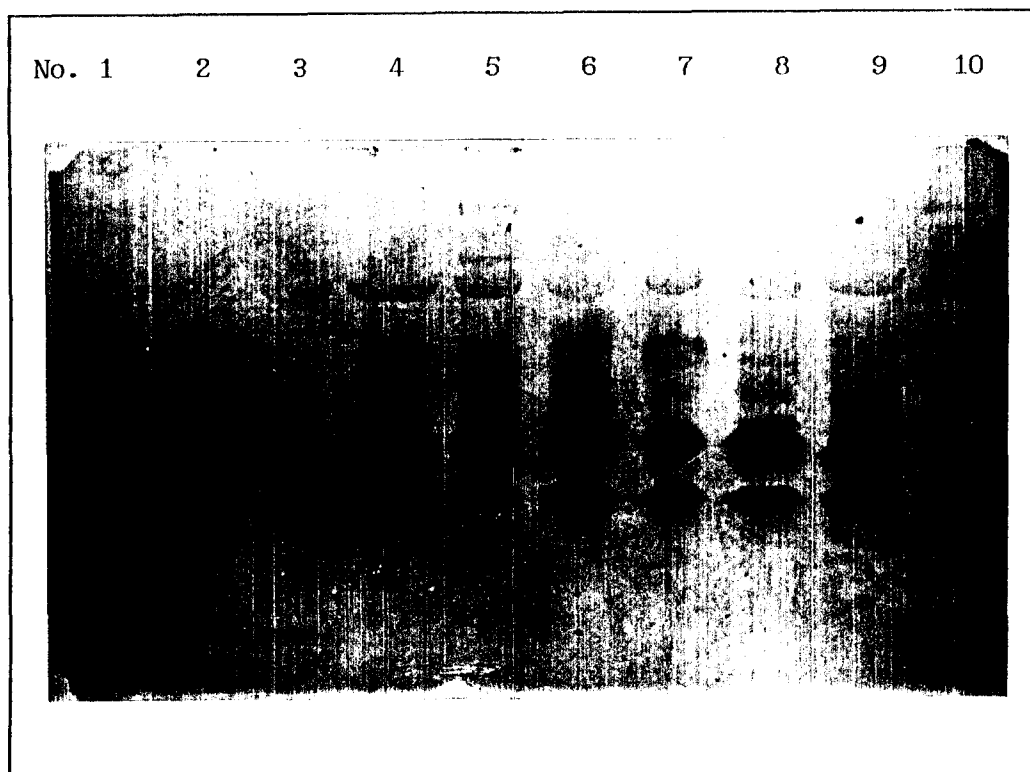
HEst1, HEst2

HEst3, HEst4

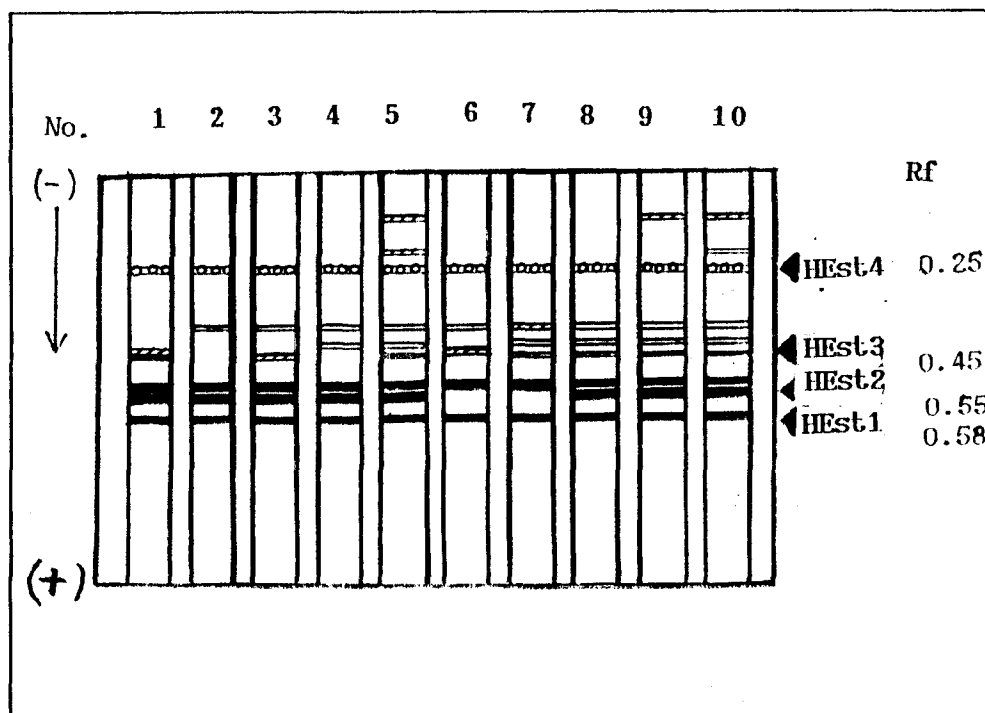
: หนอนไหมที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว

: แถบไอโซไซม์ที่มีความเข้มของสีย้อมแอนไซม์เอสเทอร์ส เรียงลำดับจากสีที่มีความเข้มมากไปหาสีที่มีความเข้มน้อย

: แถบของแอนไซม์เอสเทอร์ส ที่มีการเคลื่อนที่ในเจล เรียงลำดับจากแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้เร็วไปหาแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้ช้า

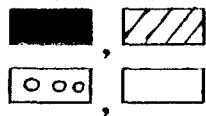


ภาพประกอบ 9 (ก) เอสเทอร์สไอโซไซม์จากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ C_9 ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส



ภาพประกอบ 9 (ข) รูปแบบของเอสเทอร์ไฮโซไซม์จากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ C_9 ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส

1, 2, 3, ..., 10



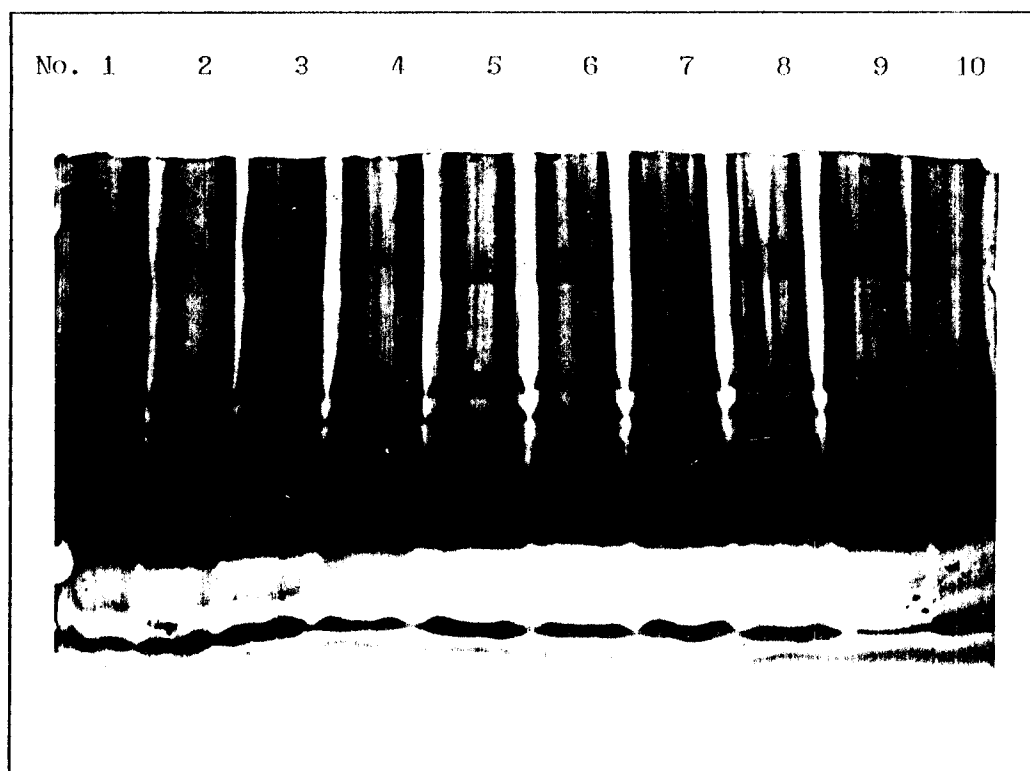
HEst1, HEst2

HEst3, HEst4

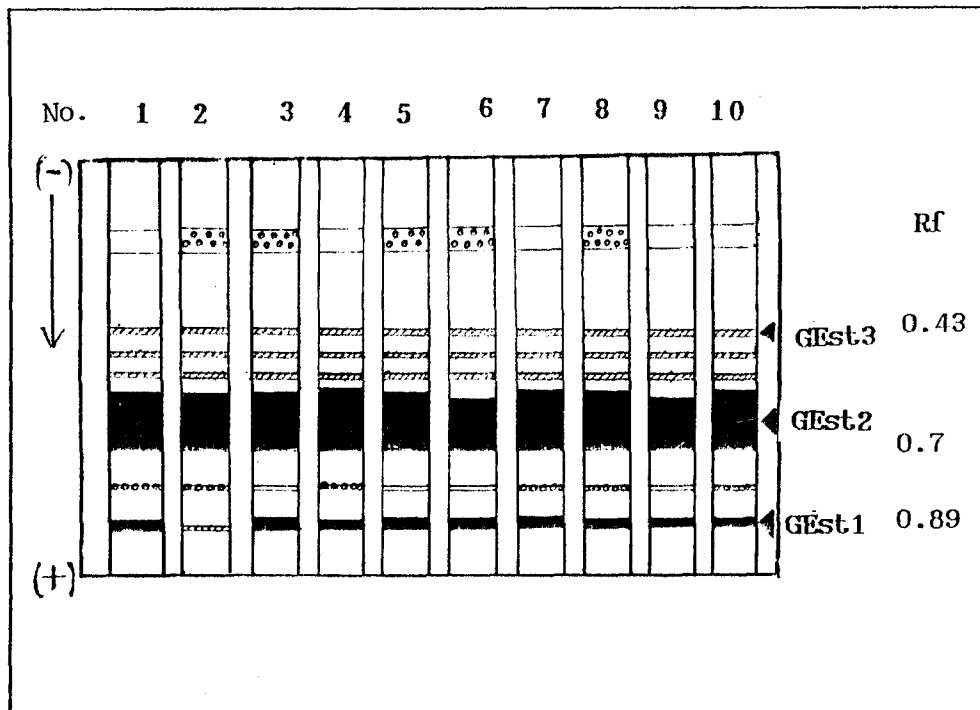
: หนอนไหมที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว

: แถบไฮโซไซม์ที่มีความเข้มของสีย้อมแอนไซม์เอสเทอร์ส เรียงลำดับจากสีที่มีความเข้มมากไปหาสีที่มีความเข้มน้อย

: แถบของแอนไซม์เอสเทอร์ส ที่มีการเคลื่อนที่ในเจล เรียงลำดับจากแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้เร็วไปหาแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้ช้า

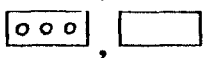


ภาพประกอบ 10 (ก) เอสเทอร์ไฮโซไซม์จากทางเดินอาหารของหนอนไหมสายพันธุ์ AC_3 ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลีอะคริลลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส



ภาพประกอบ 10 (ข) รูปแบบของเอสเทอร์ไฮโดรไลซ์จากทางเดินอาหารของหนูนม
สายพันธุ์ AC₃ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจล
อิเล็กโตรโฟเรซิส

1, 2, 3, ..., 10



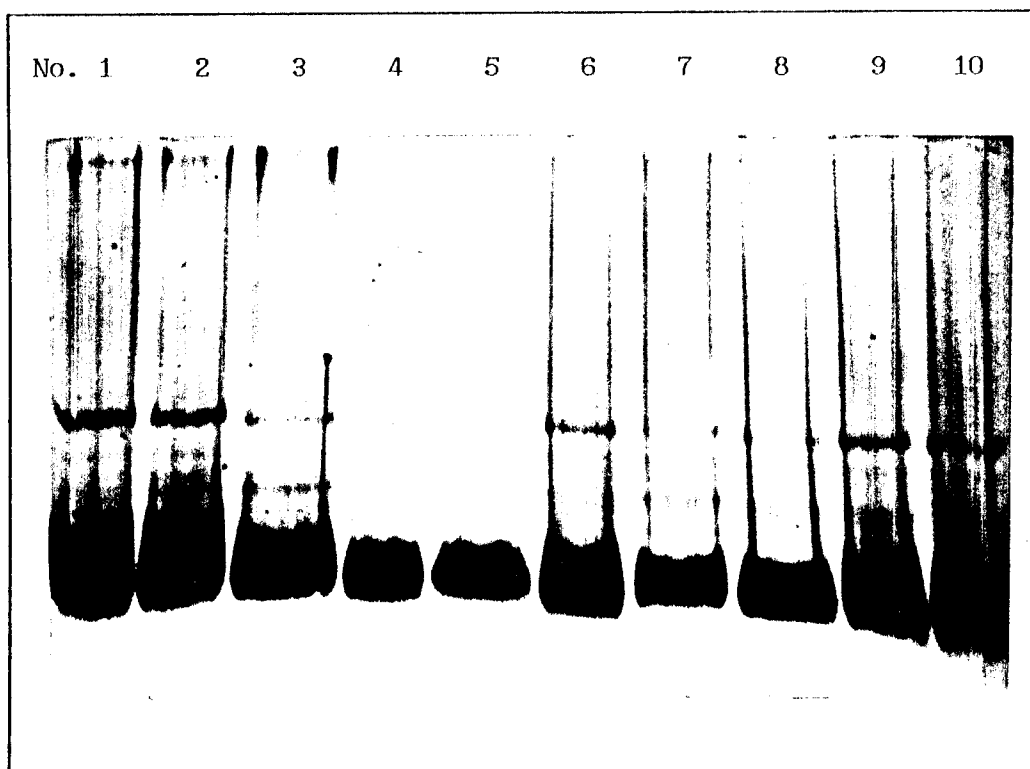
GEst1 , GEst2

GEst3 , GEst4

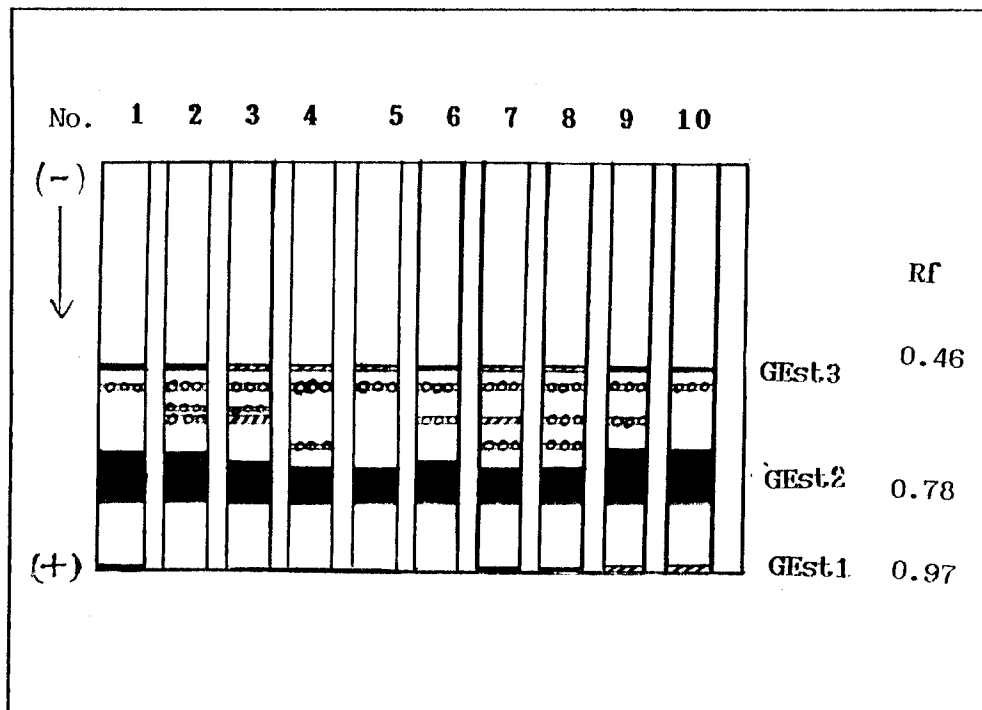
: หนูนมที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว

: แถบไฮโดรไลซ์ที่มีความเข้มของสีย้อมแอนไฮม์เอสเทอร์
เรียงลำดับจากสีที่มีความเข้มมากไปหาสีที่มีความเข้มน้อย

: แถบของแอนไฮม์เอสเทอร์ ที่มีการเคลื่อนที่ในเจล
เรียงลำดับจากแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้เร็วไปหาแถบที่มี
การเคลื่อนที่ได้ช้า



ภาพประกอบ 11 (ก) เอสเทอร์ไฮโซไซม์จากทางเดินอาหารของหนอนไหมสายพันธุ์ TH₂ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส



ภาพประกอบ 11 (ข) รูปแบบของเอสเทอร์ไอโซไซม์จากทางเดินอาหารของหนอนไหมสายพันธุ์ TH₂ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจลอิเล็กโตรโฟเรซิส

