พาร์ธิโนจิเนซิสในไหมและการใช้ประโยชน์

Parthenogenesis in Silkworm and Applications

สาน วิไล

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม 44150

บทคัดย่อ

การชักนำให้ไข่ไหมจากผีเสื้อที่ไม่ได้รับการปฏิสนธิให้สามารถพัฒนาเป็นตัวได้ โดยแช่ไข่ไหมในน้ำร้อนอุณหภูมิ 46 ˚C นาน 18 นาที น้ำเย็น 10 ˚C 10 นาที และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 16 - 17 ˚C นาน 3 - 4 วัน ทำให้ได้เฉพาะไหมเพศเมียที่มีความสม่ำเสมอทั้งหนอนไหม และรังไหม ไหมแต่ละสายพันธุ์สามารถเกิดพาร์ธิโนจิเนซิสได้แตกต่างกัน โดยทั่วไปไหมลูกผสมมีอัตราการเกิดพาร์ธิโนจิเนซิสได้มากกว่าไหมพันธุ์แท้ และอัตราการเกิดของไหมพันธุ์เดียวกันจะเพิ่มมากขึ้นในชั่วหลังๆ ด้วยการคัดเลือกจากแม่ผีเสื้อที่เกิดพาร์ธิโนจิเนซิสได้มากและฟักออกเป็นตัวได้มากด้วย ไหมพันธุ์ Pg5 เป็นไหมที่เกิดมาจากกรรมวิธีพาร์ธิโนจิเนซิสของประเทศไทย พัฒนาพันธุ์มาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2544 และสามารถเลี้ยงอนุรักษ์โดยกรรมวิธีพาร์ธิโนจิเนซิสได้มาจนถึงปัจจุบันอยู่ในชั่วที่ 44 ไหมพันธุ Pg5 มีลายบนลำตัวแบบปกติ รังไหมมีขนาดใหญ่ สีขาว ให้ผลผลิตรังไหมและเส้นไหมมาก ใช้ประโยชน์เป็นเชื้อพันธุกรรมในงานปรับปรุงพันธุ์ไหม

คำสำคัญ: พาร์ธิโนจิเนซิส, หนอนไหม, *Bombyx mori* L., ไข่ไหมที่ไม่ได้รับการผสม, การผสมเทียมไหม

Abstract

Unfertilized eggs from virgin silkworm moth were induced to develop to larvae by a treatment of hot water at 46 ºC for18 min. The eggs were then soaked in cooled water at 10 ºC 10 min. Thereafter, they were kept at 16- 17 ºC for 3- 4 days to obtain only female parthenogenetic silkworms with uniform in larvae and cocoons.The induction rate was different in silkworm races, but quite good in hybrid silkworm strains. High percentage of parthenogenetic silkworm eggs and egg hatchability were obtained from selection through former good performance parthenogenesis. In Thailand, since 2001, parthenogenetic silkworm, Pg5 was developed. Up tonow, Pg5 could maintained through parthenogenesis for 44 generations. Larval pattern is normal marking, big size of white cocoon and high productivity of cocoon and silk which used for germplasm in silkworm breeding.

Keywords: artificial parthenogenesis, silkworm, *Bombyx mori* L., unfertilized egg, parthenogenetic silkworm

บทนำ

ไหมเป็นแมลงอยู่ในอันดับ Lepidoptera ตระกูล Bombycidae (*Bombyx mori* L.) มีการเจริญเติบโตแบบสมบูรณ์ (complete metamorphorsis) วงจรชีวิตหรือชีพจักรของไหมแบ่งเป็น 4 ขั้นตอน ได้แก่ ระยะไข่ หนอน ดักแด้ และผีเสื้อ ไหมเป็นแมลงที่เมื่อผีเสื้อผสมพันธุ์กัน อสุจิจะถูกเก็บรักษาไว้ในถุงเก็บน้ำเชื้อของเพศเมียที่เรียกว่า สเปิร์มาเธกา (spermatheca) ระหว่างวางไข่อสุจิจากถุงเก็บน้ำเชื้อจะผ่านทางช่องไมโครไพล์ (micropyle) เข้าไปอยู่ในไข่ไหม ระยะที่ผีเสื้อวางไข่ ไข่ไหมมีการแบ่งเซลล์อยู่ในระยะเมตาเฟส (metaphase) และการปฏิสนธิเกิดขึ้น 2 ชั่วโมงหลังจากวางไข่ ได้ไซโกต (zygote) ไซโกตมีการแบ่งนิวเคลียสแบบไมโตซิสได้คลีเวจ (cleavage) เป็นจำนวนมากและมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องได้ตัวอ่อนของไหมที่มีอวัยวะต่างๆ สมบูรณ์พร้อมจะฟักออกเป็นตัวหนอน ไม่ว่าจะเป็นไหมไทยพื้นบ้านหรือไหมพันธุ์ต่างประเทศมีพัฒนาการทั้งหมด 30 ระยะ [1] ระยะที่เป็นไข่ (egg) เป็นระยะที่มีความสำคัญมากในที่นี้จะคิดตั้งแต่ไข่ในท้องแม่ผีเสื้อจนกระทั่งวางไข่ออกมา ไข่ที่วางใหม่ๆหรือไข่ไหมที่มีอายุน้อยๆ ถ้ามีการใส่ปัจจัยภายนอกเข้าไปเช่น อุณหภูมิ แรงหมุนเหวี่ยง รวมทั้งสารเคมีต่อไข่ไหม จะทำให้ไข่ไหมที่ได้มาจากแม่ผีเสื้อที่ไม่ผ่านการปฏิสนธิมาก่อน มีการพัฒนาต่อไปได้มีนักวิชาการหลายท่านได้ศึกษาค้นคว้าและประสบความสำเร็จในการทำให้ไข่จากไหมเพศเมียที่ไม่ได้รับการผสมพันธุ์จากเพศผู้มีการพัฒนาเป็นตัวหนอนไหมได้ มีการเจริญเติบโตที่ปกติและสม่ำเสมอและเจริญเติบโตไปเป็นไหมเพศเมียอย่างเดียว [2]

พาร์ธิโนจิเนซิส (parthenogenesis) ในไหมเป็นกรรมวิธีทำให้ไข่ไหมที่ไม่ได้รับการปฏิสนธิ สามารถพัฒนาจนเป็นตัวอ่อนได้ การเกิดพาร์ธิโนจิเนซิสในไหมเป็นวิธีการที่ทำให้ได้ไหมเฉพาะเพศเมีย การเลี้ยงไหมเพื่ออนุรักษ์พันธุ์ในรุ่นต่อๆ ไป ไม่ต้องใช้เพศผู้ การพัฒนาไข่ไหมรูปแบบนี้เป็นที่รู้จักกันมาช้านานแล้ว ในปัจจุบันปรากฏงานวิจัยอยู่เป็นจำนวน แต่งานวิจัยก่อนๆ นั้นมีเปอร์เซ็นต์การเกิดพาร์ธิโนเจิเนซิสต่ำ ประวัติของการศึกษาในด้านนี้มีดังนี้ Tichomiroff นักสัตววิทยาชาวรัสเซียที่เชี่ยวชาญด้านไหม เป็นคนแรกที่ศึกษาเกี่ยวกับการชักนำให้ไข่ไหมที่ไม่ได้รับการปฏิสนธิให้มีการพัฒนาได้ (articial parthenogenesis) การศึกษาของเขาเพียงทำให้ไข่ไหมเกิดการพัฒนาได้ แต่ไม่มีหนอนไหมฟักออกเป็นตัวได้ [3] ต่อมาได้มีการใช้กรดเกลือทำให้ไข่ไหมเกิดพาร์ธิโนจิเนซิส แต่มีอัตราการฟักออกเป็นตัวหนอนไหมต่ำมาก และได้มีรายงานว่ามีการเกิดพาร์ธิโนเจิเนซิสในสภาพธรรมชาติสามารถฟักออกเป็นตัวได้เพียง 0.1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในจำนวนนี้มีทั้งเพศผู้ และเพศเมีย แต่การเลี้ยงไหมที่ฟักออกให้เป็นผีเสื้อทำได้ยากมาก [4] อย่างไรก็ตามการศึกษาในยุคนั้นไม่ได้ทำการสำรวจลักษณะที่สำคัญทางเศรษฐกิจเพียงแต่เป็นการวิจัยในด้านตัวอ่อนและด้านพันธุ์ศาสตร์เท่านั้น ต่อมา Flolova ได้ศึกษาเกี่ยวกับเซลล์ในไข่ไหมและได้แสดงให้เห็นว่าความร้อนสามารถกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงภายในไข่ไหม ซึ่งไข่ไหมในระยะที่แก่ใกล้จะวางไข่มีการแบ่งเซลล์อยู่ในระยะเมทะเฟส การนำไข่ไหมดังกล่าวมาแช่ในน้ำร้อนความร้อนจะทำลายสายใยสปินเดิล (spindle ber) แทนที่นิวเคลียสของไข่จะแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส 2 ครั้ง การแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส I ที่เรียกว่า reduction division ไม่เกิดขึ้นเหลือเพียงการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสครั้งที่ 2 (meiosis II) ที่เรียกว่า equational division ซึ่งเป็นการแบ่งเซลล์ที่มีจำนวนโครโมโซมเท่าเดิม ไม่มีการลดลงของโครโมโซม [5-6]

การชักนำให้เกิดพาร์ธิโนจิเนซิส โดยใช้ความร้อนเป็นการเกิดพาร์ธิโนจิเนซิสที่เรียกว่า ameiotic parthenogenesis ส่วนการชักนำให้เกิดพาร์ธิโนจิเนซิสที่ใช้สิ่งกระตุ้นอื่นที่นอกเหนือจากความร้อนแล้วการแบ่งเซลล์ของนิวเคลียสของไข่จะเกิด ไมโอซิสทั้ง 2 ครั้ง ซึ่งเหมือนกับการสืบพันธุ์แบบปกติเรียกว่า meiotic parthenogenesis ในปี 1940 Astaurov นักวิทยาศาสตร์ชาวรัสเซียได้พัฒนาวิธีการอย่างง่ายและน่าเชื่อถือมากเกี่ยวกับกรรมวิธีพาร์ธิโนจิเนซิสเพื่อให้ได้หนอนไหมจำนวนมาก โดยผ่าไข่จากจากท่อรังไข่ ปล่อยไว้ 10-12 ชั่วโมง นำไข่แช่ในน้ำร้อน

อุณหภูมิ 46 ˚C ในหม้ออุ่น (water bath) นาน 18 นาที ต่อจากนั้นแช่ไข่ไหมในน้ำที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5-10 นาที และเก็บไข่ดังกล่าวไว้ที่อุณหภูมิ 15-17 ˚C เป็นเวลา 3 วัน แล้วย้ายไข่ไหมที่ได้รับการกระตุ้นดังกล่าวไว้ในสภาพแวดล้อมที่ปกติ [7] ต่อมา Astaurov ได้พัฒนาวิธีการทำให้ไข่ไหมเกิดพาร์ธิโนจิเนซิสได้มากและฟักออกเป็นตัวหนอนได้มากขึ้น [8]

จากจุดนี้ได้ตรวจสอบความเป็นไปได้ที่จะนำมาประยุกต์ใช้กับลักษณะทางด้านเศรษฐกิจ กล่าวคือตามหลักทางทฤษฎีแล้วหนอนไหมที่ได้แต่ละตัวมีโครงสร้างของยีนคล้ายกันมากกับแม่ผีเสื้อ Astaurov ยังมีแนวความคิดว่าถ้าทำให้ไหมลูกผสมเกิดพาร์ธิโนจิเนซิสและสามารถรักษาลักษณะดีเด่น ของไหมลูกผสมไว้ได้ จึงไม่มีความจำเป็นต้องเลี้ยงไหมพันธุ์แท้ ซึ่งจะทำให้ประหยัดค่าใช้จ่ายต่อการผลิตไข่ไหม นอกจากนี้การเลี้ยงเฉพาะไหมเพศเมีย เมื่อนำไหมเพศผู้มาผสมพันธุ์จะทำให้ผลิตไข่ไหมที่มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

การแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสของไข่ไหม กับโครงสร้างการเกิดเพศผู้เพศเมีย

การเข้าไปอยู่ในไข่ของสเปิร์ม

สเปิร์มที่มีนิวเคลียส (eusperm: ES) ที่พัฒนาเต็มที่จะสลัดส่วนหางแล้วเคลื่อนที่เข้าไปอยู่ใกล้ๆ ฐานของท่อนำไข่ ใกล้เวลาที่ผีเสื้อเพศเมียจะวางไข่ ไข่จะตกจากรังไข่มาอยู่ที่ท่อนำไข่ สเปิร์มจะเข้าไปอยู่ภายในไข่โดยผ่านช่องไมโครไพล์ (micropyle) ที่อยู่ทางด้านบนของไข่ โดยทั่วไปไข่ไหม 1 ฟอง จะมีสเปิร์มเข้าไป 2-3 ตัว (อาจมีมากถึง 11 ตัว) บริเวณอื่นๆ ของไข่ไหมที่นอกเหนือจากช่องไมโครไพล์เพราะมีลักษณะแข็งสเปิร์มเข้าไปไม่ได้ กรณีที่เกิดการปฏิสนธิภายนอกร่างกาย ถ้าบริเวณช่องไมโครไพล์แห้งและมีความชื้นภายหลัง ไข่ดังกล่าวจะไม่เกิดการปฏิสนธิหรือไม่เกิดสี นั่นคือในสภาพตามธรรมชาติแล้วภายในร่างกายของผีเสื้อเพศเมียมีการรักษาบริเวณไมโครไพล์ไม่ให้แห้ง นอกจากนี้ลักษณะโครงสร้างเซลล์ของไมโครไพล์และการเข้าไปในไข่ของสเปิร์มยังมีจุดที่ไม่ชัดเจนอีกมาก จากความก้าวหน้าการวิจัยเกี่ยวกับการปฏิสนธิภายนอกร่างกายและการผสมเทียม (articial insemination) รายงานว่าการผสมพันธุ์ภายนอกร่างกายเกิดขึ้นได้ง่ายในปลา แต่ในไหมเกิดขึ้นได้ยาก

การแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสของไข่ไหม

การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของสิ่งมีชีวิตโดยปกติไม่ได้มีการกำหนดจำนวนโครโมโซมก่อนการปฏิสนธิ ทำให้มีจำนวนโครโมโครโมโซมดิพลอยด์เป็น 56 เมื่อเป็นแฮพพลอยด์จึงเหลือจำนวนโครโมโซมเพียง 28 การแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสของไข่ไหมเริ่มขึ้นก่อนที่ผีเสื้อจะวางไข่ ถ้าไม่มีสเปิร์มเข้าไปในไข่ การแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสในช่วงกลางจะหยุด เมื่อสเปิร์มเข้าไปในไข่การแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสก็จะเกิดขึ้นต่อไป การแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสครั้งที่ 2 เกิดขึ้นต่อเนื่องเมื่อการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสครั้งแรกสิ้นสุดลง ซึ่งจะใช้เวลาหลังจากวางไข่ประมาณ 100 นาที ในระยะนี้นิวเคลียสของสเปิร์มซึ่งมีขนาดใกล้เคียงกับนิวเคลียสของไข่จะมาอยู่ใกล้กับนิวเคลียสของไข่ หลังวางไข่ 120 นาที นิวเคลียสของไข่และนิวเคลียสของสเปิร์มจะอยู่ใกล้กันมาก หลังจากวางไข่ 140 นาที นิวเคลียสของทั้งสองรวมตัวกัน จะเห็นได้ว่าหลังจากแม่ผีเสื้อไหมวางไข่จนถึงปฏิสนธิใช้เวลาประมาณ 140 นาที (2.30 ชั่วโมง) [9]