1, 2, 3, ..., 10



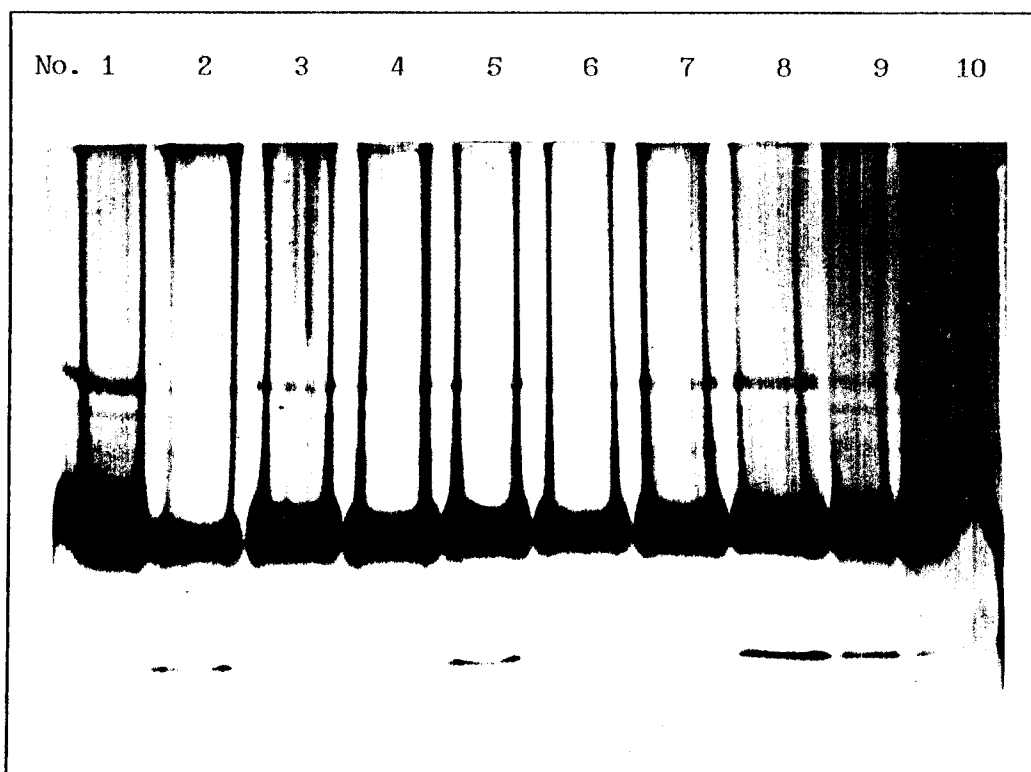
GEst1 , GEst2

GEst3

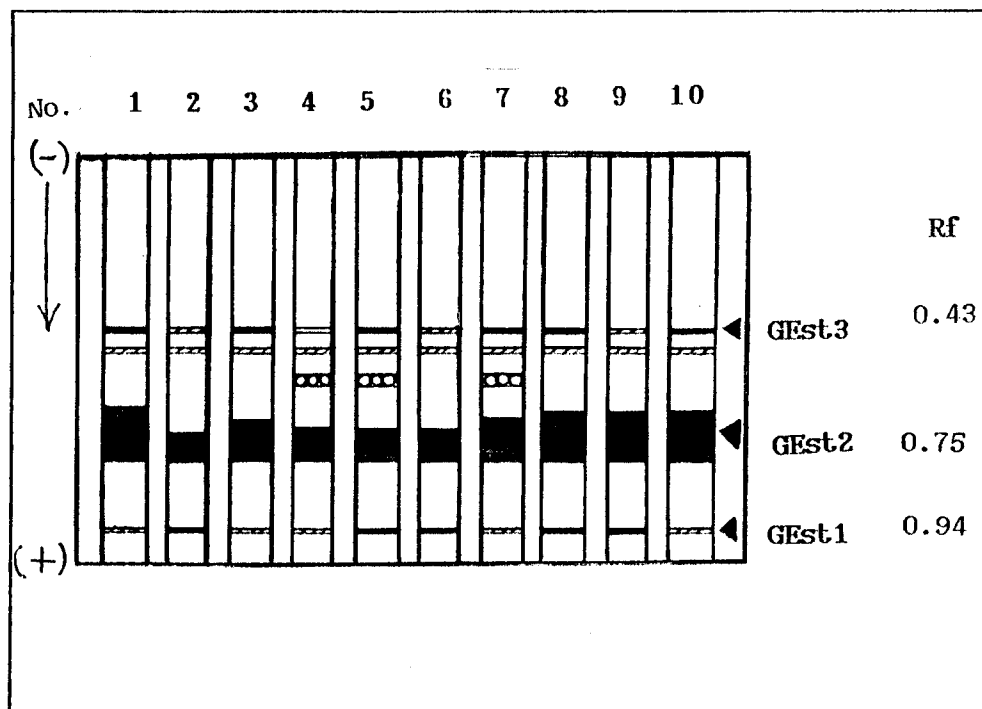
: หนอนไหมที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว

: แถบไอโซไซม์ที่มีความเข้มของสีย้อมแอนไซม์เอสเทอร์เรียงลำดับจากสีที่มีความเข้มมากไปหาสีที่มีความเข้มน้อย

: แถบของแอนไซม์เอสเทอร์ ที่มีการเคลื่อนที่ในเจลเรียงลำดับจากแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้เร็วไปหาแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้ช้า



ภาพประกอบ 12 (ก) เอสเทอร์สไอโซไซม์จากทางเดินอาหารของหนอนไหมสายพันธุ์
นางลาย ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว วิเคราะห์ด้วยเทคนิค
โพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส



ภาพประกอบ 12 (ข) รูปแบบของเอสเทอร์ไฮโซไซม์จากทางเดินอาหารของหนอนไหมสายพันธุ์ นางลาย ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 วิเคราะห์ด้วยเทคนิค โพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส

1, 2, 3, ..., 10



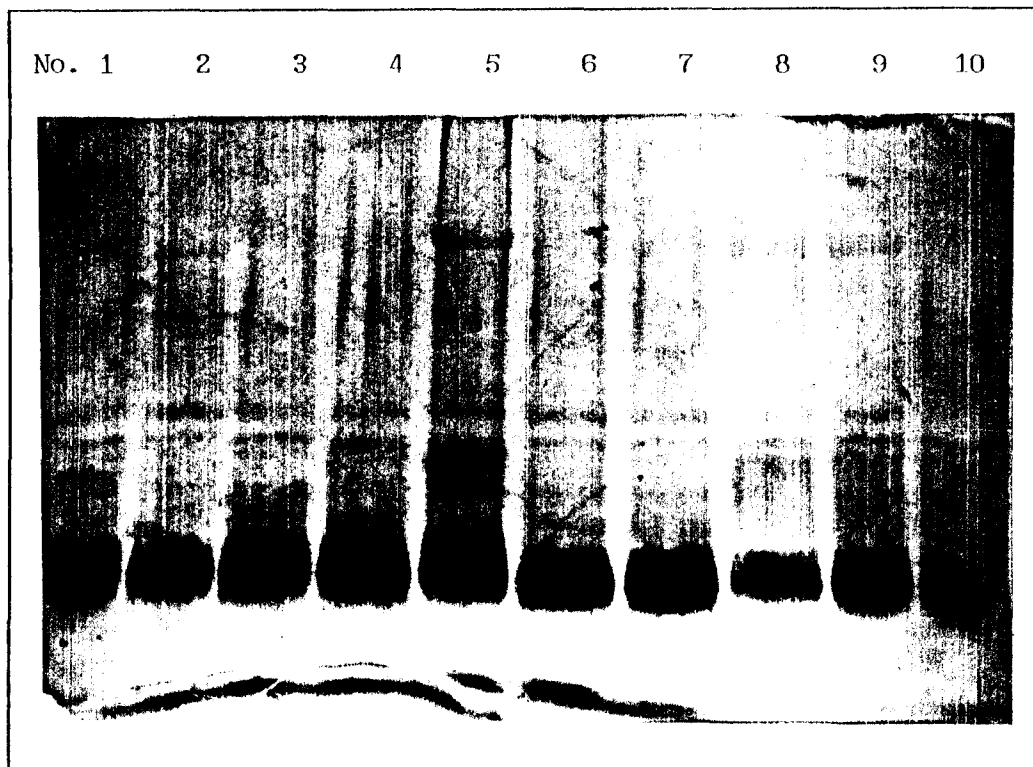
GEst1 , GEst2

GEst3

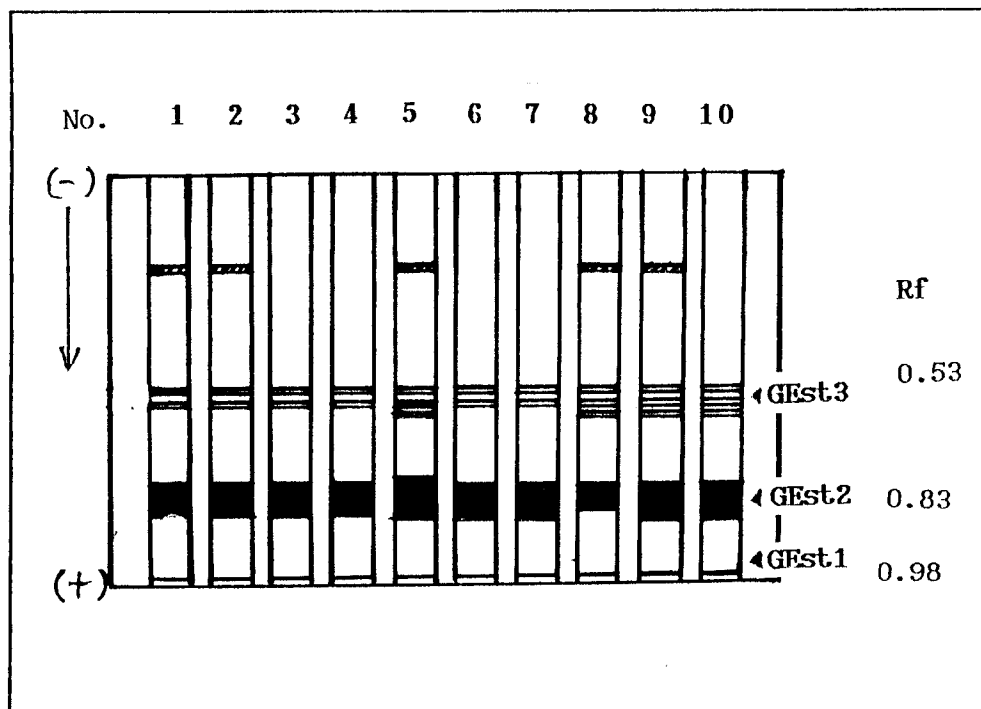
: หนอนไหมที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว

: แถบไฮโซไซม์ที่มีความเข้มของสีย้อมแอนไซม์เอสเทอร์ส เรียงลำดับจากสีที่มีความเข้มมากไปหาสีที่มีความเข้มน้อย

: แถบของแอนไซม์เอสเทอร์ส ที่มีการเคลื่อนที่ใน เจล เรียงลำดับจากแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้เร็วไปหาแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้ช้า



ภาพประกอบ 13 (ก) เอสเทอร์สไอโซไซม์จากทางเดินอาหารของหนอนไหมสายพันธุ์ BB ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส



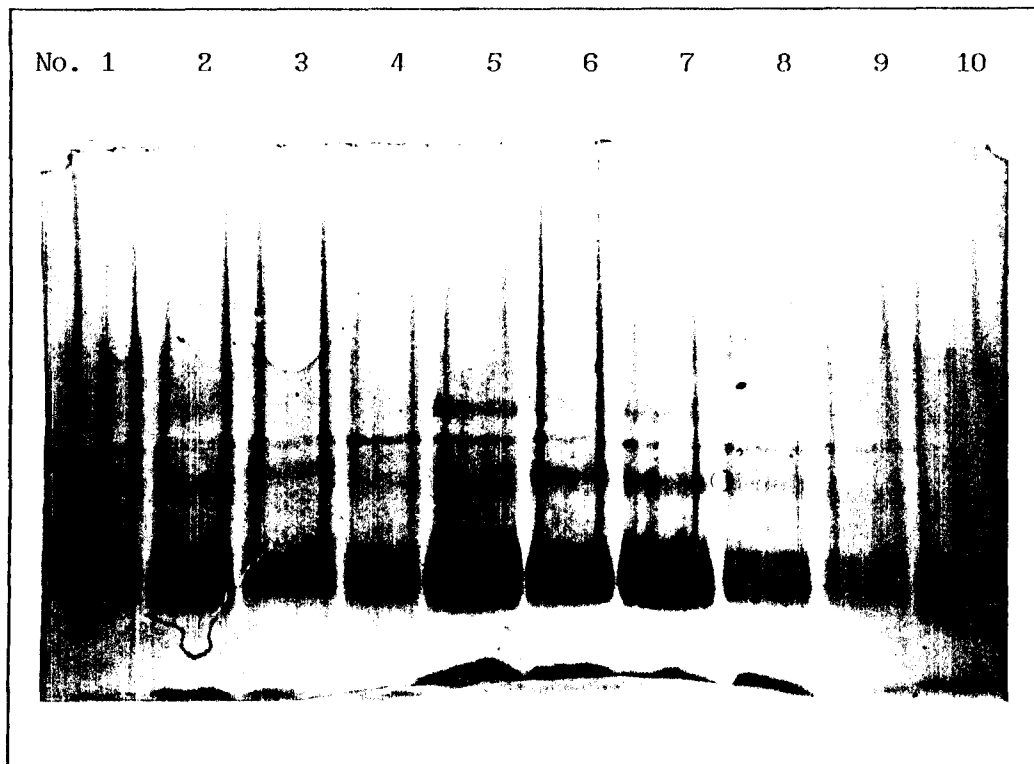
ภาพประกอบ 13 (ข) รูปแบบของเอสเทอร์ไอโซไซม์จากทางเดินอาหารของหนอนไหม สายพันธุ์ BB ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส

1, 2, 3, ..., 10
 , 

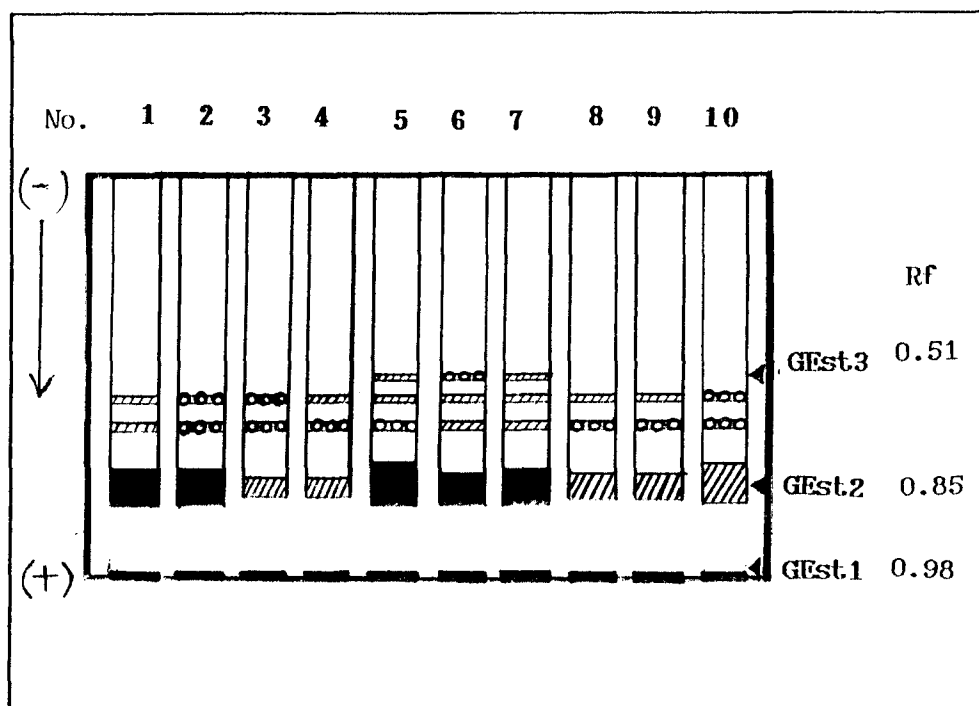

GEst1 , GEst2

GEst3

: หนอนไหมที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว
 : แถบไอโซไซม์ที่มีความเข้มของสีย้อมแอนไซม์เอสเทอร์
 เรียงลำดับจากสีที่มีความเข้มมากไปหาสีที่มีความเข้มน้อย
 : แถบของแอนไซม์เอสเทอร์ ที่มีการเคลื่อนที่ในเจล
 เรียงลำดับจากแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้เร็วไปหาแถบที่มี
 การเคลื่อนที่ได้ช้า



ภาพประกอบ 14 (ก) เอสเทอร์ไฮโซไซม์จากทางเดินอาหารของหนอนไหมสายพันธุ์ C_1 ที่
เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจล
อิเล็กโตรโฟเรซิส



ภาพประกอบ 14 (ข) รูปแบบของเอสเทอร์ไอโซไซม์จากทางเดินอาหารของหนอนไหม สายพันธุ์ C₁ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส

1, 2, 3, ..., 10



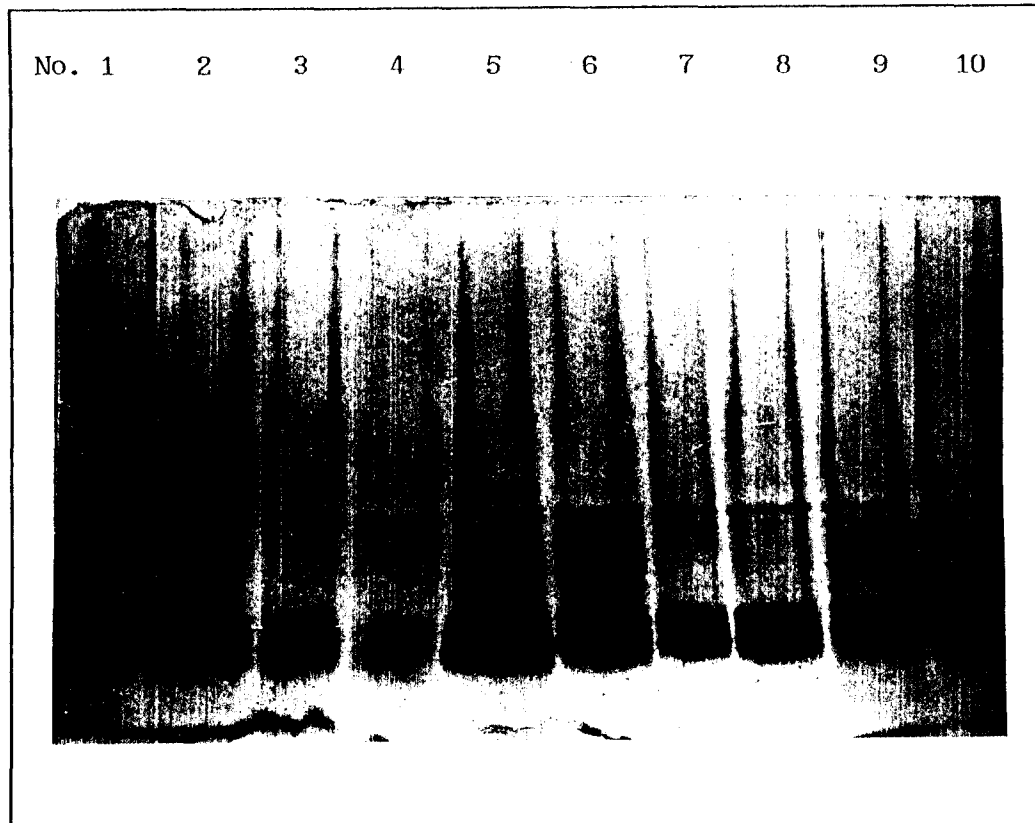
GEst1 , GEst2

GEst3

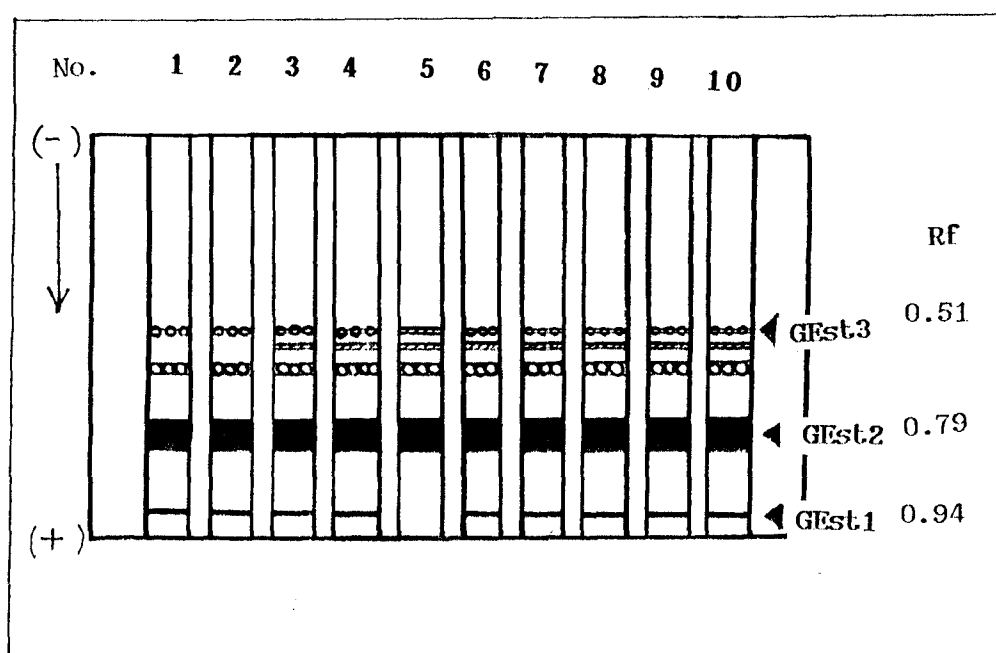
: หนอนไหมที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว

: แถบไอโซไซม์ที่มีความเข้มของสีย้อมเอนไซม์เอสเทอร์ส เรียงลำดับจากสีที่มีความเข้มมากไปหาสีที่มีความเข้มน้อย

: แถบของเอนไซม์เอสเทอร์ส ที่มีการเคลื่อนที่ในเจล เรียงลำดับจากแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้เร็วไปหาแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้ช้า

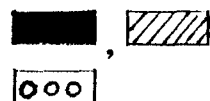


ภาพประกอบ 15 (ก) เอสเทอร์ไฮโซไซม์จากทางเดินอาหารของหนอนไหมสายพันธุ์ C_u ที่
เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจล
อิเล็กโตรโฟเรซิส



ภาพประกอบ 15 (ข) รูปแบบของเอสเทอร์ไอโซไซม์จากทางเดินอาหารของหนอนไหมสายพันธุ์ C_3 ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจลอิเล็กโตรโฟเรซิส

1, 2, 3, ..., 10



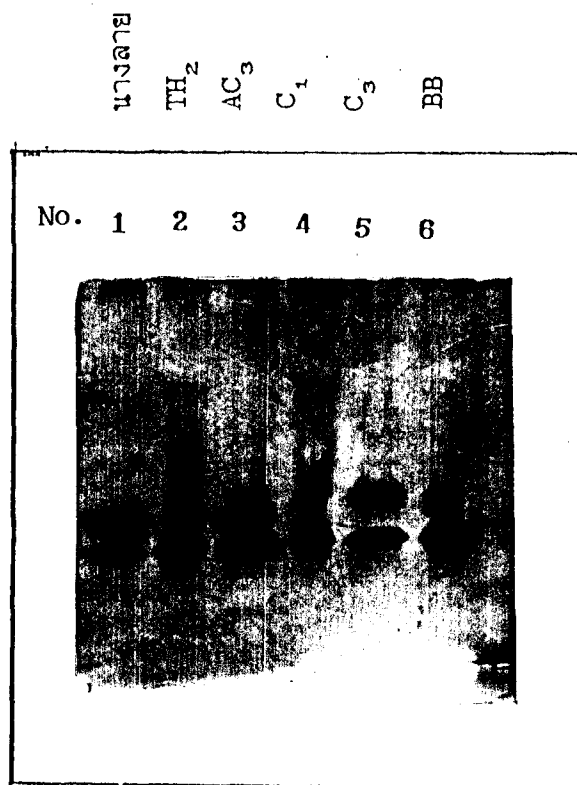
GEst1 , GEst2

GEst3 , GEst4

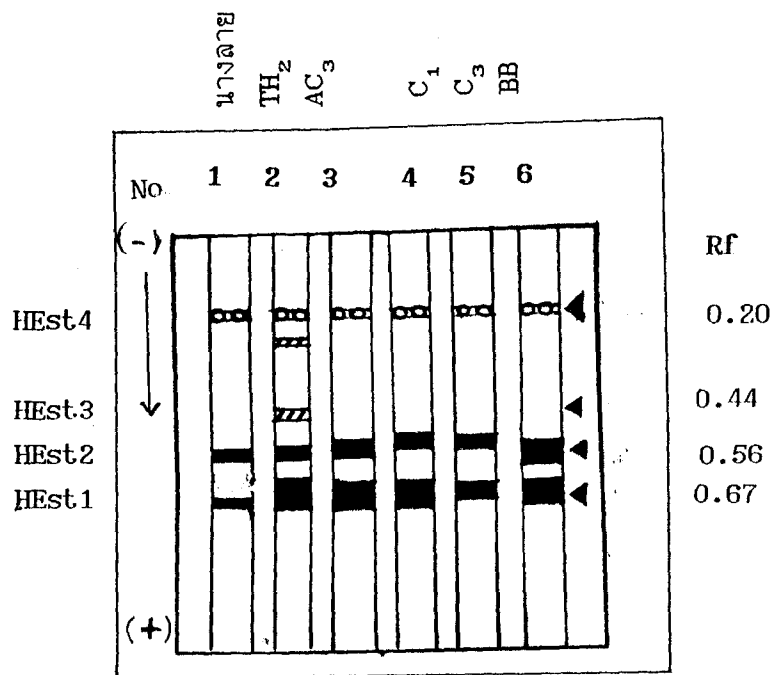
: หนอนไหมที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว

: แถบไอโซไซม์ที่มีความเข้มของสีย้อมแอนไซม์เอสเทอร์เรียงลำดับจากสีที่มีความเข้มมากไปหาสีที่มีความเข้มน้อย

: แถบของแอนไซม์เอสเทอร์ ที่มีการเคลื่อนที่ในเจลเรียงลำดับจากแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้เร็วไปหาแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้ช้า

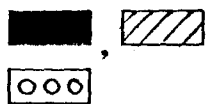


ภาพประกอบ 16 (ก) เอสเทอร์ไฮโซไซม์จากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ นางลาย TH₂ AC₃ C₁ C₃ และ BB ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 วิเคราะห์ด้วยเทคนิค โพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส



ภาพประกอบ 16 (ข) รูปแบบของเอสเทอร์ไฮโซไซม์จากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ นางลาย TH₂ AC₃ C₁ C₃ และ BB ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 วิเคราะห์ด้วยเทคนิค โพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส

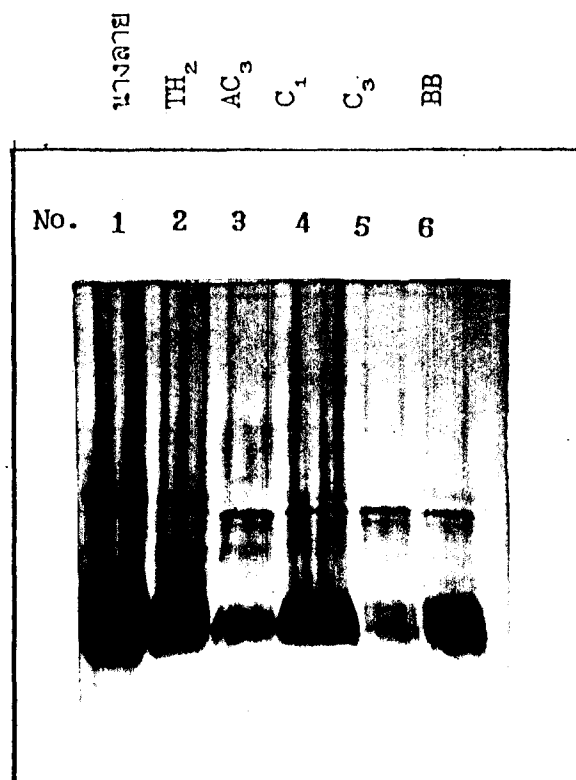
1,2,3,4,5,6



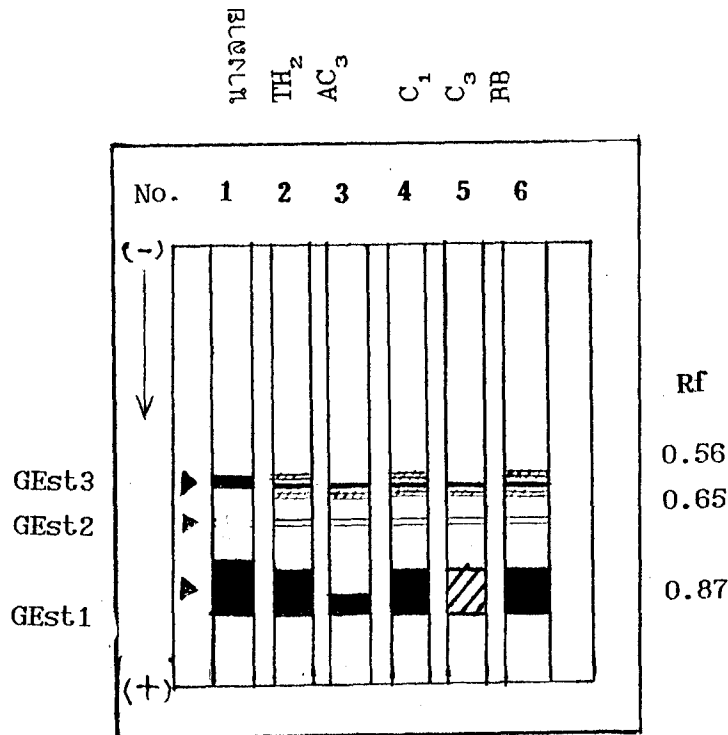
HEst1 , HEst2

HEst3 , HEst4

- : อีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ นางลาย TH₂ AC₃ C₁ C₃ และ BB ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 ตามลำดับ
- : แถบไฮโซไซม์ที่มีความเข้มข้นของสีย้อมแอนไซม์เอสเทอร์ส เรียงลำดับจากสีที่มีความเข้มมากไปหาสีที่มีความเข้มน้อย
- : แถบของแอนไซม์เอสเทอร์ส ที่มีการเคลื่อนที่ในเจล เรียงลำดับจากแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้เร็วไปหาแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้ช้า



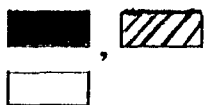
ภาพประกอบ 17 (ก) เอสเทอร์ไฮโซไซม์จากทางเดินอาหารของหนอนไหมสายพันธุ์
นางลาย TH₂ AC₃ C₁ C₃ และ BB ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 วิเคราะห์ด้วย
เทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส



ภาพประกอบ 17 (ข) รูปแบบของเอสเทอร์ไฮโดรไลซ์จากทางเดินอาหารของหนอนไหมสายพันธุ์ นางลาย TH₂ AC₃ C₁ C₃ และ BB ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส

1,2,3,4,5,6

: เอนไซม์จากทางเดินอาหารของหนอนไหมสายพันธุ์ นางลาย TH₂ AC₃ C₁ C₃ และ BB ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 ตามลำดับ

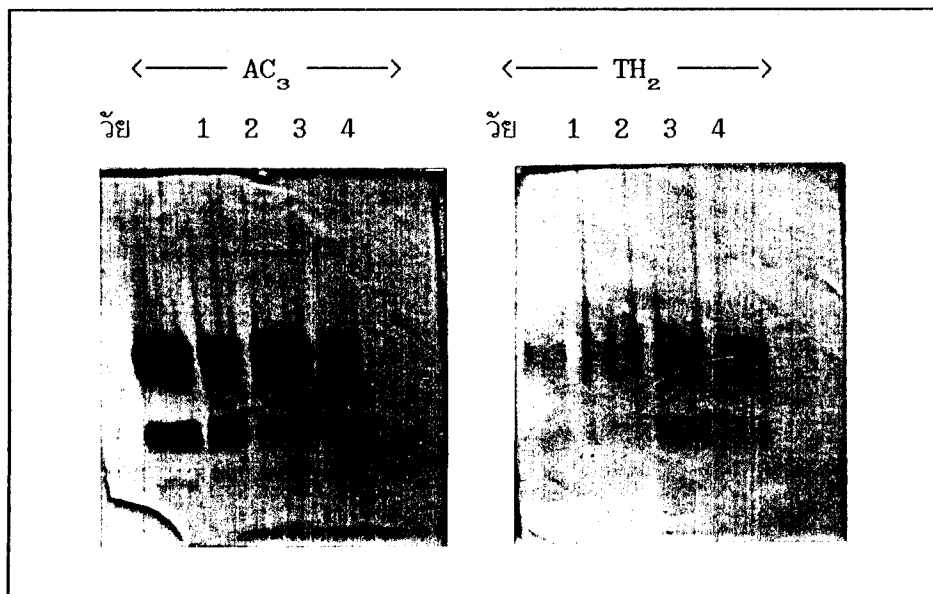


GEst1 , GEst2

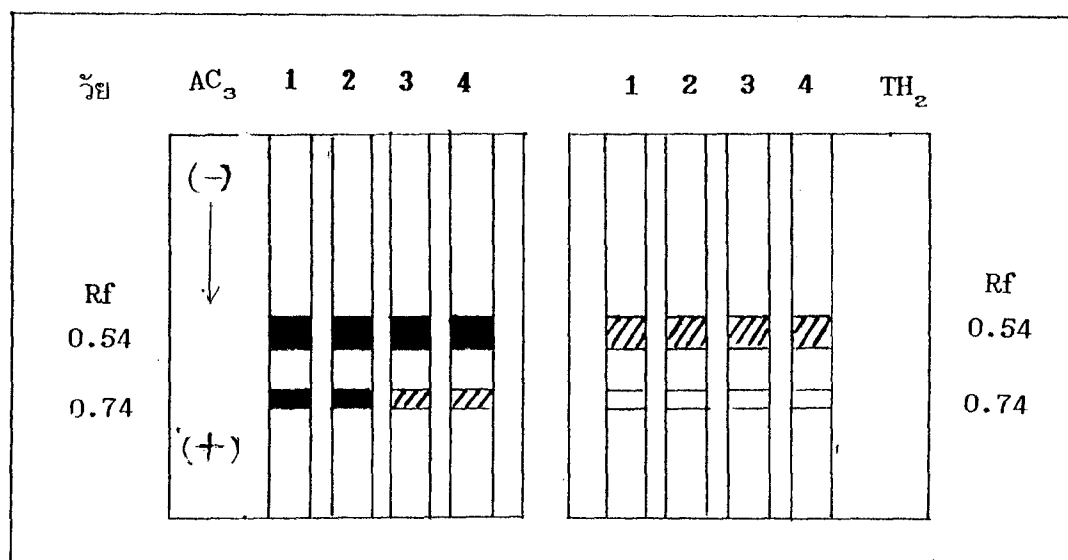
GEst3 , GEst4

: แถบไฮโดรไลซ์ที่มีความเข้มของสีย้อมเอนไซม์เอสเทอร์เรียงลำดับจากสีที่มีความเข้มมากไปหาสีที่มีความเข้มน้อย

: แถบของเอนไซม์เอสเทอร์ ที่มีการเคลื่อนที่ในเจลเรียงลำดับจากแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้เร็วไปหาแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้ช้า

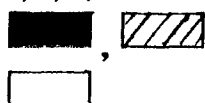


ภาพประกอบ 18 (ก) แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทสไอโซไซม์จากส่วนที่เป็นของเหลวทั้งตัวของ
หนอนไหมสายพันธุ์ AC_3 และ TH_2 ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 1 ถึง วัย 4 วิเคราะห์ด้วย
เทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส



ภาพประกอบ 18 (ข) รูปแบบของแอลคาไลน์ ฟอสฟาเทสไอโซไซม์จากส่วนที่เป็นของเหลว ทั้งตัวหนอนไหมสายพันธุ์ AC₃ และ TH₂ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 1 ถึง วัย 4 วิเคราะห์ด้วย เทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส

1, 2, 3, 4

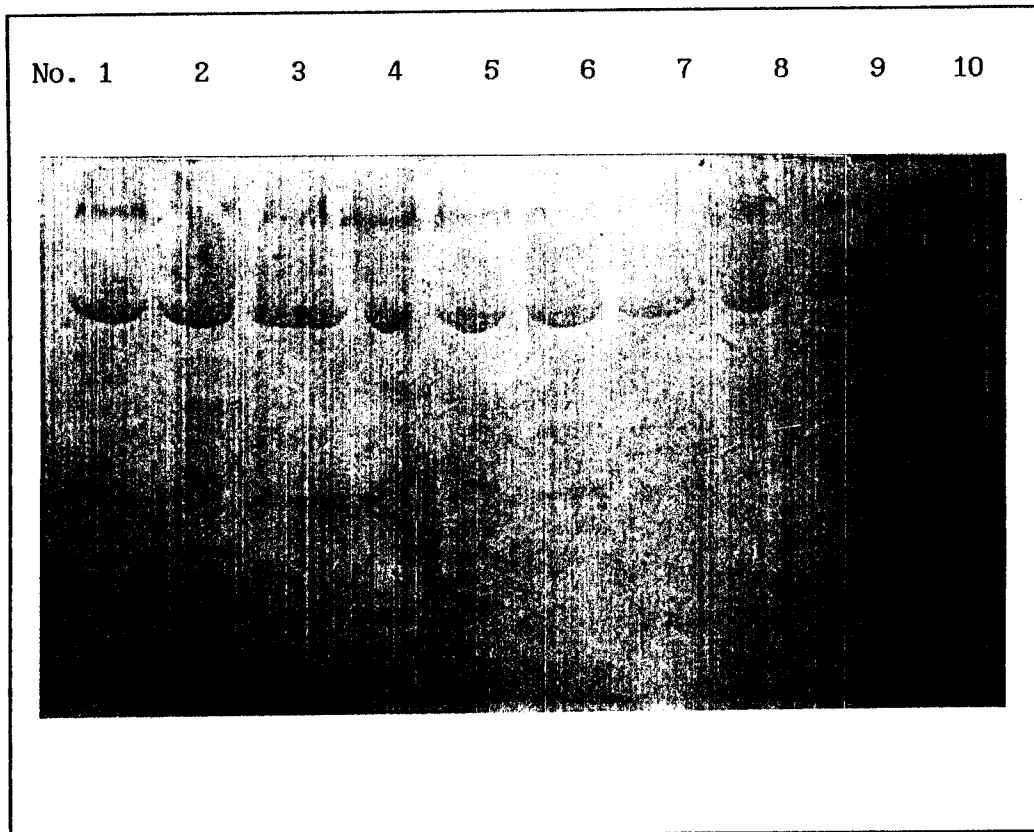


: หนอนไหมที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว

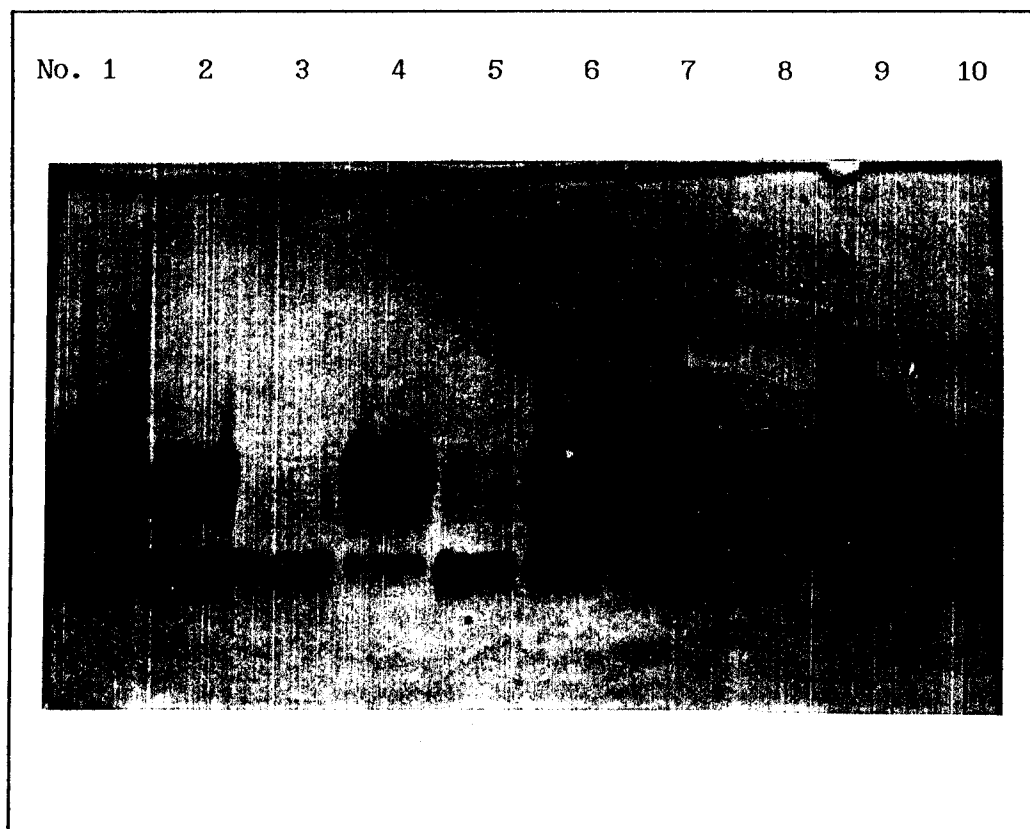
: แถบไอโซไซม์ที่มีความเข้มของสีย้อมเอนไซม์แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส เรียงลำดับจากสีที่มีความเข้มมากไปหาสีที่มีความเข้มน้อย

APs1 , APs2

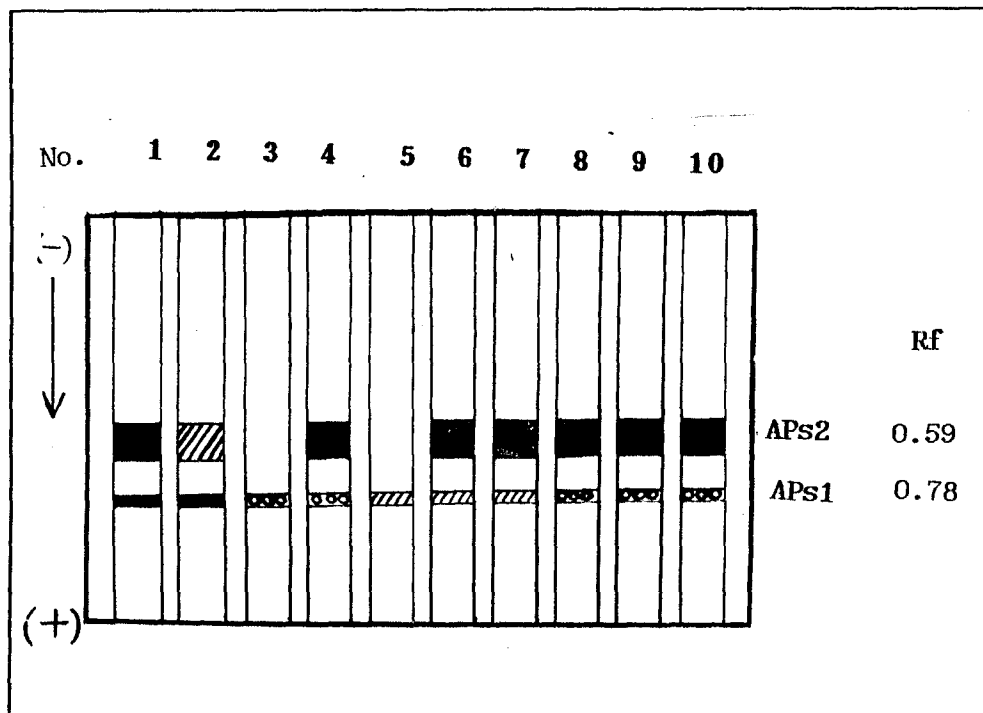
: แถบของเอนไซม์แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส ที่มีการเคลื่อนที่ ในเจล เรียงลำดับจากแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้เร็วไปหาแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้ช้า



ภาพประกอบ 19 แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทสไอโซไซม์จากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ C_1 ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส



ภาพประกอบ 20 (ก) แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทสไอโซไซม์จากทางเดินอาหารของหนอนไหมสายพันธุ์ AC₃ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว วิเคราะห์ด้วยเทคนิค โพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส



ภาพประกอบ 20 (ข) รูปแบบของแอลคาไลน์ ฟอสฟาเทสไอโซไซม์จากทางเดินอาหารของ
 หนอนไหมสายพันธุ์ AC₃ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 วิเคราะห์ด้วยเทคนิค
 โพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส

1, 2, 3, ..., 10

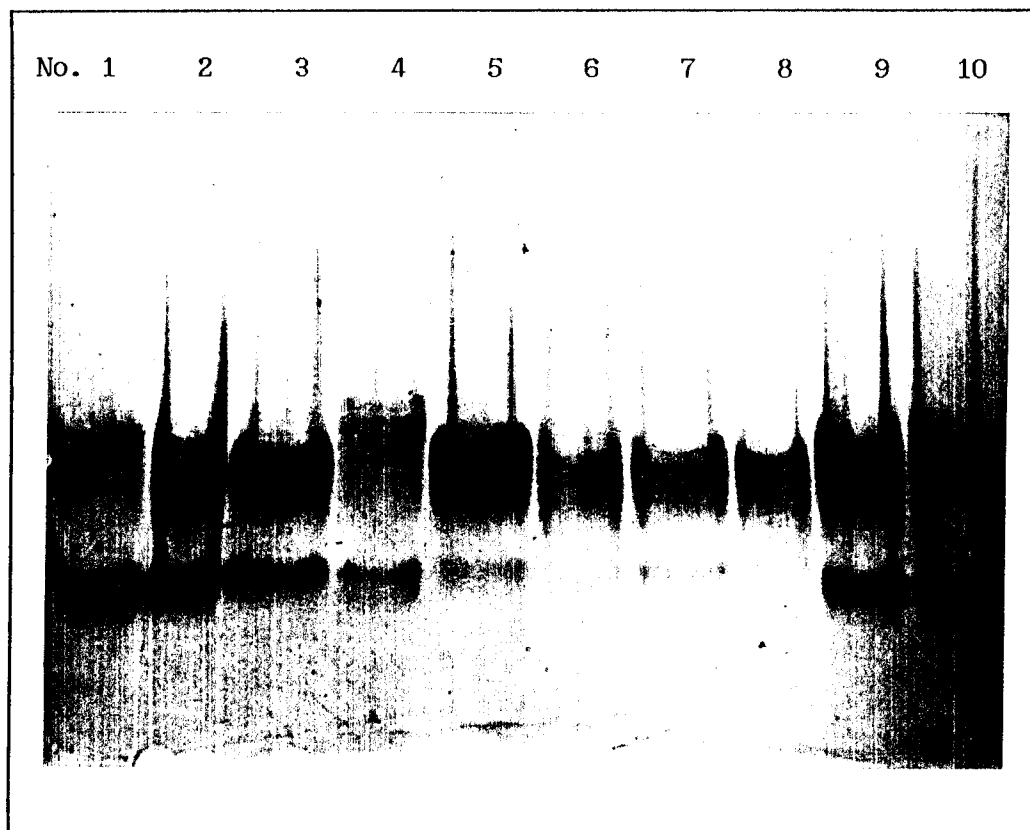


: หนอนไหมที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว

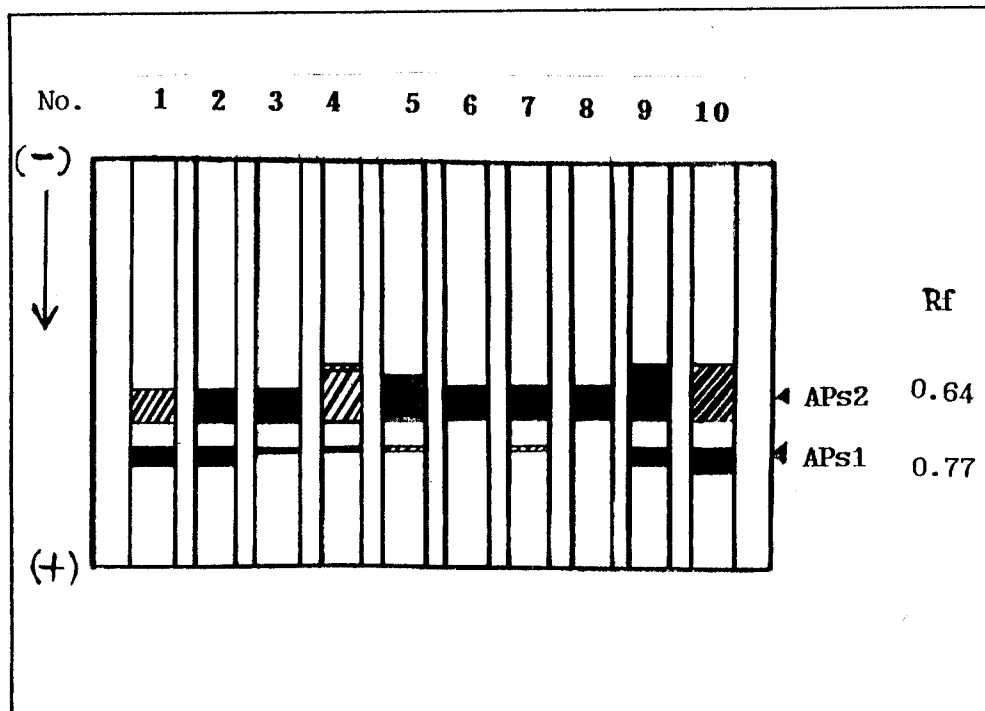
: แถบไอโซไซม์ที่มีความเข้มของสีย้อมเอนไซม์แอลคาไลน์
 ฟอสฟาเทส เรียงลำดับจากสีที่มีความเข้มมากไปหาสีที่
 ความเข้มน้อย

APs1 , APs2

: แถบของเอนไซม์แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส ที่มีการเคลื่อนที่
 ในเจล เรียงลำดับจากแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้เร็วไปหาแถบ
 ที่มีการเคลื่อนที่ได้ช้า

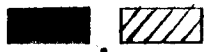


ภาพประกอบ 21 (ก) แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทสไอโซไซม์จากทางเดินอาหารของหนอนไหมสายพันธุ์ TH₂ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว วิเคราะห์ด้วยเทคนิค โพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส



ภาพประกอบ 21 (ข) รูปแบบของแอลคาไลน์ ฟอสฟาเทสไอโซไซม์จากทางเดินอาหารของ
 หนอนไหมสายพันธุ์ TH₂ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 วิเคราะห์ด้วยเทคนิค
 โพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส

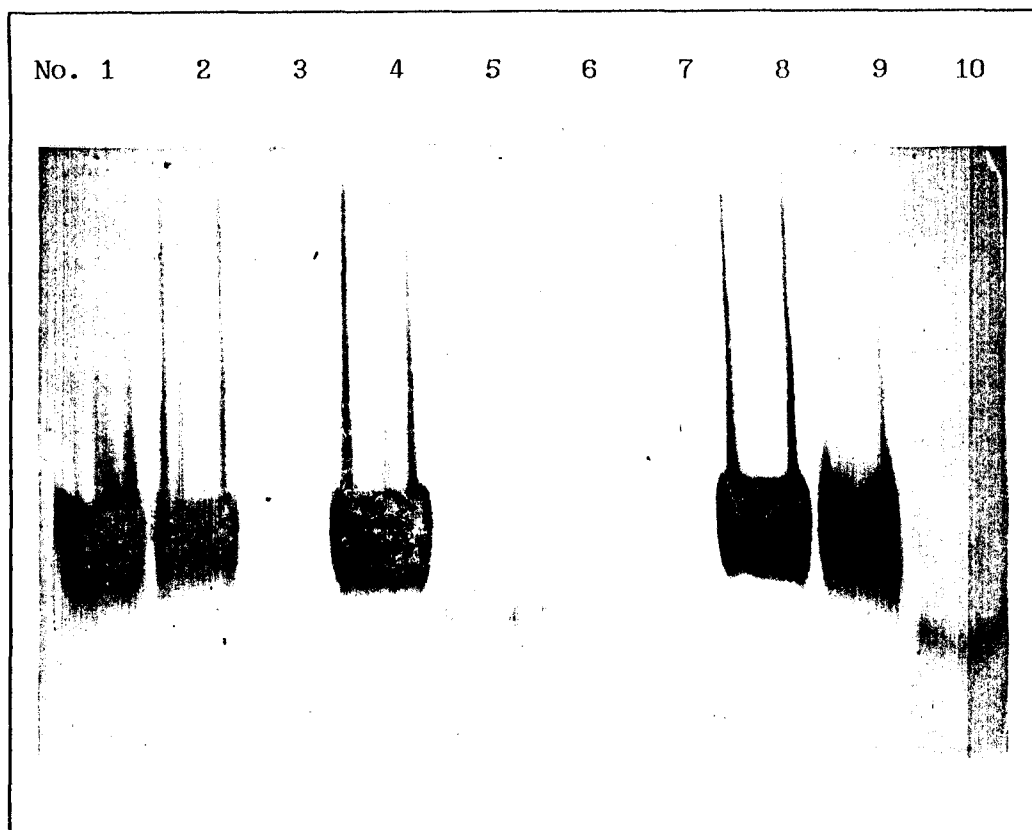
1, 2, 3, ..., 10



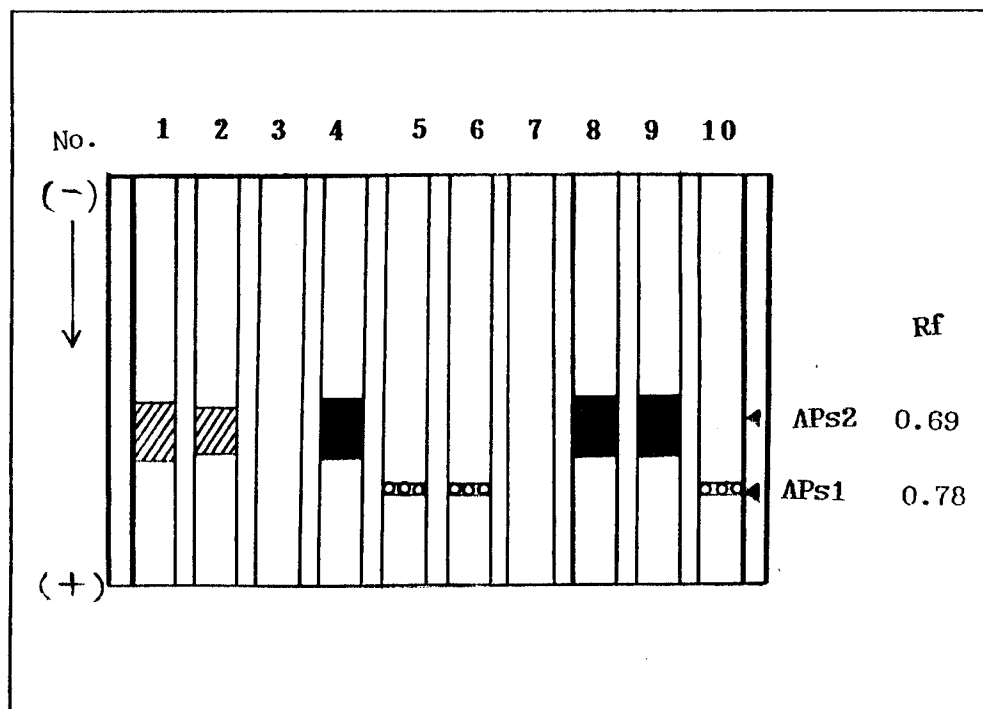
: หนอนไหมที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว
 : แถบไอโซไซม์ที่มีความเข้มของสีย้อมเอนไซม์แอลคาไลน์
 ฟอสฟาเทส เรียงลำดับจากสีที่มีความเข้มมากไปหาสีที่มีความ
 เข้มน้อย

APs1 , APs2

: แถบของเอนไซม์แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส ที่มีการเคลื่อนที่
 ในเจล เรียงลำดับจากแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้เร็วไปหาแถบ
 ที่มีการเคลื่อนที่ได้ช้า



ภาพประกอบ 22 (ก) แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทสไอโซไซม์จากทางเดินอาหารของหนูนไ้มสายพันธุ์ นางลาย ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว วิเคราะห์ด้วยเทคนิค โพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส



ภาพประกอบ 22 (ข) รูปแบบของแอลคาไลน์ ฟอสฟาเทสไอโซไซม์จากทางเดินอาหารของ
 หนอนไหมสายพันธุ์ นางลาย ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 วิเคราะห์ด้วยเทคนิค
 โพลีอะครีลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส

1, 2, 3, ..., 10

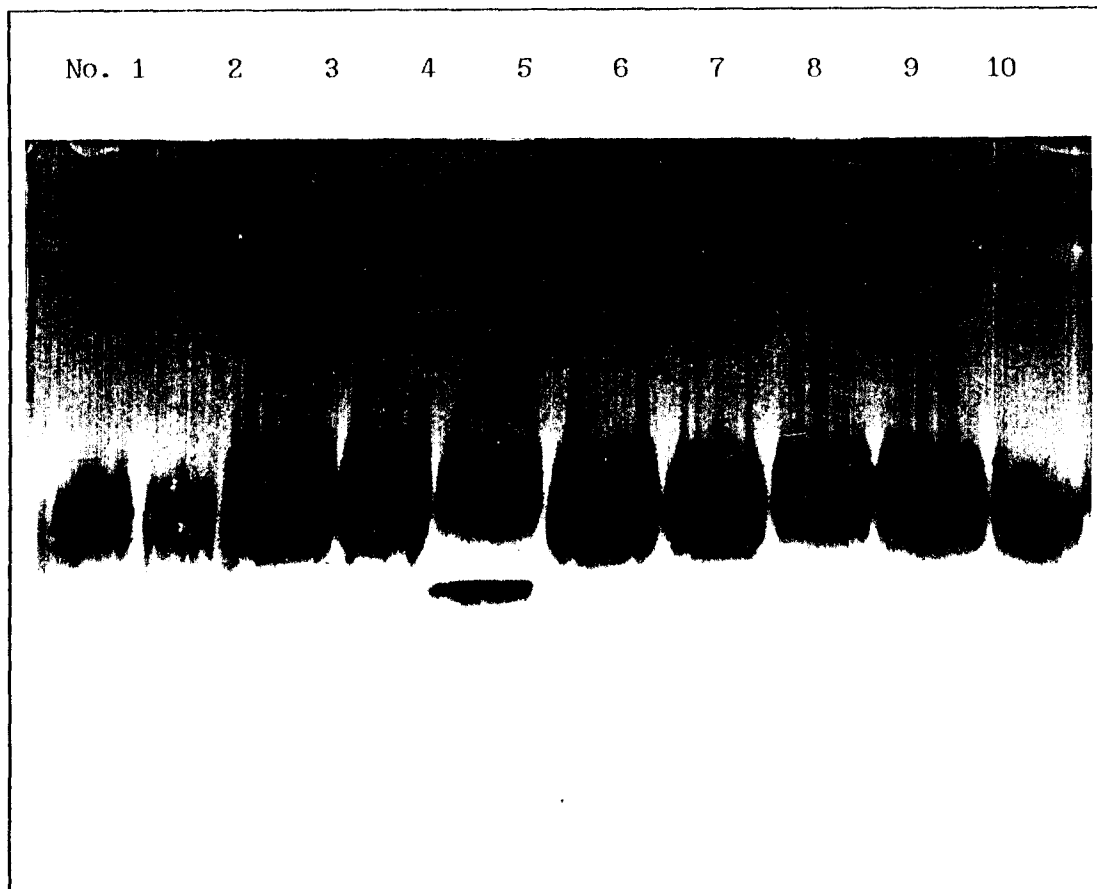


: หนอนไหมที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว

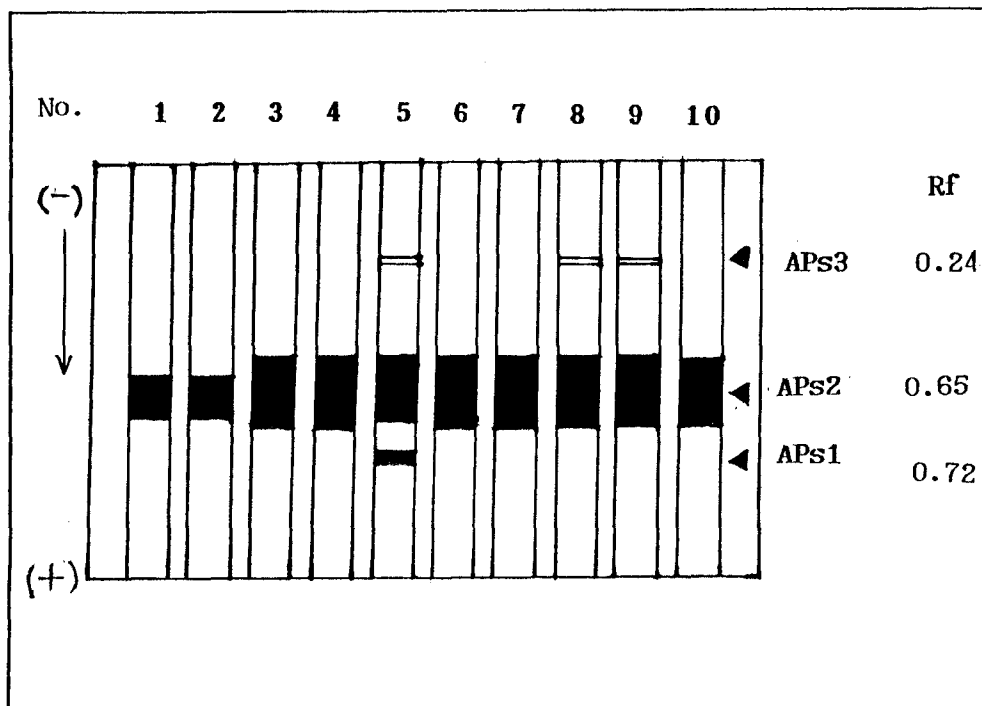
: แถบไอโซไซม์ที่มีความเข้มของสีย้อมเอนไซม์แอลคาไลน์
 ฟอสฟาเทส เรียงลำดับจากสีที่มีความเข้มมากไปหาสีที่มีความ
 เข้มน้อย

APs1 , APs2

: แถบของเอนไซม์แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส ที่มีการเคลื่อนที่
 ในเจล เรียงลำดับจากแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้เร็วไปหาแถบ
 ที่มีการเคลื่อนที่ได้ช้า



ภาพประกอบ 23 (ก) แอลคาไลน์ฟอสฟาเทสไอโซไซม์จากทางเดินอาหารของหนูนไทม์สายพันธุ์ BB ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว วิเคราะห์ด้วยเทคนิค โพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส



ภาพประกอบ 23 (ข) รูปแบบของแอลคาไลน์ ฟอสฟาเทสไอโซไซม์จากทางเดินอาหารของ
 หนอนไหมสายพันธุ์ BB ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 วิเคราะห์ด้วยเทคนิค
 โพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส

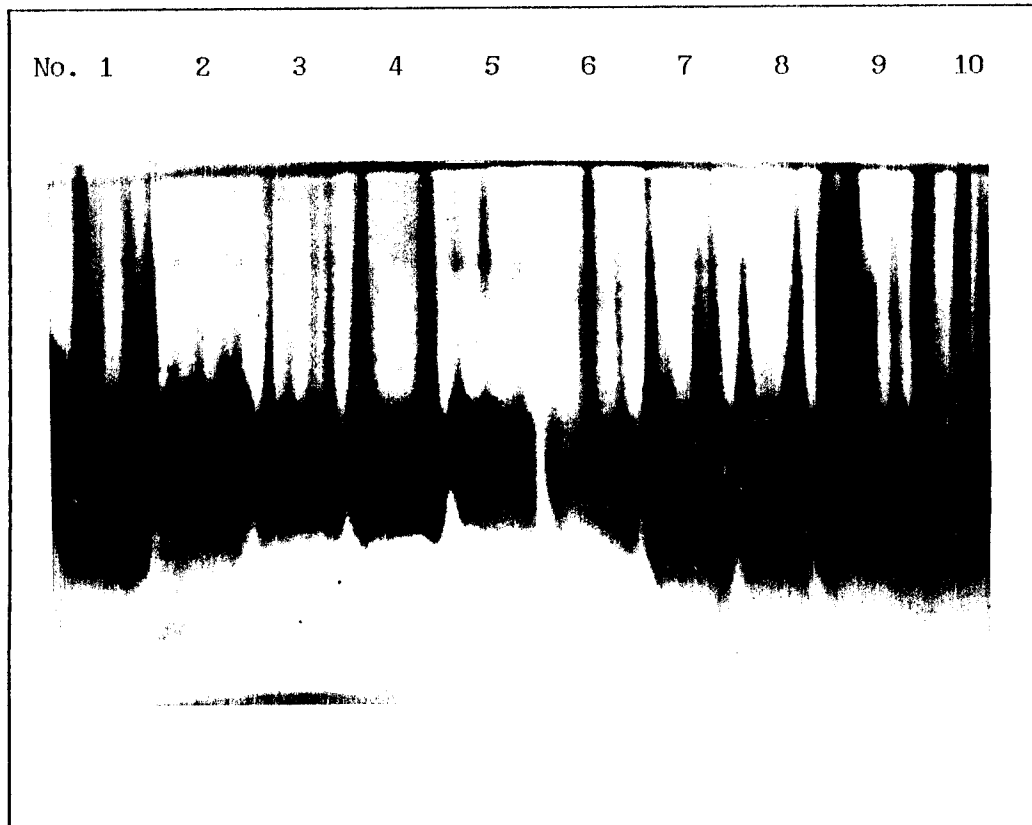
1, 2, 3, ..., 10



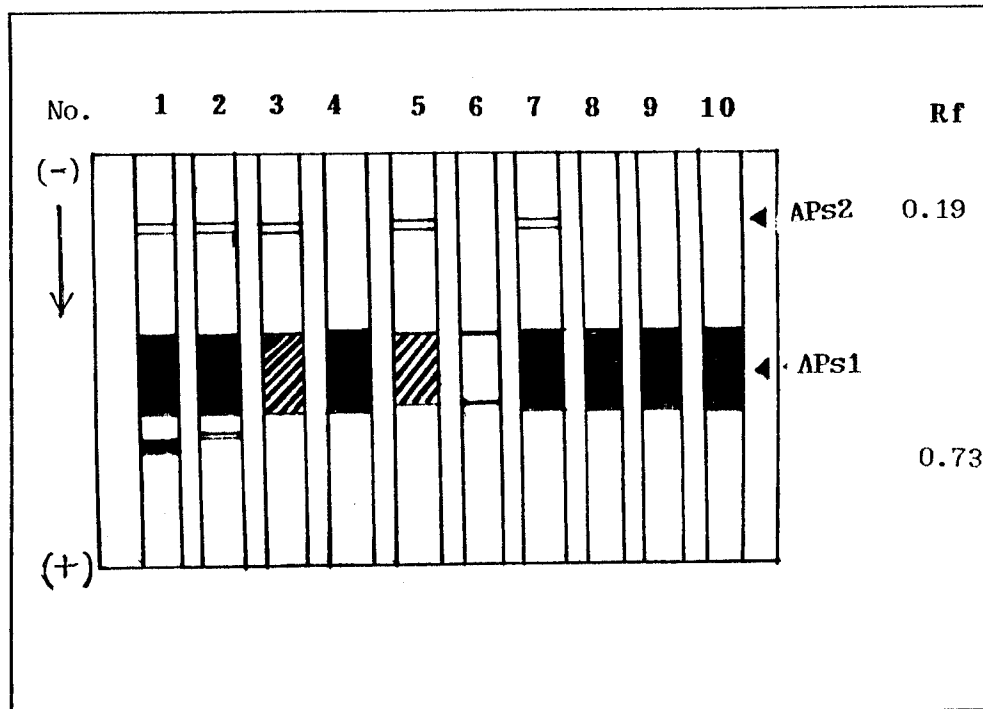
- : หนอนไหมที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว
- : แถบไอโซไซม์ที่มีความเข้มของสีย้อมเอนไซม์แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส เรียงลำดับจากสีที่มีความเข้มมากไปหาสีที่มีความเข้มน้อย
- : แถบของเอนไซม์แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส ที่มีการเคลื่อนที่ ในเจล เรียงลำดับจากแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้เร็วไปหาแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้ช้า

APs1 , APs2

APs3

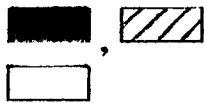


ภาพประกอบ 24 (ก) แอลคาไลน์ฟอสฟาเทสไอโซไซม์จากทางเดินอาหารของหน่อไม้ส่าย
พันธุ์ C_1 ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว วิเคราะห์ด้วยเทคนิค
โพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส



ภาพประกอบ 24 (ช) รูปแบบของแอลคาไลน์ ฟอสฟาเทสไอโซไซม์จากทางเดินอาหารของ
 หนอนไหมสายพันธุ์ C_1 ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 วิเคราะห์ด้วยเทคนิค
 โพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส

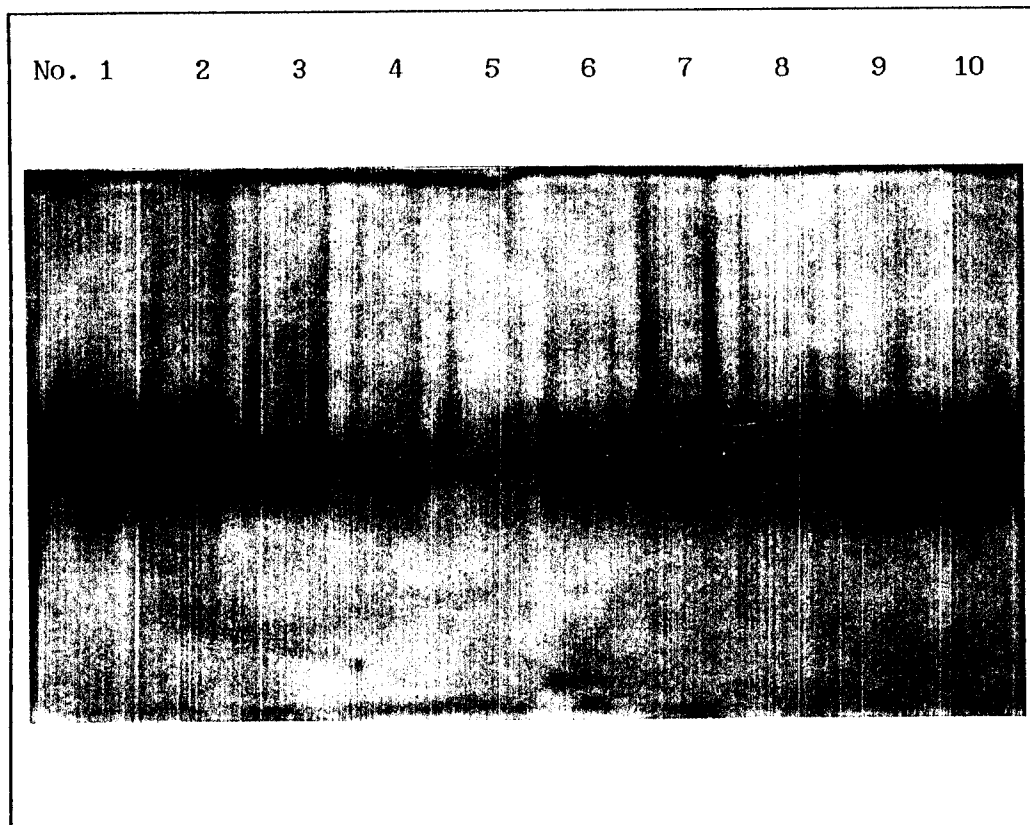
1, 2, 3, ..., 10



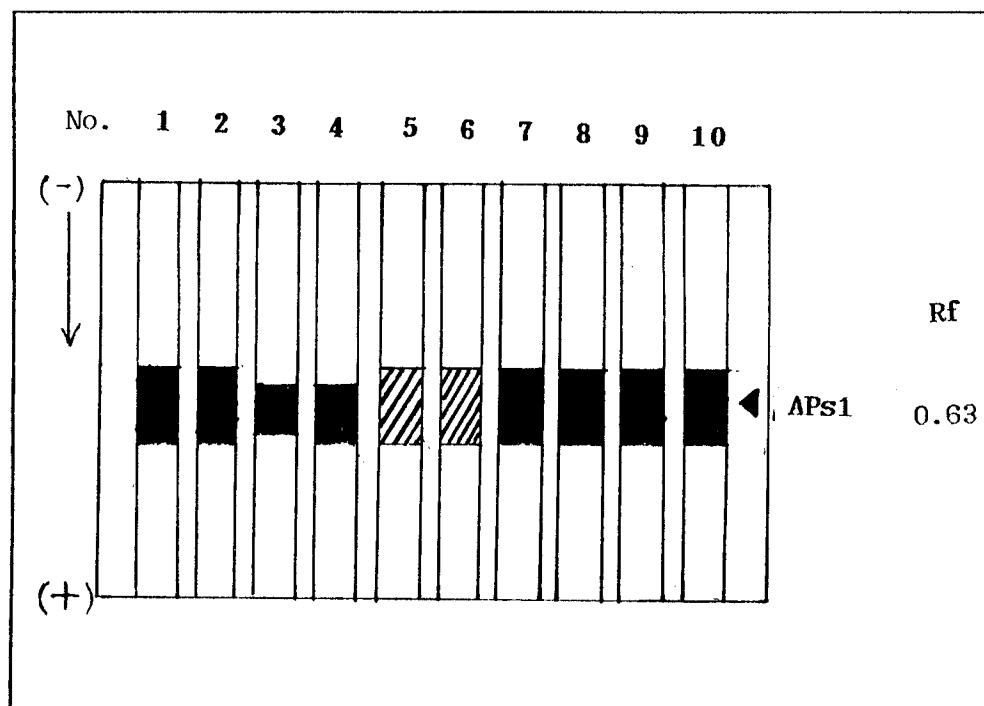
- : หนอนไหมที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว
- : แถบไอโซไซม์ที่มีความเข้มของสีย้อมเอนไซม์แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส เรียงลำดับจากสีที่มีความเข้มมากไปหาสีที่มีความเข้มน้อย
- : แถบของเอนไซม์แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส ที่มีการเคลื่อนที่ ในเจล เรียงลำดับจากแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้เร็วไปหาแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้ช้า

Aps1 , Aps2

Aps3

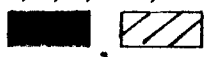


ภาพประกอบ 25 (ก) แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทสไอโซไซม์จากทางเดินอาหารของหนอนไหมสายพันธุ์ C₃ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว วิเคราะห์ด้วยเทคนิค โพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส



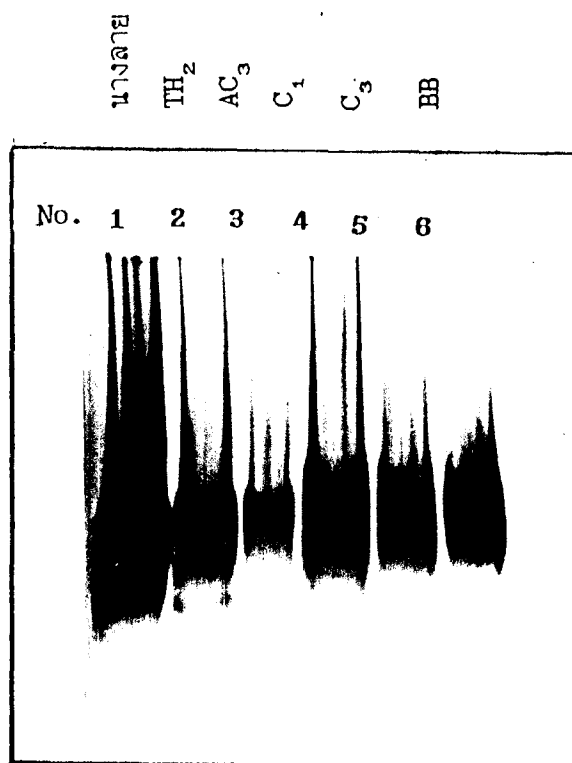
ภาพประกอบ 25 (ข) รูปแบบของแอลคาไลน์ ฟอสฟาเทสไอโซไซม์จากทางเดินอาหารของ
 หนอนไหมสายพันธุ์ C₉ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 วิเคราะห์ด้วยเทคนิค
 โพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส

1, 2, 3, ..., 10

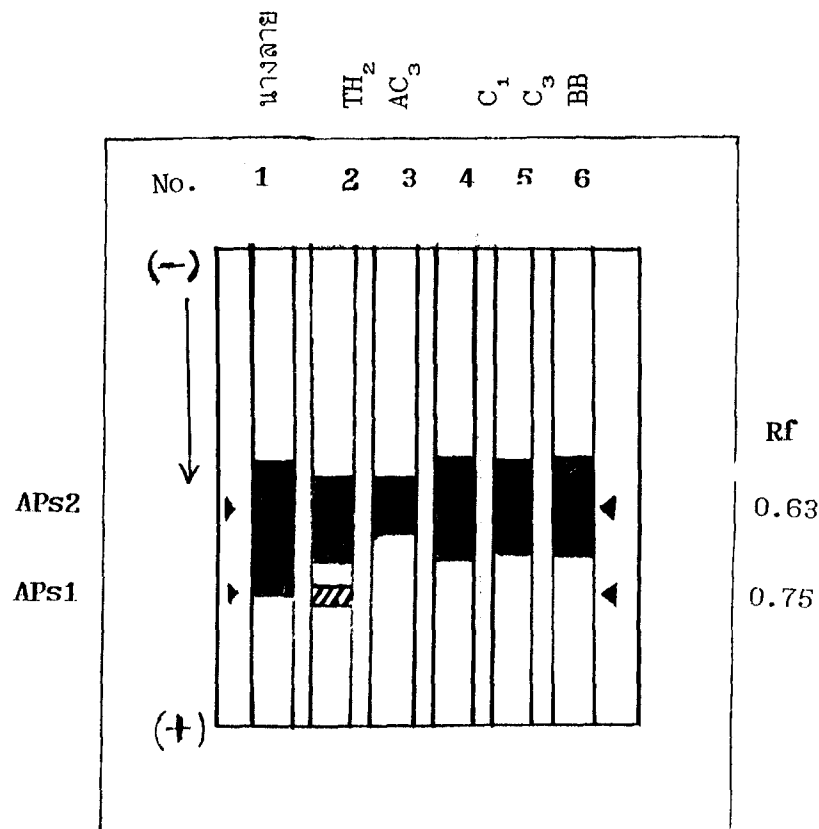


- : หนอนไหมที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 จำนวน 10 ตัว
- : แถบไอโซไซม์ที่มีความเข้มของสีย้อมเอนไซม์แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทสเรียงลำดับจากสีที่มีความเข้มมากไปหาสีที่มีความเข้มน้อย
- : แถบของเอนไซม์แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส ที่มีการเคลื่อนที่ในเจล จากซ้ายไปขวา

APS1 , APS2



ภาพประกอบ 26 (ก) แอลคาไลน์ฟอสฟาเทสไอโซไซม์จากทางเดินอาหารของหนูนมลายสายพันธุ์ นางลาย TH₂ AC₃ C₁ C₃ และ BB ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส



ภาพประกอบ 26 (ข) รูปแบบของแอลคาไลน์ ฟอสฟาเทสไอโซไซม์จากทางเดินอาหารของ หนอนไหมสายพันธุ์ นางลาย TH_2 AC_3 C_1 C_3 และ BB ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส

1, 2, 3, 4, 5, 6

: เอนไซม์จากทางเดินอาหารของหนอนไหมสายพันธุ์ นางลาย TH_2 AC_3 C_1 C_3 และ BB ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 เรียงตามลำดับ



: แถบไอโซไซม์ที่มีความเข้มของสีย้อมเอนไซม์แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส เรียงลำดับจากสีที่มีความเข้มมากไปหาสีที่มีความเข้มน้อย

APs1 , APs2

: แถบของเอนไซม์แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส ที่มีการเคลื่อนที่ในเจล เรียงลำดับจากแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้เร็วไปหาแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้ช้า

ตาราง 2 แสดงการเคลื่อนที่ของแถบไอโซไซม์และจำนวนแถบไอโซไซม์ของเอนไซม์
เอสเทอเรส ที่แยกจากหนอนไหมทั้งตัวของหนอนไหมสายพันธุ์ไทยวัย 1 ถึง วัย 4

แถบไอโซไซม์	ค่า Rf ของแถบเอสเทอเรส ไอโซไซม์ของหนอนไหมสายพันธุ์ต่าง ๆ	
	AC ₃	TH ₂
TEst4	0.43	0.49
TEst3	0.49	0.54
TEst2	0.55	0.60
TEst1	0.70	0.68
จำนวนแถบไอโซไซม์(แถบ)	4	4

TEst1-TEst4 : แถบของเอนไซม์เอสเทอเรสที่แยกจากหนอนไหมทั้งตัว
มีการเคลื่อนที่ไปบนเจลเรียงลำดับจากแถบ ไอโซไซม์ที่มี
การเคลื่อนที่ได้เร็วไปหาแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้ช้า

ตาราง 3 แสดงการเคลื่อนที่ของแถบไอโซไซม์และจำนวนแถบไอโซไซม์ของเอนไซม์
เอสเทอร์ส ที่แยกจากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ไทยและพันธุ์ต่างประเทศ

แถบไอโซไซม์	ค่า Rf ของแถบเอสเทอร์สไอโซไซม์ของหนอนไหม สายพันธุ์ต่าง ๆ					
	AC ₃	TH ₂	นล.	BB	C ₁	C ₃
HEst4	0.26	0.26	0.22	0.26	0.25	0.25
HEst3	0.46	0.44	0.44	0.38	0.40	0.49
HEst2	0.57	0.56	0.61	0.59	0.57	0.55
HEst1	0.65	0.67	0.67	0.65	0.64	0.58
จำนวนแถบไอโซไซม์(แถบ)	13	12	13	7	8	9

นล. : หนอนไหมสายพันธุ์นางลาย

HEst1-HEst4 : แถบของเอนไซม์เอสเทอร์สที่แยกจากอีโมลิฟของหนอนไหม
มีการเคลื่อนที่ไปบนเจลเรียงลำดับจากแถบไอโซไซม์ที่มีการ
เคลื่อนที่ได้เร็วไปหาแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้ช้า

ตาราง 4 แสดงการเคลื่อนที่ของแถบไอโซไซม์และจำนวนแถบไอโซไซม์ของเอนไซม์
เอสเทอเรสที่แยกจากทางเดินอาหารของหนอนไหมสายพันธุ์ไทยและพันธุ์ต่างประเทศ

แถบไอโซไซม์	ค่า Rf ของแถบเอสเทอเรสไอโซไซม์ของหนอนไหม สายพันธุ์ต่าง ๆ					
	AC ₃	TH ₂	นล.	BB	C ₁	C ₃
GEst3	0.43	0.46	0.43	0.53	0.51	0.51
GEst2	0.70	0.78	0.75	0.83	0.85	0.79
GEst1	0.89	0.97	0.94	0.98	0.98	0.94
จำนวนแถบไอโซไซม์ (แถบ)	7	5	5	6	5	5

นล. : หนอนไหมสายพันธุ์นางลาย

GEst1-GEst4 : แถบของเอนไซม์เอสเทอเรสที่แยกจากทางเดินอาหาร
ของหนอนไหม มีการเคลื่อนที่ไปบนเจลเรียงลำดับจาก
แถบไอโซไซม์ที่มีการเคลื่อนที่ได้เร็ว ไปหาแถบที่มีการ
เคลื่อนที่ได้ช้า

ตาราง 5 แสดงการเคลื่อนที่ของแถบไอโซไซม์และจำนวนแถบไอโซไซม์ของเอนไซม์แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทสที่แยกจากทางเดินอาหารของหนอนไหมสายพันธุ์ไทยและพันธุ์ต่างประเทศ

แถบไอโซไซม์	ค่า Rf ของแถบเอสเทอร์สไอโซไซม์ของหนอนไหมสายพันธุ์ต่าง ๆ					
	AC ₃	TH ₂	นล.	BB	C ₁	C ₃
APs3	-	-	-	0.24	0.19	-
APs2	0.59	0.64	0.69	0.65	0.44	
APs1	0.78	0.77	0.78	0.72	0.73	0.63
จำนวนแถบไอโซไซม์(แถบ)	2	2	2	3	3	1

- : ไม่ปรากฏแถบไอโซไซม์
- นล. : หนอนไหมสายพันธุ์นางลาย
- APs1-APs3 : แถบของเอนไซม์แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทสที่แยกจากทางเดินอาหารของหนอนไหม มีการเคลื่อนที่ไปบนเจลเรียงลำดับจากแถบไอโซไซม์ที่มีการเคลื่อนที่ได้เร็วไปหาแถบที่มีการเคลื่อนที่ได้ช้า

1. การศึกษารูปแบบเอสเทอร์ไฮโดรไลซ์จากส่วนที่เป็นของเหลวทั้งตัว ของหนอนไหมสายพันธุ์ไทย 2 สายพันธุ์ คือ AC₃ และ TH₂ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 1 - วัย 4

เนื่องจากหนอนไหมวัย 1 - 4 มีขนาดเล็กยากต่อการแยกส่วนของอีโมลิฟและทางเดินอาหารออกจากกัน การศึกษารูปแบบเอสเทอร์ไฮโดรไลซ์ในวัยเหล่านี้จึงใช้เอนไซม์รวมจากส่วนที่เป็นของเหลวทั้งตัวของหนอนไหมสายพันธุ์ไทย AC₃ และ TH₂ ซึ่งพบว่า มีแถบเอสเทอร์ไฮโดรไลซ์ที่ตรวจพบ 4 แถบ มีค่า Rf อยู่ระหว่าง 0.43-0.70 แสดงในตาราง 2 ซึ่งเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับเอสเทอร์ไฮโดรไลซ์ที่แยกจากอีโมลิฟและทางเดินอาหารที่มีค่า Rf อยู่ระหว่าง 0.22 - 0.67 และ 0.43 - 0.98 ตามลำดับ แสดงในตาราง 3 และตาราง 4 จะเห็นได้ว่าแถบเอสเทอร์ไฮโดรไลซ์มีระยะการเคลื่อนที่ ใกล้เคียงกับแถบเอสเทอร์ไฮโดรไลซ์ที่แยกจากทางเดินอาหาร เมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตของไหมจะพบว่า โดยทั่วไปหนอนไหมในระยะวัย 1 - 4 จะมีการเปลี่ยนแปลงในด้านของการเจริญเติบโตอย่างเห็นได้ชัด ดังนั้นข้อมูลที่ได้จากการทดลองน่าจะเป็นข้อสนับสนุนว่าแถบไฮโดรไลซ์ที่ปรากฏในช่วงวัย 1 - 4 เป็นไฮโดรไลซ์ซึ่งอยู่ในทางเดินอาหารของหนอนไหม และน่าจะมีส่วนสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตของหนอนไหมมากกว่าไฮโดรไลซ์จากอีโมลิฟ ซึ่งยังไม่ปรากฏหรือมีปริมาณน้อยมากในช่วงนี้

2. การศึกษารูปแบบเอสเทอร์ไฮโดรไลซ์จากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ TH₂ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 1 - 8

จากการเปรียบเทียบรูปแบบเอสเทอร์ไฮโดรไลซ์ที่แยกได้จาก อีโมลิฟของหนอนไหมวัย 5 ตั้งแต่วันที่ 1 จนถึงวัย 5 วันที่ 8 ปรากฏว่าอีโมลิฟจากหนอนไหมวัย 5 วันที่ 5 มีรูปแบบไฮโดรไลซ์ที่สมบูรณ์กว่าหนอนไหมวัย 5 ในระยะอื่น ๆ และมีแถบสีที่คมชัด ดังนั้นการศึกษาต่อไปจึงได้เลือกหนอนไหมที่มีการเจริญอยู่ในวัย 5 วันที่ 5 เท่านั้น

หนอนไหมวัย 5 มีการพัฒนาของต่อมสร้างเส้นไหมอย่างสมบูรณ์ และจะผลิตเส้นไหมในระยะที่เป็นหนอนไหมวัย 5 ตอนปลาย แถบไฮโดรไลซ์ของเอนไซม์เอสเทอร์เริ่มปรากฏขึ้นตั้งแต่ในระยะที่เป็นหนอนไหมวัย 5 วันที่ 1 และความคมชัดจะเพิ่มมากขึ้นในวันที่ 2, 3, 4 และมีความคมชัดมากที่สุดในวันที่ 5 ผลการทดลองนี้น่าจะสนับสนุนว่าแถบไฮโดรไลซ์ที่ปรากฏอยู่ในอีโมลิฟของหนอนไหม ในระยะวัย 5 อาจมีความสัมพันธ์กับการผลิตเส้นไหมจากต่อมสร้างเส้นไหม

3. การศึกษาเปรียบเทียบรูปแบบเอสเทอร์สไอโซไซม์จากอีโมลิฟของหนอนไหมพันธุ์ไทยและพันธุ์ต่างประเทศ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5

ผลการแยกเอนไซม์เอสเทอร์สจากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ไทย AC_3 TH_2 นางลาย และสายพันธุ์ต่างประเทศ BB C_1 และ C_3 ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 พบว่ามีแถบไอโซไซม์ ซึ่งแบ่งได้เป็น 4 กลุ่ม คือ HEst1 มีค่า Rf อยู่ระหว่าง 0.58 - 0.67 HEst2 มีค่าอยู่ระหว่าง 0.55 - 0.61 HEst3 มีค่า Rf อยู่ระหว่าง 0.38 - 0.46 และ HEst4 มีค่า Rf อยู่ระหว่าง 0.22 - 0.26 เอสเทอร์สไอโซไซม์ที่แยกได้จากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ AC_3 TH_2 นางลายมีจำนวนแถบไอโซไซม์อยู่ระหว่าง 12 - 13 แถบ โดยที่ไอโซไซม์ของหนอนไหมสายพันธุ์ไทย AC_3 และ นางลาย มีจำนวนแถบมากที่สุด 13 แถบ รองลงมาคือ TH_2 มี 12 แถบ สำหรับเอสเทอร์สไอโซไซม์ที่แยกได้จากอีโมลิฟของหนอนไหมสายพันธุ์ต่างประเทศ มีจำนวนแถบไอโซไซม์อยู่ระหว่าง 7 - 9 แถบ โดยที่ไอโซไซม์ของหนอนไหมสายพันธุ์ C_3 มีจำนวนมากที่สุด 9 แถบ รองลงมาคือ C_1 มีจำนวนแถบ 8 แถบ ส่วนสายพันธุ์ BB มีจำนวนแถบไอโซไซม์น้อยที่สุดคือ 7 แถบ จากผลการทดลองสอดคล้องกับ Chatterjee และคณะที่ได้ศึกษาไอโซไซม์ของเอนไซม์เอสเทอร์สที่แยกจากอีโมลิฟของหนอนไหมชนิด polyvoltine และ univoltine ซึ่งแยกได้ 11 แถบ และแถบที่มีแอกติวิตีสูงมี 2 แถบ (Chatterjee and others. 1988) ความแตกต่างของจำนวนแถบไอโซไซม์ ของเอนไซม์เอสเทอร์สในอีโมลิฟอาจเป็นดัชนีบ่งชี้ หรือมีส่วนสัมพันธ์กับความทนทานต่อสภาพแวดล้อมของหนอนไหมแต่ละสายพันธุ์ ทั้งนี้หนอนไหมพันธุ์ไทยซึ่งทนทานต่อโรคและสภาพแวดล้อมมากกว่าหนอนไหมพันธุ์ต่างประเทศมีจำนวนแถบไอโซไซม์ของเอสเทอร์สในอีโมลิฟมากกว่า อย่างไรก็ตาม จำนวนแถบไอโซไซม์ในอีโมลิฟของหนอนไหมพันธุ์ไทย และพันธุ์ต่างประเทศไม่มีส่วนสัมพันธ์กับแอกติวิตีของเอนไซม์ในแต่ละสายพันธุ์ ดังจะเห็นได้จากการที่ต้องใช้เอนไซม์จากอีโมลิฟของหนอนไหมพันธุ์ไทยมากกว่าจากพันธุ์ต่างประเทศ เพื่อใช้ในการแยก และข้อมแอกติวิตีของแต่ละไอโซไซม์

4. การศึกษาเปรียบเทียบรูปแบบเอสเทอร์สไอโซไซม์จากทางเดินอาหารของหนอนไหมพันธุ์ไทยและพันธุ์ต่างประเทศ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5

จากผลการแยกเอนไซม์เอสเทอร์สจากทางเดินอาหารของหนอนไหมสายพันธุ์ไทย AC_3 TH_2 นางลาย และสายพันธุ์ต่างประเทศ BB C_1 และ C_3 ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 พบว่า