โครงสร้างของเพศไหม

ถ้าไม่มีการกระทำจากภายนอกต่อไข่ไหมเป็นกรณีพิเศษแล้วโดยปกติสัดส่วนของไข่ไหมเพศเมียและเพศผู้มีประมาณ 1:1 ซึ่งไม่ใช่เฉพาะในไหมยังพบกับสัตว์เกือบทั้งหมด ส่วนใหญ่มีสัดส่วนของเพศเมียกับเพศผู้อยู่เป็นครึ่งต่อครึ่ง ทั้งนี้เพื่อเป็นการรักษาความสมดุลของสังคมของสิ่งมีชีวิตนั้นๆ ปัญหาอยู่ที่การผสมเทียมทำให้ความสมดุลย์ของธรรมชาติเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งเป็นไปเพื่อผลิตสิ่งที่มีชีวิตสำหรับนำมาใช้ประโยชน์ โดยทั่วไปนิวเคลียสของสัตว์ที่มีจำนวนโครโมโซมปกติมีความเกี่ยวข้องกับการแสดงออกของลักษณะต่างๆ นอกจากนี้ยังมีโครโมโซมที่เกี่ยวข้องกับการกำหนดเพศ (sex chromosome) ในไหมเพศเมียมีโครโมโซมอยู่ 2 ชนิด ได้แก่ ZW แต่โครงสร้างของโครโมโซมเพศผู้มีเพียงอย่างเดียวคือ ZZ โครโมโซม W มีหน้าที่เกี่ยวกับการกำหนดเพศ ถ้ามี

โครโมโซม W อยู่ไหมจะเป็นเพศเมียทั้งหมด จากการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสครั้งแรก ทำให้ได้เซลล์ไข่กับโพลาบอดี้ อันแรกโครโมโซม W ติดไปกับเซลล์ไข่ ส่วนโครโมโซม Z ติดไปกับโพลาบอดี เมื่อเกิดการปฏิสนธิ โครโมโซม Z ที่อยู่ในสเปิร์มรวมตัวกับ W โครโมโซมของไข่ได้เป็น ZW ซึ่งเป็นเพศเมีย ตรงกันข้ามถ้าเซลล์ของไข่เป็นโครโมโซม Z เมื่อผสมกับสเปิร์มที่มีโครโมโซม Z จะได้ ZZ ซึ่งเป็นเพศผู้ กล่าวคือขึ้นอยู่กับว่าในระยะการแบ่งเซลล์ของไข่แบบไมโอซิสครั้งแรกว่า โครโมโซม W ไปอยู่กับฝ่ายของเซลของไข่ หรือว่าโครโมโซม Z ไป ก็จะเป็นการกำหนดเพศผู้หรือเพศเมียได้ จากโครงสร้างที่กล่าวมา ถ้าเราจะเลือกให้ไหมที่ฟักออกมาเป็นเพศผู้หรือเพศเมียต้องใส่ปัจจัยที่รุนแรงไปในไข่ระยะการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสครั้งแรก เพื่อให้โครโมโซมที่กำหนดเพศติดไปกับเซลล์ของไข่ นั่นเป็นวิธีการคิดที่ง่ายๆ ในสภาพตามธรรมชาติการที่โครโมโซม W หรือ Z จะติดไปกับเซลล์ของไข่นั้นมีโอกาสเป็นไปได้ 50% ซึ่งไม่ต่างจากการผสมเทียมโดยทั่วๆ ไป เพื่อเป็นการศึกษาเกี่ยวกับปัญหาดังกล่าว Sugai และคณะ (1983) ได้ทำการศึกษาถึงปัจจัยภายนอกต่างๆ ที่มีผลต่อไข่ไหม เช่น ความร้อน (อุณหภูมิสูง) ความเย็น (อุณหภูมิต่ำ) สารเคมี ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และรังสี เป็นต้น [10]

จากที่ได้กล่าวมาแล้ว หลังจากแม่ผีเสื้อไหมวางไข่จนถึงปฏิสนธิใช้เวลาประมาณ 2.30 ชั่วโมง การที่จะตัดสินใจว่าไข่จะเจริญเป็นเพศผู้หรือเพศเมีย จุดสำคัญอยู่ที่การแบ่งเซลล์ ในระยะของการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส ถ้าใส่ปัจจัยอย่างรุนแรงจากภายนอกอาจทำให้เกิดพาร์ธิโนจิเนซิส เกิดเฉพาะไหมเพศเมีย เกิดเฉพาะไหมเพศผู้ และเกิดไหมที่มีโครโมโซมหลายชุด เป็นต้น จะเห็นว่าไข่ในระยะนี้มีความสำคัญมากต่อเทคนิคการผสมเทียม (พาร์ธิโนจิเนซิส) Yokoyama และคณะ (1987) ได้ศึกษาเกี่ยวกับเทคนิคการผสมเทียมในระยะการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสกับความทนทานของไข่ไหม ความสัมพันธ์ของอายุไข่ไหมกับอุณหภูมิ ใช้ไข่ไหมพันธุ์แท้พันธุ์ N106 กับไหมลูกผสมพันธุ์ (N106.Camb) x re9 ที่มีอายุต่างๆ แช่ในน้ำร้อนอุณหภูมิ 40 ˚C นาน 10 นาที หลังจากนั้นเก็บไข่ไหมไว้ที่อุณหภูมิ 25˚C เพื่อสังเกตสีของไข่ไหมที่มีการพัฒนาต่อไป ถ้าไข่ไหมของพันธุ์ไหมมีอัตราการเกิดสีได้น้อย แสดงว่ามีไข่ไหมตายเป็นจำนวนมากก่อนการเกิดสี ไหมพันธุ์ N106 กับ ไหมลูกผสมพันธุ์ (N106. Camb) x re9 ไข่ไหมอายุ 80-100 นาที มีความอ่อนแอต่ออุณหภูมิสูง [11] เมื่อพิจารณาถึงการรายงานของ Ohtsuki และ Murakami (1968) ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว ตรงกับระยะที่มีการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสครั้งที่ 2 จบลงเซลล์ของไข่กับเซลล์ของสเปิร์มรวมตัวกันเกิดการปฏิสนธิขึ้นซึ่งเป็นระยะที่ไม่มีความทนทาน เมื่อใช้น้ำร้อนซึ่งเป็นปัจจัยภายนอกกระทำต่อไข่ไหม โดยการแช่ไข่ไหมลูกผสมพันธุ์ (N106.Camb) x re9 ในน้ำร้อนอุณหภูมิ 46 ˚C นาน 18 นาที พบว่าเมื่อใช้ไข่ไหมหลังจากวางไข่ (ไข่ไหมอยู่ระหว่างการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสครั้งแรก) ไข่ไหมมีความทนทานต่อความร้อนมากที่สุด เมื่ออายุของไข่ไหมมากขึ้นไข่ไหมยิ่งอ่อนแอ หลังจากแม่ผีเสื้อวางไข่ 40 นาที ไข่ไหมที่วางไม่เกิดสี จากที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่าแม่ผีเสื้อวางไข่และปฏิสนธิใช้เวลาไม่นาน แต่เมื่อสำรวจอย่างละเอียดแล้วจะเห็นว่ามีความทนทานต่อปัจจัยที่รุนแรงต่างๆ กัน

Sugai และคณะ ได้ศึกษาเกี่ยวกับอุณหภูมิและระยะเวลาสำหรับเก็บไข่ไหมที่มาจากการผ่าตัดเอาท่อไข่ของผีเสื้อเพศเมียที่ไม่ผ่านการผสมพันธุ์ก่อนนำไข่ไหมไปชักนำให้เกิดพาร์ธิโนจิเนซิส จาก Figure 1 พบว่าการเก็บไข่ไหมไว้ที่อุณหภูมิ 25-35˚C ประมาณ 48 ชั่วโมงก่อนที่จะนำไปชักนำให้เกิดพาร์ธิโนจิเนซิส ทำให้เกิดพาร์ธิโนจิเนซิสได้มากกว่า 80% การเก็บไข่ไหมไว้ที่อุณหภูมิ 40˚C ก่อนจุ่มไข่ไหมในน้ำร้อน การเกิดพาร์ธิโนจิเนซิสลง ถ้าเก็บไข่ไหมไว้นานกว่า 48 ชั่วโมง การเกิดพาร์ธิโนจิเนซิสลดลงตามเวลาเก็บไข่ที่ยาวนานขึ้น ถ้าเก็บไข่ไหมไว้นาน 192 ชั่วโมง ไข่ไหมแทบจะไม่เกิดพาร์ธิโนจิเนซิส กล่าวคือ ถ้าเก็บไข่ไหมไว้น้อยกว่า 48 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การฟักออกของไข่ไหมไม่แตกต่างกันมากนัก แต่ถ้าเก็บไข่ไหมไว้นาน 120-144 ชั่วโมง จึงแช่ไข่ไหมในน้ำร้อน พบว่าไข่ไหมที่ได้มีเปอร์เซ็นต์การฟักออกเป็นตัวน้อยมาก จากผลการทดลองสรุปได้ว่า การเก็บไข่ไหมไว้ที่อุณหภูมิ 25 ˚C ก่อนทำการแช่ไข่ไหมในน้ำร้อน ทำให้ไข่ไหมเกิดพาร์ธิโนจิเนซิสมากที่สุด และมีเปอร์เซ็นต์การฟักออกดี รองลงมาได้แก่อุณหภูมิ 30˚C การเก็บไข่ไหมไว้ที่อุณหภูมิ 40 ˚C มากกว่า 18 นาที ไหมแทบจะไม่ฟักออกเป็นตัว

วิธีการทำให้ไข่ไหมที่ไม่ได้รับการผสมพันธุ์มีการพัฒนาเป็นตัวอ่อนได้โดยใช้น้ำร้อนเป็นวิธีการของ Astaurov [7-8] ถ้านำไข่จากรังไข่ของผีเสื้อออกไว้ข้างนอกมากกว่า 48 ชั่วโมง ก่อนจะแช่ในน้ำร้อนทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดพาร์ธิโนจิเนซิสลดลงอย่างรวดเร็ว

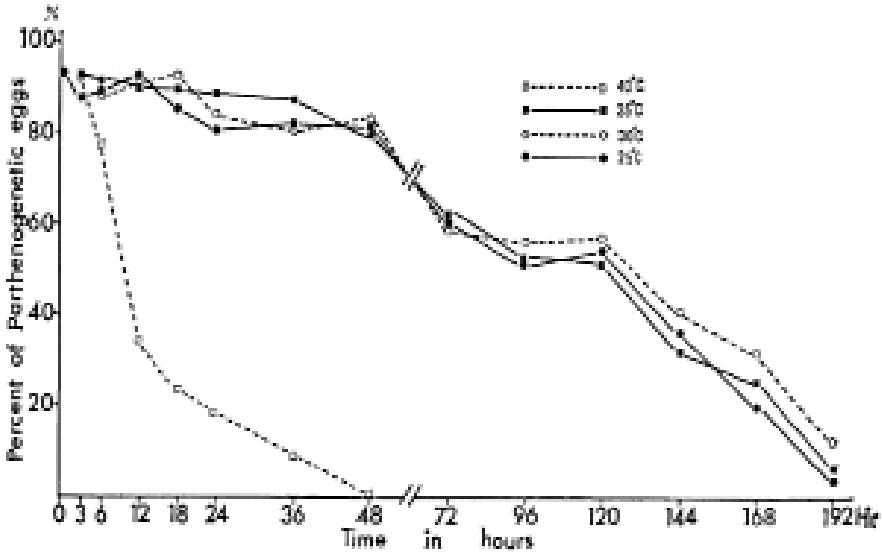

Figure 1. Duration and temperature for preserved virgin silkworn eggs of hybrid silkworm, N106 X Cambodege (before treated with hot water at 46°C for 18 min.) and percentage of parthenogenesis (diapause egg). [10]

พันธุ์ไหมกับการเกิดพาร์ธิโนจิเนซิส

Sugai และคณะ ได้รายงานว่าไข่ไหมลูกผสมพันธุ์ N106 X Cambodege เกิดพาร์ธิโนจิเนซิสได้มากกว่าไหมพันธุ์อื่นๆ จากไหมทั้งหมด 13 พันธุ์ (Figure 2) [11] แม้ว่าจะมีการจัดการที่เหมือนกัน ไหมบางพันธุ์ไม่เกิดพาร์ธิโนจิเนซิส จะเห็นได้ว่าอัตราการเกิดพาร์ธิโนจิเนซิสของไข่ไหม มีความแตกต่างกันมากในระหว่างพันธุ์ไหม (3-90%) โดยทั่วไปไหมพันธุ์ลูกผสมเกิดพาร์ธิโนจิเนซิสได้มากกว่าไหมพันธุ์แท้อย่างเช่น ไหมพันธุ์ re9, Cambodege, DaiZo และ N100 เป็นต้น ซึ่งเป็นไหมพันธุ์แท้เหล่านี้มีอัตราการเกิดพาร์ธิโนจิเนซิสที่ต่ำ แต่ถ้าใช้ไหมพันธุ์แท้พันธุ์ Cambodege ผสมพันธุ์กับไหมพันธุ์แท้อื่นๆ จะทำให้อัตราการเกิดพาร์ธิโนจิเนซิสของไหมลูกผสมนั้นสูงขึ้น

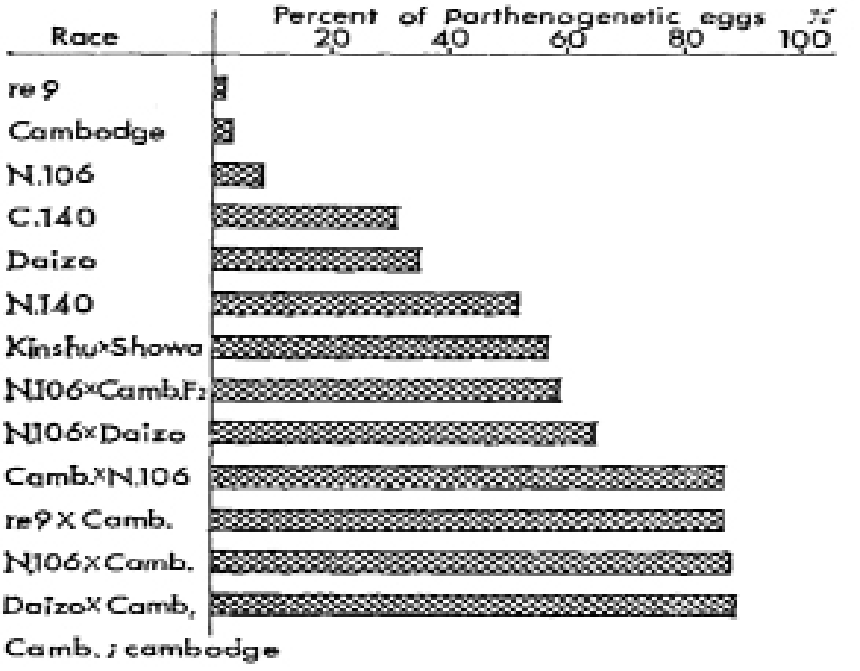

Figure 2. Racial difference in percent of parthenogenetic eggs. [11]