สามารถจัดแถบไอโซไซม์ออกเป็น 3 กลุ่ม คือ GEst1 ซึ่งมีค่า Rf อยู่ระหว่าง 0.89 – 0.98 GEst2 มีค่า Rf อยู่ระหว่าง 0.71 – 0.85 และ GEst3 มีค่า Rf อยู่ระหว่าง 0.43 – 0.53 จากการตรวจแถบเอสเทอร์ไอโซไซม์ที่แยกจากทางเดินอาหารของหนอนไหมทั้งสายพันธุ์ไทยและพันธุ์ต่างประเทศพบว่าแถบไอโซไซม์ทั้งหมดประมาณ 5 – 7 แถบ จากการทดลองพบว่าแถบไอโซไซม์ที่แยกได้มีจำนวนใกล้เคียงกับที่ Liu และคณะได้ทำการศึกษาไว้ ซึ่งแยกได้ 8 แถบ (Liu and others. 1984) แต่ไม่มีแถบไอโซไซม์ที่บอกความแตกต่างกันอย่างชัดเจน ทั้งนี้อาจเป็นได้ว่าเอนไซม์เอสเทอร์ในทางเดินอาหารมีส่วนเกี่ยวข้องเฉพาะในด้านการเจริญเติบโตของหนอนไหมเพียงอย่างเดียว เพราะเมื่อพิจารณาปริมาณของตัวอย่างซึ่งต้องใช้จากแต่ละสายพันธุ์พบว่า ต้องใช้เอนไซม์จากหนอนไหมพันธุ์ไทยมากกว่าจากพันธุ์ต่างประเทศ คืออาจกล่าวได้ว่าเอนไซม์เอสเทอร์ในทางเดินอาหารของหนอนไหมพันธุ์ต่างประเทศมีเอกติวิตีสูงกว่าเอนไซม์เอสเทอร์ในทางเดินอาหารของหนอนไหมพันธุ์ไทย ซึ่งสอดคล้องกับความเป็นจริงที่ว่าหนอนไหมพันธุ์ต่างประเทศมีขนาดใหญ่ และมีการเจริญเติบโตเร็วกว่าหนอนไหมพันธุ์ไทยมาก

5. การศึกษาเปรียบเทียบรูปแบบเอสเทอร์ไอโซไซม์จากอีโมลิฟและทางเดินอาหารของหนอนไหมพันธุ์ไทยและพันธุ์ต่างประเทศ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5

จากการเปรียบเทียบรูปแบบเอสเทอร์ไอโซไซม์ที่แยกจากอีโมลิฟและทางเดินอาหารของหนอนไหมสายพันธุ์ AC₃ TH₂ นางลาย BB C₁ และ C₃ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5 พบว่าแถบเอสเทอร์ไอโซไซม์ที่แยกจากอีโมลิฟมีจำนวน 7-13 แถบ และแถบเอสเทอร์ไอโซไซม์ที่แยกจากทางเดินอาหารมีจำนวน 5-7 แถบ ซึ่งจำนวนแถบเอสเทอร์ไอโซไซม์ที่แยกจากอีโมลิฟมากกว่าที่แยกจากทางเดินอาหารอย่างเห็นได้ชัด นอกจากนี้จากตำแหน่งที่ต่างกันของไอโซไซม์จากอีโมลิฟ และทางเดินอาหาร แสดงให้เห็นว่าไอโซไซม์ของเอนไซม์เอสเทอร์ในอีโมลิฟและในทางเดินอาหารเป็น ไอโซไซม์ต่างชนิดกัน

6. การศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทสจากส่วนที่เป็นของเหลวทั้งตัวของหนอนไหมสายพันธุ์ AC₃ และ TH₂ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 1 – วัย 4

ผลการแยกเอนไซม์แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส จากส่วนที่เป็นของเหลวทั้งตัวของหนอนไหมสายพันธุ์ไทย 2 สายพันธุ์ คือ AC₃ TH₂ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 1 ถึงวัย 4 พบว่าแอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส ของหนอนไหมสายพันธุ์ AC₃ และ TH₂ มีจำนวนแถบไอโซไซม์ 2 แถบเท่ากัน และ

แต่ละแถบมีค่า Rf เท่ากันแสดงได้ด้วย APS1 มีค่า Rf 0.74 และ APS2 มีค่า Rf 0.54 แต่จากความเข้มของแถบสีที่ต่างกัน แสดงให้เห็นความแตกต่างในปริมาณ หรือเอกติวิตีของเอนไซม์ในแต่ละสายพันธุ์ ซึ่งอาจมีความสัมพันธ์กับคุณลักษณะเฉพาะบางอย่างที่แสดงความแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ และต้องมีการศึกษาค้นคว้าเพื่อหาข้อมูลเพิ่มเติมต่อไป

7. การศึกษาเปรียบเทียบศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทสจากอีโมลิฟของหนอนไหมพันธุ์ไทยและพันธุ์ต่างประเทศ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5

จากผลการทดลองแยกไอโซไซม์แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทสในอีโมลิฟของหนอนไหมพบว่าแถบไอโซไซม์มีสีจางมากไม่ชัดเจน และไม่สามารถนับจำนวนแถบที่แน่นอนได้ แสดงว่าเอนไซม์แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส ในอีโมลิฟมีเอกติวิตีต่ำ ไม่เหมาะสมสำหรับการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ซึ่งข้อมูลจากการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาถึงเอกติวิตีของเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ในทางเดินอาหารของหนอนไหม ซึ่งแสดงเอกติวิตีในสภาวะที่เป็นต่างเท่านั้น (Eguchi and Iwamoto. 1975) ดังนั้นเอนไซม์แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทสในทางเดินอาหารของหนอนไหมจึงแสดงเอกติวิตีสูงกว่าในอีโมลิฟ

8. ศึกษาเปรียบเทียบรูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์ แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทสจากทางเดินอาหารของหนอนไหมพันธุ์ไทยและพันธุ์ต่างประเทศ ที่เจริญอยู่ในระยะวัย 5 วันที่ 5

จากผลการแยกไอโซไซม์ของเอนไซม์ แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส จากทางเดินอาหารของหนอนไหมพันธุ์ไทย และ พันธุ์ต่างประเทศ ซึ่งปรากฏแถบไอโซไซม์ที่ตรวจพบ 3 แถบ คือ APS1 มีค่า Rf อยู่ระหว่าง 0.63 - 0.78 APS2 มีค่า Rf อยู่ระหว่าง 0.44 - 0.69 และ APS3 มี Rf อยู่ระหว่าง 0.19 - 0.24 แต่แถบไอโซไซม์ APS3 จะพบเฉพาะในสายพันธุ์ต่างประเทศ คือ BB และ C₁ เท่านั้น แต่ไม่พบในสายพันธุ์ไทยคือ AC₃ TH₂ และ นางลาย นอกจากนั้นในแต่ละสายพันธุ์จะมีความแตกต่างในอัตราส่วนระหว่างปริมาณไอโซไซม์ APS1 ต่อ APS2 ซึ่งยังไม่สามารถสรุปได้ว่ามีผลเกี่ยวข้องสัมพันธ์กับคุณสมบัติเฉพาะของแต่ละสายพันธุ์ ซึ่งอาจมีความแตกต่างกันอย่างไร การที่แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส ในทางเดินอาหารของหนอนไหมพันธุ์ไทยและพันธุ์ต่างประเทศ มีไอโซไซม์ซึ่งแตกต่างกันทั้งจำนวนและตำแหน่งของแถบไอโซไซม์ อาจเกี่ยวข้องสัมพันธ์กับลักษณะการเจริญเติบโตซึ่งแตกต่างกันได้ จากการทดลองจำนวนแถบไอโซไซม์ที่แยกได้ใกล้เคียงกับที่ Eguchi และคณะ ได้ทำการทดลองไว้ (Eguchi, Sawaki and Suzuki. 1971, 1972)

สรุปผลการทดลอง

จากการเปรียบเทียบรูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์เอสเทอร์ และแอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส ที่แยกจากอีโมลิฟและทางเดินอาหารของหนอนไหมพันธุ์ไทยและพันธุ์ต่างประเทศใน ระยะต่าง ๆ ของการเจริญเติบโต สรุปได้ดังนี้

1. เอนไซม์เอสเทอร์จากอีโมลิฟของหนอนไหมพันธุ์ไทย และพันธุ์ต่างประเทศมี จำนวนแถบไอโซไซม์แตกต่างกัน โดยไอโซไซม์ของเอนไซม์เอสเทอร์จากอีโมลิฟของหนอน ไหมพันธุ์ไทยมีจำนวนแถบมากกว่าของพันธุ์ต่างประเทศ แต่เอนไซม์จากอีโมลิฟของหนอนไหมพันธุ์ ต่างประเทศแสดงแอกติวิตีสูงกว่าเอนไซม์จากอีโมลิฟของหนอนไหมพันธุ์ไทย
2. เอนไซม์เอสเทอร์จากทางเดินอาหารของหนอนไหมพันธุ์ไทย และพันธุ์ต่าง ประเทศไม่มีความแตกต่างในส่วนของจำนวนแถบไอโซไซม์ แต่เอนไซม์จากทางเดินอาหารของ หนอนไหมพันธุ์ต่างประเทศแสดงแอกติวิตีสูงกว่า
3. ไอโซไซม์ของเอนไซม์เอสเทอร์ที่แยกได้จากอีโมลิฟ แตกต่างจากไอโซไซม์ ของเอนไซม์เอสเทอร์ที่แยกได้จากทางเดินอาหาร
4. ในระหว่างการเจริญของหนอนไหมจากวัย 1 ถึงวัย 5 จะมีการแสดงออกของ ไอโซไซม์ของเอนไซม์เอสเทอร์ซึ่งแตกต่างกันขึ้นกับการเปลี่ยนแปลงในการเจริญเติบโตซึ่ง เกิดขึ้นในแต่ละช่วงเวลา โดยไอโซไซม์ของทางเดินอาหารจะมีการแสดงออกเห็นชัดเจนตั้งแต่ วัย 1
5. เอนไซม์แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส จากอีโมลิฟของหนอนไหมทั้งพันธุ์ไทยและพันธุ์ ต่างประเทศมีแอกติวิตีต่ำ ทำให้ศึกษารายละเอียดได้
6. เอนไซม์แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส จากทางเดินอาหารของหนอนไหมพันธุ์ไทยและ พันธุ์ต่างประเทศ มีจำนวนแถบไอโซไซม์ซึ่งแตกต่างกัน โดยเอนไซม์จากหนอนไหมพันธุ์ไทยมี จำนวนแถบไอโซไซม์มากกว่าเอนไซม์จากหนอนไหมพันธุ์ต่างประเทศ 1 แถบ และเอนไซม์จาก แต่ละสายพันธุ์แสดงความแตกต่างในอัตราส่วนระหว่างปริมาณไอโซไซม์แต่ละชนิด
7. เอนไซม์แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส มีความแตกต่างของการแสดงออกของไอโซไซม์ ในแต่ละช่วงเวลาของการเจริญเติบโต ทำนองเดียวกับเอนไซม์เอสเทอร์
8. โดยสรุปจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าน่าจะสามารถใช้ความแตกต่างของ ไอโซไซม์ของเอนไซม์เอสเทอร์ และแอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส ของหนอนไหมสายพันธุ์ต่าง ๆ เป็นปัจจัยช่วยในการจำแนกสายพันธุ์ และเป็นดัชนีสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ไหมได้ หากได้รับการ ศึกษาในรายละเอียดต่อไป

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษารูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์เอสเทอร์ และแอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส จากหนอนไหมแต่ละเพศเปรียบเทียบกัน
2. ในการศึกษาเกี่ยวกับรูปแบบไอโซไซม์ควรจะมีการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสายพันธุ์เสียก่อนเพื่อที่จะได้รูปแบบไอโซไซม์ของหนอนไหมแต่ละสายพันธุ์มีรูปแบบที่แน่นอน
3. ควรเพิ่มจำนวนสายพันธุ์ใหม่ที่ใช้ในการศึกษาไอโซไซม์ของเอนไซม์เอสเทอร์ และแอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส ทำการศึกษาทั้งจากอีโมลิฟ และทางเดินอาหารของหนอนไหม จะทำให้ทราบรูปแบบไอโซไซม์ของหนอนไหมแต่ละสายพันธุ์ได้
4. ควรมีการศึกษารายละเอียดเพิ่มเติมเกี่ยวกับรูปแบบไอโซไซม์ ในระหว่างการเจริญของหนอนไหมในระยะต่าง ๆ ของการเจริญตั้งแต่ ในระยะที่เป็นหนอนจนถึงระยะที่เป็นดักแด้ เพื่อเป็นประโยชน์ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงในขบวนการเมตาบอลิซึม
5. จากรูปแบบไอโซไซม์ และลักษณะไอโซไซม์ของเอนไซม์เอสเทอร์ ซึ่งแสดงถึงแอกติวิตีของเอนไซม์ควบคู่ไปกับการศึกษาไอโซไซม์ เพื่อเป็นแนวทางเบื้องต้นในการศึกษาด้านชีวเคมีของเอนไซม์
6. ตัวอย่างที่ใช้ในการแยกเอนไซม์จะต้องเป็นตัวอย่างที่มีอายุอยู่ในช่วงเดียวกัน เพื่อให้ได้รูปแบบไอโซไซม์ที่มีแบบแผนที่แน่นอนในทุก ๆ สายพันธุ์
7. จากการศึกษาถึงรูปแบบไอโซไซม์ทำให้ทราบว่า เอนไซม์เอสเทอร์มีลักษณะเป็นโพลีเมอร์ฟิคไอโซไซม์มากกว่าเอนไซม์ แอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส จึงน่าจะมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับไอโซไซม์เพื่อเป็นประโยชน์ต่อการจำแนกสายพันธุ์

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

- กรมวิชาการเกษตร. หม่อน-ไหม. กรุงเทพฯ ฯ : วรุฒิการพิมพ์, 2523.
- จิรันทร ยูวะนิยม และคนอื่น ๆ. " ลายพิมพ์นิวเคลียร์ดีเอ็นเอของหนอนไหม (*Bombyx mori* L.) ," การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 17. กรุงเทพฯ ฯ : สมาคมวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทยในพระบรมราชูปถัมภ์, 532 - 533 ; 2534.
- ชิตาภา เกตวัลห์. ลัทธิฐานวิทยาของแมลง. กรุงเทพฯ ฯ : ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2527.
- ประภา ศิริบุญ. การเจริญเติบโตของไหมปกติ และไหมถูกรังสี วิทยานิพนธ์ วท.ม. กรุงเทพฯ ฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2508. อัดสำเนา.
- พรรณี ศรีบรรเทา. เทคนิคการเลี้ยงไหม สำหรับประเทศไทย. กรุงเทพฯ ฯ : กรมส่งเสริมอุตสาหกรรมสิ่งทอ, 2530.
- วนิดา จรุงจิตต์. "ผ้าไหมของก้านลจากธรรมชาติ," วารสารกัญและสัตววิทยา. 9 : 35 - 37 ; 2530.
- สมศรี กันตรัตนากุล "การกกไข่ไหม และการชลอกการฟักของไข่ไหม," ข่าวงานวิจัยและเทคโนโลยี. 10(10) : 1-5 ; 2534.
- सान วิไล. "อาหารเทียมของหนอนไหม," แก่นเกษตร. 14(3) : 119-127 ; 2529.
- อมรรัตน์ สวัสดิ์ทิต. "การปลูกหม่อนเลี้ยงไหม," วิทยาศาสตร์เกษตร. 9 : 423-427 ; 2518.
- Abraham, C. and S. Bernard. Biochemistry. Tokyo : Toppan Company Limited, 1967.
- Alikhan, A. Biochemical Studies on the Haemolymph Esterase Isozyme in the Silkworm, Bombyx mori L. Doctor's Thesis. Department of Sericulture : Graduate School Seoul National University, 1989. photocopied.
- Alikhan, A., J. Moon and S. Lee. " Genetic Variation of Esterase Isozymes of Larval Haemolymph in Relation to Geographical Origin in the Silkworm, Bombyx mori L.," Seoul Natl J Agric Sci. 13(1) : 41-50 ; 1988.
- Asakawa, H., K. Hamano. "Polymorphism of Digestive Amylase Isozyme in the Silkworm Bombyx mori L.," J. Seric Sci Jpn. 58(4) : 322 - 326 ; 1989.
- Chatterjee, S.N., S.K. Ashawath and M. Rajendra. " Genetic Variability of Esterases in India Silkworm," CSRTI Newsletter. 4(1) : 5 ; 1988.

- Chen, J., T. Yajinuma and O. Yamashita. "Effect of Diapause Hormone on Cyclic Nucleotide Metabolism in Developing Ovaries of the Silkworm, *Bombyx mori*," Comp. Biochem. Physiol. 91B(4) : 631-637 ; 1987.
- Davis, B.J. "Disc Electrophoresis-II : Method and Application to Human Serum Proteins," Ann. N. Y. Acad. Sci. 121 : 404-427 ; 1964.
- Eguchi, M. and A. Iwamoto. "Alkaline Protease in the Midgut Tissue and Digestive Fluid of the Silkworm, *Bombyx mori*," Insect Biochem. 6 : 491-496 ; 1976.
- Eguchi, M., and A. Iwamoto. "Changes in Protease, Esterase and Phosphatase in the Alimentary Canal of the Silkworm during Metamorphosis." Insect Biochem. 5 : 495-507 ; 1975.
- Eguchi, M. and T. Sugimoto. "Changes in Esterase Zymogram of the Silkworm, *Bombyx mori* L. during Development," J. Seric Sci Jpn. 33(4) : 321-325 ; 1965.
- . "Multiple Forms of Midgut Alkaline Phosphatase in the Silkworm : Separation and Comparison of two Isoenzymes," Insect Biochem. 2 : 167-174 ; 1971.
- Eguchi, M., M. Sawaki and Y. Suzuki. "Multiple Forms of Midgut Alkaline Phosphatase in the Silkworm : New Band Formation and the Relative between the Midgut and Digestive Fluid Enzyme," Insect Biochem. 2 : 297-304 ; 1972.
- Garmo, T. "Study of Zymograms are Observed 4 Types in Silkworm *Bombyx mori*," Jap. J. Gen. 53(2) : 129 ; 1978.
- Gharib, B., J. Lejay and M. Reggi. "Potentiation of Developmental Abilities of Diapausing Eggs of *Bombyx mori* L. By 20-Hydroxyecdysone," J. Insect Physiol. 27(10) : 711-713 ; 1981.
- Hag, A., H. Doira, T. Watanabe and B. Sakaguchi. "Sericin Components and Cocoon Reelabilities in the Silkworm, *Bombyx mori*," J. Seric Sci Jpn. 57(6) : 451-459 ; 1988.
- Hara, W., H. Fujii and B. Sakaguchi. "Activity and Polymorphism of Digestive Juice Amylase in Various Strains of *Bombyx mori*," J. Seric Sci Jpn. 53(6) : 496-500 ; 1986.
- Hara, W., H. Fujii and B. Sakaguchi. "The AE Locus and the Genes Controlling Cathodal Amylase Isozymes of Digestive Juice in *Bombyx mori*," 55(2) : 147-152 ; 1986.
- Hukuhara, T., S. Satake and Y. Sato. "Rhythmic Contractile Movements of the Larval Midgut of the Silkworm, *Bombyx mori*," J. Insect Physiol. 27(7) : 469-473 ; 1981.
- Ito, T. and T. Inokuchi. "Nutritive Effects of D-amino Acids on the Silkworm, *Bombyx mori* L.," J. Insect Physiol. 27(7) : 441-453 ; 1981.
- Ito, T. "Sterol Requirements of the Silkworm, *Bombyx mori* L.," Nature(London), 191 : 882-883 ; 1961.
- JOVC. Text book of Tropical Sericulture. Tokyo : Sibuya Ku, 1975.
- Kai, H. and T. Kawai. "Diapause Hormone in *Bombyx* Eggs and Adult Ovaries," J. Insect Physiol. 27(9) : 623-627 ; 1981.