พาร์ธิโนจิเนซิสของไข่ไหมที่วางไข่โดยแม่ผีเสื้อไม่ผ่านการผสมพันธุ์

การชักนำให้ไข่ไหมที่ไม่ได้รับการผสมพันธุ์มีการพัฒนาเป็นตัวได้นั้น ถ้านำไข่ไหมที่วางไข่บนแผ่นกระดาษที่ทนกรด มาทำการทดลองจะทำให้การจัดการต่างๆ มีความสะดวกขึ้น ผีเสื้อเพศเมียที่ไม่ได้รับการผสมพันธุ์มีวิธีการกระตุ้นให้วางไขในปริมาณที่มากได้ดังนี้ เก็บรวบรวมผีเสื้อเพศเมียที่มีอายุไม่มากไว้ในห้องอุณหภูมิ 5 ˚C นาน 10 วัน ถ้าเก็บไว้นานผีเสื้อจะตาย หลังจากนั้นให้ผีเสื้อวางไข่บนกระดาษวางไขในห้องอุณหภูมิ 25˚C เป็นเวลา 1 คืน นำไข่ไหมอายุประมาณ 15 ชั่วโมง แช่ในน้ำร้อนอุณหภูมิ 46˚C, 18 นาที และเก็บรักษาไข่ไหมไว้ที่อุณหภูมิต่ำ (16-17˚C) ก็จะทำให้ไข่ไหมดังกล่าวมีการพัฒนาเป็นตัวอ่อนได้

การชักนำให้เกิดพาร์ธิโนจิเนซิสโดยการใช้ความเย็น

เมื่อทำการแช่ไข่ไหมที่ได้ไม่ผ่านการผสมพันธุ์ในอุณหภูมิที่ต่ำ สามารถทำให้ไข่ไหมดังกล่าวเกิดพาร์ธิโนจิเนซิสได้เหมือนกันกับการแช่ไข่ไหมในน้ำร้อน [12] แต่ไข่ไหมที่เกิดพาร์ธิโนจิเนซิสจากการแช่ไข่ไหมที่อุณหภูมิต่ำมีอัตราการฟักออกต่ำกว่าวิธีการแช่ไข่ไหมในน้ำร้อนสาเหตุอาจเป็นเพราะว่าอุณหภูมิที่ต่ำๆ อาจขัดขวางขบวนการทางสรีระบางอย่างในไข่ไหม การแช่ผีเสื้อไหมเพศเมียไว้ในน้ำร้อนไม่ทำให้ไข่ไหมเกิดพาร์ธิโนจิเนซิสได้ แต่ถ้าแช่ผีเสื้อไหมเพศเมียและเพศผู้ที่อุณหภูมิต่ำๆ จะทำให้ไข่ไหมเกิดพาร์ธิโนจิเนซิส เช่น นำผีเสื้อไหมเพศเมียพันธุ์ SRF ที่เป็นพันธุ์การค้าใช้ในการผลิตไข่ไหมและเป็นพันธุ์ไหมที่เกิดพาร์ธิโนเจิเนซิสได้ดี) มาแช่ในอุณหภูมิ -5˚C เป็นเวลา 30 นาที ถึง 9 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการผ่าตัดนำ

รังไข่ (ท่อไข่) มาวางบนกระดาษกรอง และนำไข่ไหมเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 17 ˚C นาน 4 วัน แล้วย้ายไข่ไหมไปไว้ที่อุณหภูมิ 25 ˚C สำรวจการเกิดสีของไข่ไหม ผลการศึกษา (Figure 3) พบว่ารังไข่ของผีเสื้อที่ไม่ได้แช่เย็นไม่เกิดสีหรือไม่มีการพัฒนาเป็นตัวอ่อน แต่เมื่อทำการสำรวจอย่างละเอียดเกี่ยวกับการเกิดสีของไข่ไหม พบว่ามีลักษณะผิดปกติเป็นจำนวนมาก ทำให้อัตราการฟักออกลดลงประมาณ 20% [13] แต่อย่างไรก็ตามการเก็บไข่ไหมไว้ในอุณหภูมิที่ต่ำกว่า 0 ˚C ทำให้ไข่ไหมที่ไม่ผ่านการผสมจำนวนมากเริ่มมีการพัฒนา

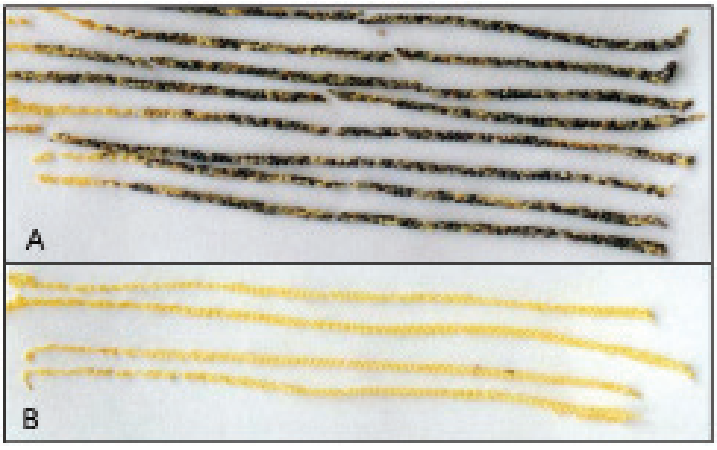

Figure 3. The ovaries of a cooled (-5˚C for 3 hours; A) and a non- cooled (B) female moth [13]

การเกิดพาร์ธิโนจิเนซิสของไหมลูกผสมพันธุ์การค้ากับการคัดเลือก

มีรายงานว่าไข่ไหมของพันธุ์ต่างๆ สามารถชักนำให้เกิดพาร์ธิโนจิเนซิสได้แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับคู่ผสมของพันธุ์ไหมหรือการคัดเลือกอาจทำให้ได้ไข่ไหมเกิดพาร์ธิโนจิเนซิสได้สูงกว่า 90% แต่การปรับปรุงพันธุ์ไหมพันธุ์การค้าให้เกิดพาร์ธิโนจิเนซิสได้สูงๆ ยังไม่ประสบผลสำเร็จ การจะประยุกต์นำเอาความรู้ด้านนี้มาใช้ได้จริงต้องเก็บรักษาความดีเด่น (heterosis) ของไหมลูกผสมไว้ได้ จะทำให้ประหยัดเวลาและค่าใช้จ่ายสำหรับเลี้ยงไหมพันธุ์แท้ และจะทำให้กระบวนการผลิตไข่ไหมมีประสิทธิภาพสูงขึ้น แต่ต้องไม่ทำให้ลักษณะทางปริมาณและทางคุณภาพของไหมลูกผสมพันธุ์การค้าต่ำลงไป ดังนั้นมีความจำเป็นต้องคัดเลือกสายพันธุ์ไหมที่เกิดพาร์ธิโนจิเนซิสได้สูง เพื่อตอบปัญหานี้ Ohkuma ได้ทำการศึกษาและรายงานว่าลักษณะทางคุณภาพและปริมาณของรังไหมเพศเมียที่ได้จากกรรมวิธีพาร์ธิโนจิเนซิสต่ำกว่าของไหมลูกผสม ชั่วที่ 1 ประมาณ 20-30% จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าความดีเด่นของไหมพาร์ธิโนจิเนซิสลดลง สาเหตุหนึ่งที่ทำให้ลักษณะทางคุณภาพและปริมาณของไหมที่ได้จากกรรมวิธีพาร์ธิโนจิเนซิสลดลง Ohkuma ได้ให้เหตุผลว่าหนอนไหมมีรูปร่างผิดปกติอยู่ 11.8-68.4% แม้ว่ามองภายนอกสังเกตเห็นว่าปกติ แต่ภายในแล้วการแช่ไข่ไหมในน้ำร้อนอาจมีผลต่อทางสรีระภายในของไหมความผิดปกติของหนอนไหมที่เกิดขึ้น ได้แก่ ข้อปล้องบางปล้องของส่วนท้องอาจมีลักษณะรวมกัน ขาส่วนท้องอาจหดสั้นหรือขาดหายไป จากประสบการณ์การศึกษาในด้านนี้ของผู้เขียนพบว่าความผิดปกติเหล่านี้เกิดขึ้นน้อยกว่า 1% และเกิดขึ้นเฉพาะในชั่วต้นๆ เท่านั้น การคัดเลือกหนอนไหมลูกผสมที่เกิดรูปร่างที่ผิดปกติน้อยหรือไม่เกิดขึ้นเลย แล้วทำการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ไหมลูกผสมที่เกิดพาร์ธิโนจิเนซิสสูงก็จะสามารถนำมาประยุกต์ใช้กับการผลิตไข่ไหมได้ [14]

Hirokawa ได้นำไหมลูกผสม 4 พันธุ์ (คู่ผสม) ที่ไม่ผ่านการผสมพันธุ์และเป็นพันธุ์ที่ใช้ผลิตไข่ไหมทางการค้ามาดำเนินการให้ไข่ไหมเกิดพาธิโนจิเนซิสตามวิธีการที่ได้กล่าวมาแล้ว โดยแช่ไข่ไหมในน้ำร้อน 46 ˚C นาน 18 นาที หลังจากนั้นนำไข่ไหมที่เกิดพาร์ธิโนจิเนซิสของแต่ละพันธุ์มาฟักเทียมแบบฟักทันที กกไข่ไหมและเลี้ยงหนอนไหมที่ฟักออกมา ผลการทดลองดัง Figure 4 และได้แสดงถึงผลของการคัดเลือกพันธุ์ไหมลูกผสมทั้ง 4 พันธุ์ ใน 5 ชั่ว (generation) ที่ไข่เกิดพาร์ธิโนจิเนซิสสูง ในชั่วที่ 1 ไหมทั้ง 4 พันธุ์ มีอัตราการฟักออกเฉลี่ย 40-46% (เฉลี่ยจากแม่ผีเสื้อ 28-40 ตัว) โดยผีเสื้อที่มีการฟักออกต่ำ (0-5%) กับผีเสื้อที่มีการฟักออกสูง (86 -90%) มีความแตกต่างกันมากในชั่วที่ 2 ไข่มีการฟักออกสูงขึ้น 46-71% (เฉลี่ยจากแม่ผีเสื้อ 36-49 ตัว) เมื่อดูอัตราการ

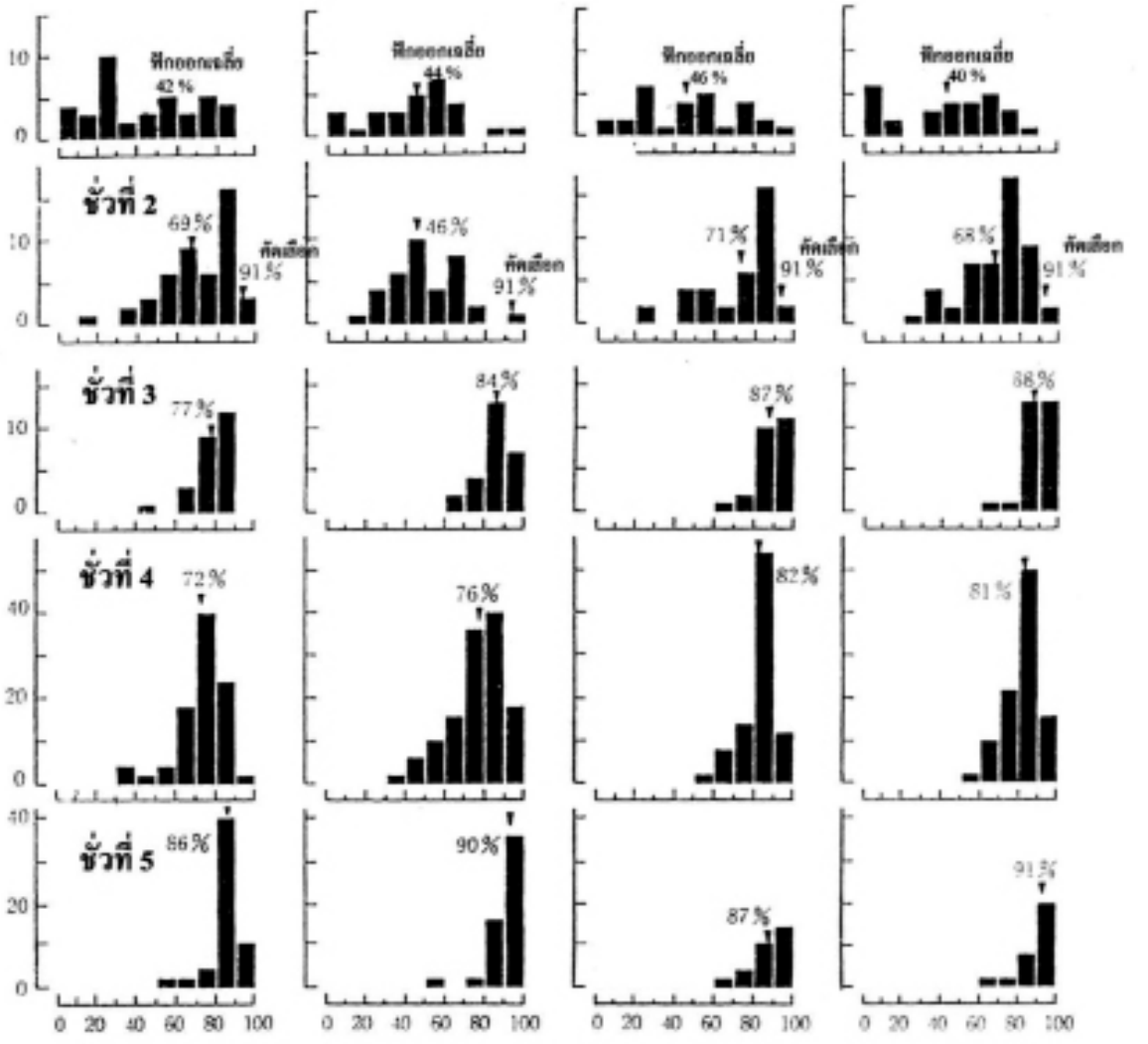

Figure 4. Selecton for high percent of parthenogenetic eggs and distributon of hatchability of successive generations, F2, F3, F4 and F5. [15]