- Kai, H., M. Yungen and T. kawai. "A clock-run activation of esterase A₄ by cold in vitro in cholesterol esterase activity," J. Seric Sci Jpn. 57(4) : 335-340 ; 1988.
- Kanekatsu, R. "Properties of an Alkaline Amylase in the Digestive Juice of the Silkworm, *Bombyx mori*." J. Fac Text Sci Technol Shinshu Univ Sere Agric Seric. 9 : 1-22 ; 1978.
- Kusano, T. and S. Tanabe. "Enzymatic Properties of the Midgut Amylase Activity and its Changes during Development in the Cabbage Armyworm, *Mamestra brassical* L.," Kontyu. Tokyo 54(1) : 12-24 ; 1986.
- Laufer, H. "Blood Proteins in Insect Development," Ann. N.Y. Acad. Sci. 89 : 490-515 ; 1960.
- Laufer, H. "Blood Proteins in Insect Development," Ann. N.Y. Acad. Sci. 94 : 825-835 ; 1960.
- Lesworth, W. Insect Physiology. London : Methuem, 1956.
- Liu, K. and M. Yoshitake. "The Esterase Bands in the Midgut System of the Silkworm, *Bombyx mori*," J. Seric Sci Jpn. 53(5) : 432 ; 1984.
- Maekawa, H., N. Takada, K. Mikitani, T. Ogura, N. Miyajima, H. Fujiwara, M. Kobayashi and O. Ninaki. "Nucleolus Organizers in the Wild Silkworm, *Bombyx mandarina* and the Domesticated Silkworm, *Bombyx mori*," Chromosoma 96(4) : 263-269 ; 1988.
- Metcalf, C.L. and W.P. Flint. Destructive and Useful Insects. London : McGraw - Hill Book, 1951.
- Moon, J.Y. and K.W. Sohn. "Effects of Dietary Nutrients on Vitellogenin and Vitellin Quantities in the Silkworm, *Bombyx mori*," Seoul Natl Univ J Agric Sci. 13(1) : 51-56 ; 1988.
- Ornstein, L. "Disc Electrophoresis-I : Background and Theory," Ann. N. Y. Acad. Sci. 121 : 321-349 ; 1964.
- Raymond, S. and L. Weintraub. "Acrylamide Gel as a Support Medium for Zone Electrophoresis," Science. 130 : 711 ; 1959.
- Sampath, J. Handbook of practical sericulture. 3 rd ed. Bangalore : Central Silk Board, 1987.
- Sasaki, F. "Genetic Variability in a Particular Species," Jap. J. Gen. 49(4) : 223 ; 1974.
- Shaw, C.R. "Electrophoretic Variation in Enzymes," Science. 149 : 936-943 ; 1965.
- Smithies, O. "Zone Electrophoresis in Starch Gel, Group Variation in Serum Proteins of Normal Human Adults," Biochem. J. 61 : 629-641 ; 1955.
- Tanaka, Y. and T. Kusano. "The Haemolymph Amylase Activity during Development of the Silkworm, *Bombyx mori* L.," J. Seric Sci Jpn. 49(2) : 95-99 ; 1980.
- Tanksley, S.D. and T.J. Orton. Isozymes in plant genetics and breeding. Amsterdam : Elsevier Science Publishers B.V., 1983.

- TSukada, M., H. Kawakita, T. Mori, M. Nagura and H. Ishikawa.
"Silk Firoin Contained in Nd-s Sericin fiber," J. Seric Sci Jpn. 57(6) : 466-469 ; 1988.
- Veldhuis, H.W. and K.V. Asperen. "Occurrence and Inheritace of Esterase in Musca Domestica." Ent. Expl. Applied. 6 : 79-87 ; 1963.
- Yoshitake, N. and M. Akiyama. " Genetic Studies on the Silkworm, Bombyx mori L.," Jap. J. Gen. 39(1) : 26-30 ; 1964.
- Yoshitake, N. "Genetical Studies on the Alkaline-phosphatase in the Midgut of the Silkworm, Bombyx mori L.," J. Seric Sci Jpn. 33 : 28-33 ; 1964.

ภาคผนวก ก

การย้อมเอนไซม์เอสเทอร์ส (Tanksley and Orton. 1983)

สารละลายย้อม

1. 0.1 M Phosphate buffer pH 6.0
2. Fast blue RR salt
3. เตรียม a-naphthyl acetate และ b-naphthyl acetate รวม 0.1 %

วิธีย้อม

นำข้อ 1 และข้อ 2 รวมกันก่อนทำการย้อม 30 นาที แล้วจึงเติมสารละลายในข้อ 3 แล้วนำเจลที่ต้องการย้อมแช่ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง ควรจะทำการเขย่าเบาๆด้วย เครื่องเขย่าสาร (Shake) เพื่อไม่ให้สีย้อมตกตะกอนบนผิวหน้าเจล เทสารละลายสีย้อมออก ล้างด้วยน้ำกลั่นหลายๆครั้ง หลังจากนั้นนำไปฟิกซ์ด้วยสารละลายกรดอะซิติก 7 % และกลีเซอรอล 10 %

หมายเหตุ สารละลายสีย้อมเอนไซม์นี้สามารถย้อมเจลได้ 4 แผ่น

การย้อมเอนไซม์แอลคาไลน์ฟอสฟาเทส (Tanksley and Orton. 1983)

สารละลายย้อม

1. Tris-HCl buffer 50 mM pH 8.5
2. $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 1 M
3. MnCl_2 1 M
4. เตรียม Sodium-a-naphthyl phosphate และ Sodium-b-naphthyl phosphate รวม 0.1 % ละลายใน 50 % acetone
5. Fast blue RR salt

วิธีย้อม

ละลาย Fast blue RR salt ลงในสารละลายในข้อ 4 เติม Tris-HCL buffer $MgCl_2$ และ $MnCl_2$ ตามลำดับ คนแรงๆ ให้เข้ากันก่อนเทลงในถาดย้อม นำเจลที่ต้องการย้อม แช่ไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-5 ชั่วโมง หรือจนกว่าจะเห็นแถบสีชัดเจน เทสารละลายสีย้อมออกแล้วฟิixeด้วยสารละลาย fixing solution 15 นาที

หมายเหตุ สารละลายสีย้อมเอนไซม์นี้สามารถย้อมเจลได้ 4 แผ่น และน้ำยาฟิixe (Fixative) สามารถนำมาใช้ซ้ำได้อีก 1-2 ครั้ง

ภาคผนวก ข

การพักตัวของไข่ไหม

การพักตัว (diapause) ของแมลงเกิดขึ้นได้ในทุกระยะของการเจริญเติบโตตั้งแต่ใน ระยะที่เป็นไข่ ตัวอ่อน จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย (ชิตาภา. 2527) เนื่องจากสภาพแวดล้อม เช่น สภาพอากาศไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต มีผลทำให้ตัวอ่อนที่เจริญอยู่ภายในไข่มีการหยุดพัก การเจริญ

ไหมเป็นแมลงชนิดหนึ่งที่สามารถเลี้ยงได้ในประเทศต่าง ๆ ทั่วโลก ซึ่งสภาพแวดล้อม ในการเลี้ยงแตกต่างกัน จึงจำแนกไข่ไหมได้ 2 ชนิดดังนี้ คือ (สมศรี กันตรัตนกุล. 2534)

1. ไข่ไหมชนิดที่ไม่มีการพักตัว (inhibernating egg) หรือ (non-hibernating egg)

มีการเลี้ยงไหมที่เกิดจากไข่ไหมชนิดที่ไม่มีการพักตัวในประเทศต่าง ๆ ที่อยู่ในเขตร้อน เช่น ประเทศไทย อินเดีย ลาว เวียดนาม ฯลฯ ไข่ไหมชนิดนี้มีสีเหลืองสดและมีขนาดเล็ก ไข่ไหมชนิดที่ไม่มีการพักตัวนี้ ในขณะที่ไข่ยังไม่ฟักออกเป็นตัวหนอนนั้น ตัวอ่อนที่อยู่ภายในไข่จะมีการเจริญเติบโตโดยไม่มีระยะพักตัว การเปลี่ยนแปลงของไข่ไหมหลังจากที่แม่ผีเสื้อวางไข่ ซึ่ง ไข่จะมีสีเหลืองอ่อนหรือสีครีม และไข่ยังคงมีสีเช่นเดิมจนกระทั่งนับจากวันที่วางไข่เป็นวันที่ 7-8 ก็จะมีเริ่มปรากฏจุดดำอยู่บริเวณริมฟองไข่ เมื่อมีอายุเป็นวันที่ 9 ไข่ไหมจะเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเทาดำ และมีสีเข้มขึ้นเรื่อย ๆ จนกระทั่งเป็นสีเทาดำ จึงฟักออกเป็นตัวหนอนในวันต่อไป ระยะเวลา ตั้งแต่แม่ผีเสื้อวางไข่ จนกระทั่งฟักออกเป็นตัวหนอนกินเวลาประมาณ 10-11 วัน

2. ไข่ไหมชนิดที่มีการพักตัว (hibernating egg) หรือ (diapause egg)

มีการเลี้ยงไหมที่เกิดจากไข่ไหมชนิดที่มีการพักตัว ในประเทศที่อยู่ในเขตอบอุ่น หรือเขตหนาว เช่น ประเทศจีน ญี่ปุ่น เกาหลี และอีกหลายประเทศในแถบยุโรป ไข่ไหมชนิดนี้มีสีขาว และมีขนาดใหญ่ ไข่ไหมชนิดนี้ไม่สามารถฟักออกเป็นตัวได้เลยเหมือนกับไข่ไหมชนิดที่ไม่มีการ พักตัว โดยไข่ไหมชนิดนี้จะผลิต diapause hormone ทำให้เกิดการพักตัวของตัวอ่อนภายใน ไข่ไหมตลอดช่วงฤดูหนาว ไข่ไหมชนิดนี้จะออกได้เองตามธรรมชาติในฤดูใบไม้ผลิ และเนื่องจาก ในประเทศเขตหนาวและเขตอบอุ่นมีฤดูหนาวที่ยาวนานแตกต่างกัน ดังนั้นพันธุ์ไหมที่เลี้ยงจึงขึ้นอยู่กับ

กับสภาพแวดล้อม ซึ่งอาจจะเป็นพันธุ์ที่ฟักออกได้เอง 1 ครั้งต่อปี (univoltine) หรือ 2 ครั้งต่อปี (bivoltine) แต่มนุษย์สามารถใช้ความรู้ด้านวิทยาศาสตร์เข้าช่วย โดยพัฒนาวิธีการฟักเทียมขึ้นและสามารถกำหนดเวลาให้ไข่ไหมชนิดที่มีการฟักตัวฟักออกเป็นตัวหนอนได้ตามวันและเวลาที่กำหนดตามต้องการ

ประวัติย่อของผู้วิจัย

ชื่อ นางสาววาสนา ชื่อสกุล สิงห์ดวง
เกิดวันที่ 31 เดือน ธันวาคม พุทธศักราช 2508
สถานที่เกิด เขต พระนคร จังหวัดกรุงเทพฯ ฯ
สถานที่อยู่ปัจจุบัน บ้านพักครูโรงเรียนเนินมะปรางศึกษาวิทยา
อ. เนินมะปราง จ. พิษณุโลก 95190

ประวัติการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีการศึกษาที่จบ
มัธยมศึกษาปีที่ 6	โรงเรียนสตรีวิทยา	พ.ศ. 2526
กศบ. (เคมี) เกียรตินิยมอันดับ 2	มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางเขน	พ.ศ. 2530
วท.ม. (เคมีชีวภาพ)	มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร	พ.ศ. 2535

ทุนการศึกษา ได้รับทุนพระราชทานภูมิพลประเภทเรียนดี ในขณะที่เป็นนิสิตปริญญาตรี ชั้นปีที่ 2 พุทธศักราช 2526
ได้รับทุนการศึกษาเข้าเรียนต่อในระดับปริญญาโท สาขาวิชา เคมี ปีพุทธศักราช 2531

ประวัติการทำงาน

พ.ศ. 2532 นักวิจัยโครงการปรับปรุงพันธุ์ใหม่ สาขาพันธุศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
พ.ศ. 2533 จนถึงปัจจุบัน รับราชการเป็นอาจารย์ 1 ระดับ 3 โรงเรียนเนินมะปรางศึกษาวิทยา อ. เนินมะปราง จ. พิษณุโลก 65190 โทร (055) 399037

การศึกษาไอโซไซม์ของเอนไซม์เอสเทอร์ส และแอลคาไลน์ ฟอสฟาเทส
ในระหว่างการเจริญของหนอนไหม *Bombyx mori* L.

บทคัดย่อ
ของ
วาสนา สิงห์ดวง

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเคมีชีวภาพ

มีนาคม 2536

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับรูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์เอสเทอร์และแอลคาไลน์ฟอสฟาเทส จากอีโมลิฟและทางเดินอาหารของหนอนไหมสายพันธุ์ไทย 3 สายพันธุ์ คือ AC₃ , TH₂ และนางลาย และสายพันธุ์ต่างประเทศ 3 สายพันธุ์ คือ BB , C₁ และ C₃ โดยวิธีโพลีอะคริลาไมด์ เจล อิเล็กโตรโฟเรซิส

รูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์เอสเทอร์จากอีโมลิฟ มีความแตกต่างจากไอโซไซม์ของเอนไซม์จากทางเดินอาหารทั้งในด้านจำนวน และตำแหน่งของแถบไอโซไซม์ โดยไอโซไซม์จากอีโมลิฟมี 4 แถบหลัก และไอโซไซม์จากทางเดินอาหารมี 3 แถบในตำแหน่งที่ต่างกัน รูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์แอลคาไลน์ฟอสฟาเทสในทางเดินอาหารมี 2-3 แถบหลัก แต่รูปแบบไอโซไซม์ของแอลคาไลน์ฟอสฟาเทสในอีโมลิฟ ไม่สามารถศึกษาได้ในรายละเอียด เนื่องจากเอนไซม์มีเอกติวิตีต่ำมาก

เอนไซม์เอสเทอร์จากอีโมลิฟของหนอนไหมพันธุ์ไทย มีจำนวนแถบไอโซไซม์มากกว่าเอนไซม์ในอีโมลิฟของหนอนไหมพันธุ์ต่างประเทศ แต่จำนวนแถบไอโซไซม์ของเอนไซม์เอสเทอร์จากทางเดินอาหารของหนอนไหมพันธุ์ไทยและพันธุ์ต่างประเทศไม่มีความแตกต่างกัน ในทั้งสองกรณีเอนไซม์จากหนอนไหมพันธุ์ต่างประเทศมีเอกติวิตีสูงกว่าเอนไซม์จากแหล่งเดียวกันในหนอนไหมพันธุ์ไทย เอนไซม์แอลคาไลน์ฟอสฟาเทสที่แยกจากทางเดินอาหารของหนอนไหมพันธุ์ไทยและพันธุ์ต่างประเทศ มีจำนวนแถบและรูปแบบไอโซไซม์ซึ่งไม่แตกต่างกัน แต่เอนไซม์จากหนอนไหมพันธุ์ต่างประเทศมีเอกติวิตีสูงกว่า รูปแบบไอโซไซม์ของเอนไซม์แอลคาไลน์ฟอสฟาเทสจากอีโมลิฟของหนอนไหมทั้งพันธุ์ไทยและพันธุ์ต่างประเทศ ไม่สามารถศึกษาได้เนื่องจากเอนไซม์มีเอกติวิตีต่ำมาก

รูปแบบของไอโซไซม์ที่ตรวจพบขึ้นกับแหล่งของเอนไซม์ สายพันธุ์ และช่วงระยะของการเจริญเติบโต ไอโซไซม์ของเอนไซม์เอสเทอร์ของหนอนไหมทั้งตัวทั้งพันธุ์ไทยและพันธุ์ต่างประเทศมีจำนวนแถบคงที่ช่วงวัย 1 ถึง วัย 4 และมีรูปแบบเหมือนไอโซไซม์จากทางเดินอาหารของหนอนไหมวัย 5 ซึ่งคงที่ตลอดช่วงอายุของหนอนไหม แต่เอนไซม์จากอีโมลิฟจะแสดงออกชัดเจนในวัย 5 โดยแสดงจำนวนแถบสูงสุดในช่วงวัย 5 วันที่ 5

A STUDY ON ISOZYME PATTERNS OF ESTERASE AND ALKALINE PHOSPHATASE
DURING LARVAL DEVELOPMENT OF , *Bombyx mori* L.

AN ABSTRACT

BY

WASSANA SINGDAUNG

Presented in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master
of Sciences Degree in Biological Chemistry
at Srinakharinwirot University

March 1993

Abstract

The present study was the preliminary investigation on isoenzymes patterns of esterase and alkaline phosphatase during larval development of silkworm *Bombyx mori* L. These strains of polyvoltine silkworm AC₃, TH₂ and Nanglai and these strains of univoltine silkworm BB, C₁ and C₃ were used. Total, haemolymph and gut enzymes were analyzed by electrophoresis on slab polyacrylamide gel.

The isozyme patterns of haemolymph esterase differed from those of the gut with respect to both the number and the mobility of the isozymes. Haemolymph esterase consisted of 4 major bands whereas 3 different bands were seen in the gut enzyme. Alkaline phosphatase from the gut consisted of 2 - 3 major isozymes, however, the haemolymph isozyme patterns were unobtainable due to low activity.

Haemolymph esterase of polyvoltine strains differed from the enzyme from bivoltine strains with respect to the number of bands, being more in polyvoltine strains, but the gut enzymes were similar in both types of strains. Alkaline phosphatase from the gut of polyvoltine and bivoltine strains were similar both in the number and the position of the bands.

The isozyme patterns obtained exhibited variations depending upon the sources of enzymes, origin of strains, and stages of development. Total esterases from both polyvoltine and bivoltine strains exhibited similar pattern from stage 1- stage 4 corresponding to the gut pattern of stage 5 larvae and remained unchanged throughout the whole larvae life. However the expression of the enzyme from haemolymph could be clearly seen only in stage 5 larvae with maximum number of bands present on day 5th.