ฟักออกของแต่ละแม่ผีเสื้อพบว่ามีการฟักออกต่ำสุด 17-29% และฟักออกสูงสุด 90-96% จะเห็นว่าความแตกต่างของอัตราการฟักออกได้ต่ำสุดกับ สูงสุดแคบลง ในชั่วที่ 2 ได้ทำการคัดเลือกแม่ผีเสื้อที่มีการฟักออก 90-91% ของแต่ละพันธุ์มาพันธุ์ละ 1 แม่เลี้ยงคัดเลือกต่อไปเพื่อให้ได้ไหมพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์การฟักออกสูง ผลของการคัดเลือกดังแสดงไว้ในชั่วที่ 2-5 ซึ่งมีอัตราการฟักออกเฉลี่ย 86-91% (เฉลี่ยจากแม่ผีเสื้อ 28-56 ตัว) ความแตกต่างของการฟักออกของแต่ละแม่ผีเสื้อน้อยลง โดยเฉพาะในพันธุ์ไหมที่ 2 มีชื่อย่อของพันธุ์ว่า SRF แม่ผีเสื้อเกือบทั้งหมดมีการฟักออกสูงกว่า 90% จากผลที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่าลักษณะของไหมที่เกิดจากพาร์ธิโนจิเนซิสด้อยกว่าของไหมในชั่วที่ 1 หลายลักษณะ [15] และผลการทดลองที่ได้ดีกว่าการค้นพบของ Ohkuma ผลการทดลองครั้งนี้ลักษณะทางคุณภาพและปริมาณไม่ได้ด้อยกว่าอย่างที่คิด อาจเป็นเพราะว่าพันธุ์ไหมที่ใช้หนอนไหมมีรูปร่างที่ผิดปกติเกิดขึ้นจำนวนน้อย และไข่ไหมฟักออกสูง ไหมพันธุ์แท้จำนวนมากที่เลี้ยงอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมไหมอยู่ ถ้าได้มีการชักนำให้ไหมเหล่านี้เกิดพาร์ธิโนจิเนซิส และทำการเลี้ยงคัดเลือกไปด้วย ก็อาจทำให้ได้พันธุ์ไหมที่มีลักษณะพิเศษ และมีประโยชน์ต่อไปก็อาจเป็นได้

การจัดการทำให้ไหมมีจำนวนโครโมโซมหลายชุด

การจัดการให้สิ่งมีชีวิตมีจำนวนโครโมโซมเพิ่มมากขึ้น หรืออาจพูดว่าทำให้โครโมโซมมีจำนวนมากขึ้น เพราะว่ามีคุณค่าในทางเศรษฐกิจที่มากกว่าจำนวนที่ปกติที่ 2n เช่น ปลาที่มีจำนวนโครโมโซม 3n มีมูลค่าในทางเศรษฐกิจสูงกว่าปลาที่มีจำนวนโครโมโซม 2n ในไหมถ้ามีจำนวนโครโมโซมมากกว่าปกติแล้ว หนอนไหมจะทำรังไหมมีขนาดใหญ่ขึ้น ได้น้ำหนักเส้นไหมมากขึ้น ถ้าเป็นไปตามนี้แล้วก็จะมีประโยชน์อย่างมากต่อการนำมาใช้ได้จริง Kawaguchi รายงานว่า ไหมที่มีจำนวนโครโมโซมมาก มีขนาดของเซลล์ที่ใหญ่ขึ้น แต่จำนวนเซลล์ของต่อมไหมและจำนวนไข่ที่แม่ผีเสื้อวางน้อยกว่าไหมที่มีจำนวนโครโมโซมปกติ โดยเฉพาะในด้านการสืบพันธุ์ไหมที่มีจำนวนโครโมโซมมากกว่าปกติจะด้อยในด้านนี้ แต่จากการตรวจสอบข้อมูลต่างๆ พบว่า ไหมมีจำนวนโครโมโซมมากกว่าปกติมีน้ำหนักเปลือกรังและความยาวเส้นใยมากขึ้น ขนาดของเส้นใยเล็กลง อาจกล่าวได้ว่าไหมที่มีจำนวนโครโมโซมมากกว่าปกติให้เส้นใยที่ดี ถ้ามีการผลิตไหมที่มีจำนวนโครโมโซมมากกว่าปกติในปริมาณที่มากได้แล้ว ก็ไม่มีความจำเป็นต้องห่วงใยว่าการสืบพันธุ์จะด้อยลงไป ในไหมสามารถชักนำให้มีจำนวนโครโมโซมมากกว่าปกติได้ง่าย โดยใช้เครื่องหมุนเหวี่ยงอุณหภูมิสูง โคลชิซิน (เป็นสารที่ขัดขวางการแบ่งเซลล์) [16] แต่ในปัจจุบันที่ปฏิบัติกันทั่วไปคือ แช่ไข่ไหมในอุณหภูมิที่ต่ำมากๆ นอกจากนี้ Tamazawa ยังกล่าวว่าหลังจากผสมพันธุ์ผีเสื้อแยกเพศผู้ออก ให้ผีเสื้อเพศเมียวางไข่ที่อุณหภูมิ 25-28˚C ให้วางไข่ทุกๆ 30 นาที นำไข่ไหมอายุ 120-180 นาที ไปแช่ที่อุณหภูมิ -10˚C นาน 24 ชั่วโมง ย้ายไข่ไหมผ่านอุณหภูมิกลางก่อน จึงเก็บไว้ที่ห้อง 25˚C นาน 20 ชั่วโมง ต่อจากนั้นทำการฟักเทียมไข่ไหมแบบฟักทันที เมื่อเกิดสีบนไข่ไหม นำไข่ไหมไปสำรวจ สังเกตเซลล์ของเปลือกไข่ไหมภายใต้กล้องสเตอริโอ เลือกไข่ไหมที่เซลล์มีขนาดใหญ่กว่าปกติ นำไปกกให้ฟักออกเป็นตัว แล้วทำการเลี้ยงหนอนไหมดังกล่าว การแช่ไข่ไหมที่อุณหภูมิต่ำดังกล่าว จะได้ไข่ที่มีเซลล์โตกว่าปกติประมาณ 10-15% จากการวิจัยของ Tamazawa พบว่า ไข่ทั้งหมดเหล่านี้มีจำนวนโครโมโซมเป็น 4n ซึ่งการใช้อุณหภูมิต่ำมีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้เครื่องหมุนเหวี่ยงและใช้อุณหภูมิสูง แต่หนอนไหมที่มีจำนวนโครโมโซมมากกว่าปกติอ่อนแอกว่าไหมปกติและตายมากในระหว่างการเจริญเติบโต

พาร์ธิโนจิเนซิสกับไหมโพลิพลอยด์

จากที่ได้กล่าวมาแล้วการนำไข่ไหมจากท่อไข่ของผีเสื้อเพศเมียที่ไม่ผ่านการผสมพันธุ์ หรือนำไข่ไหมวางไข่โดยแม่ผีเสื้อที่ไม่ผ่านการผสมพันธุ์มาแช่ในน้ำร้อนจนกระทั่งไข่ไหมเกิดพาร์ธิโนจิเนซิส หนอนไหมที่ฟักออกมาปกติเป็นเพศเมีย มีจำนวนโครโมโซม 2n แต่มีไหมบางพันธุ์มีจำนวนโครโมโซมมากกว่าปกติ คือมี 4n เมื่อนำไหมเพศเมีย 4n ให้ผสมพันธุ์กับไหมเพศผู้ที่ปกติ ก็จะได้ไหมที่มีจำนวนโครโมโซมเป็น 3n ที่มีทั้งเพศผู้และเพศเมีย แต่สืบพันธุ์ไม่ได้

การทำไหมโพลิพลอยด์ที่มีโครโมโซม 3 ชุด (3n)

ปกติการที่จะได้ไหม 3n ก่อนอื่นต้องชักนำให้เกิดไหม 4n เพศเมียก่อน แล้วจึงให้ผสมพันธุ์กับไหมเพศผู้ปกติที่มีโครโมโซม 2n ซึ่งต่อไปจึงจะได้ไหม 3n แต่วิธีการที่จะกล่าวต่อไปนี้เป็นการทำไหม 3n ให้ได้จำนวนมากในชั่วเดียว Yokoyama และคณะได้รายงานเกี่ยวกับการชักนำให้เกิดไหม 3n โดยใช้ไหมเพศเมียพันธุ์ N106 x Cambodege (หนอนไหมตัวลายเป็น heterozygous มีเลือดสีเหลือง) ผสมพันธุ์กับไหมเพศผู้พันธุ์ re9 (หนอนมีลายแบบม้าลาย มีเลือดสีขาว) นำไข่ไหมที่ได้แช่ในน้ำร้อน 46 ˚C นาน 18 นาที และเก็บไข่ไหมไว้ที่ 17 ˚C นาน 4 วัน ต่อจากนั้นทำการฟักเทียมไข่ไหม เมื่อไข่ฟักออกเป็นตัวหนอนทำการเลี้ยงหนอนไหม ไข่ไหมที่ผ่านการจัดการดังกล่าวเกิดสีมากกว่า 93% และฟักออกเป็นตัวได้ประมาณ 63% เลี้ยงหนอนไหมที่ฟักออกมาถึงวัย 5 วันที่ 1 ทำการสำรวจลายบนตัวหนอน เลือดของหนอนไหม (ดูที่สีของขาส่วนท้อง ถ้ามีสีขาวเลือดมีสีขาว ถ้าขาส่วนท้องมีสีเหลือง เลือดของหนอนไหมตัวนั้นมีสีเหลือง) และสัดส่วนของเพศ (ตารางที่ 1) กลุ่มของไข่ไหมที่ไม่แช่น้ำร้อนมีสัดส่วนเพศเมีย: เพศผู้ และเลือดสีเหลือง: เลือดสีขาว เป็น 1:1 หนอนไหมที่ได้มีลักษณะลายคล้ายม้าลาย (ตัวหนอนมีลำตัวสีดำ บริเวณข้อปล้องมีสีขาว) ทั้งหมดเป็นเพศเมียมีเลือดสีเหลือง ซึ่งเป็นการแยกออกของลักษณะต่างๆที่ปกติ ส่วนกลุ่มของไข่ไหมที่แช่ในน้ำร้อนได้หนอนไหมที่มีลายม้าลายทั้งหมดเป็นเพศเมียมีเลือดสีเหลือง ซึ่งเป็นการแยกออกของลักษณะต่างๆที่ผิดปกติ ไหมเพศเมียเหล่านี้มีลักษณะของทั้งพ่อและแม่รวมอยู่ ไม่ใช่การพัฒนาเฉพาะนิวเคลียสเพศผู้หรือนิวเคลียสของเพศเมีย แต่เป็นการปฏิสนธิระหว่างนิวเคลียสของไข่กับนิวเคลียสของตัวอสุจิ [18]

หลังจากทำการเลี้ยงหนอนไหมเพศเมียที่มีลายม้าลายเลือดสีเหลือง เมื่อเป็นผีเสื้อให้ผสมพันธุ์กับไหมเพศผู้ที่ปกติแล้วให้วางไข่ ผลพบว่าแม่ผีเสื้อเหล่านี้วางไข่ที่มีขนาดไม่สม่ำเสมอกัน คือมีฟองใหญ่ฟองเล็ก และไข่ส่วนมากจะบุ๋มตรงกลาง ไข่ประมาณ 36% ไม่เกิดสี ถึงแม้ว่าไข่เกิดสีเมื่อทำการกกไข่ก็จะไม่ฟักออกเป็นตัว จากรายงานการวิจัยต่างๆ ที่มีมาจนถึงปัจจุบัน สภาพของการวางไข่แบบนี้เป็นลักษณะเฉพาะการวางไข่ของผีเสื้อเพศเมียที่มีจำนวนโครโมโซม 3n และมีโครงสร้างของโครโมโซมเป็น ZZW

Table 1 Appearance of silkworm larvae after treated with hot water at 46˚C for 18 min. [19]

Treatment	Larval pattern	Examined number (head)	Yellow blood (head)		White blood (head)	
			female	male	female	male
Treated with hot water	Zebra	196 (100)	196 (100)	0	0	0
Untreated with hot water	Zebra	295 (26.5%)	295 (25.5%)	288 (25.7)	287 (24.0)	288 (23.6)

การศึกษาพาร์ธิโนจิเนซิสกับไหมในประเทศไทย

ในต่างประเทศมีรายงานของการศึกษาเกี่ยวกับพาร์ธิโนจิเนซิสกับไหมมากมาย [8, 10, 14-15, 19] ซึ่งประสบความสำเร็จในการชักนำให้ไข่ไหมที่ไม่ได้รับการผสมให้มีการเจริญเติบโตเป็นตัวหนอนได้ (parthenogenesis) และได้หน่วยสืบพันธุ์ (clone) เฉพาะไหมเพศเมียที่มีส่วนประกอบของยีนส์เหมือนแม่ทุกอย่าง Fugo ได้เปรียบเทียบส่วนประกอบภายในไข่ไหมที่เกิดจากกรรมวิธีพาร์ธิโนจิเนซิสกับไข่ไหมที่ได้รับการผสมพันธุ์อย่างปกติของไหมลูกผสมพันธุ์ N140 x Cambodge พบว่าไข่ไหมทั้ง 2 ชนิดมีปริมาณของ glycogen RNA ไขมัน และโปรตีนไม่แตกต่างกัน [20]

ในประเทศไทย สานและคณะได้ศึกษากรรมวิธีพาร์ธิโนจิเนซิส กับไหมลูกผสม พันธุ์ KT21 x KT1 สามารถชักนำให้ไข่ไหมที่วางไข่โดยผีเสื้อที่ไม่ผ่านการผสมพันธุ์ให้มีการเจริญเติบโตได้เฉพาะเพศเมีย หนอนไหม และรังไหมมีการกระจายตัวน้อยมากและมีความสม่ำเสมอดี ซึ่งเป็นประโยชน์โดยตรงต่อการปรับปรุงพันธุ์ไหมที่ต้องการให้ได้พันธุ์ไหมที่มีความสม่ำเสมอ และให้ชื่อไหมพันธุ์นี้ว่า Pg1 ต่อมาได้นำผีเสื้อไหมพันธุ์ Pg1 ผสมพันธุ์กับไหมพันธุ์แท้ใหม่เพศผู้ พันธุ์ W1กับ W7 ที่เป็นพันธุ์ไหมปกติ นำไข่ที่ได้ชักนำให้เกิดพาร์ธิโนจิเนซิสเพื่อให้ได้พันธุกรรมที่ดีของหนอนไหมเพิ่มขึ้น ทำการเลี้ยงหนอนไหมที่ฟักจากไข่ที่เกิดจากกรรมวิธีพาร์ธิโนจิเนซิสและชักนำให้เกิดพาร์ธิโนจิเนซิสเช่นนี้ตลอดไปทุกๆ โดยไม่ใช้เพศผู้ผสมพันธุ์ เพื่อความสะดวกในการเรียกชื่อ จึงให้ชื่อพันธุ์ไหมใหม่เหล่านี้ว่า พันธุ์ Pg2 และ Pg4 ตามลำดับ เป็นการรักษาความดีเด่นของไหมลูกผสมระหว่างไหมพันธุ์แท้สายพันธุ์ญี่ปุ่นกับสายพันธุ์ญี่ปุ่น และรังไหมมีลักษณะคอดยาว หนอนไหมพันธุ์ Pg1, Pg2 และ Pg4 ลำตัวหนอนไหมมีลายตามลำตัวแบบปกติ (normal marking) คือมีจุดคล้ายตา (eye spot) ที่บริเวณอกปล้องที่ 2 มีจุดคล้ายเสี้ยวพระจันทร์ (crescent) 1 คู่ อยู่บนปล้องท้องที่ 2 และมีจุดคล้ายดาว (star spot) 1 คู่ อยู่บนปล้องท้องที่ 8 (Figure 5A) [21-22] ต่อมาได้นำไหมลูกผสมชั่วที่ 1 (F1) พันธุ์ W4 x WC (ที่เกิดจากไหมสายพันธุ์ญี่ปุ่นผสมพันธุ์กับไหมสายพันธุ์จีน) และไหมลูกผสมรังสีเหลืองระหว่างพันธุ์นางลายกับนางน้อยศรีษะเกษ และให้ชื่อไหมที่ไข่เกิดพาร์ธิโนจิเนซิสทั้งสองพันธุ์นี้ว่า พันธุ์ Pg5 และ PgNS ตามลำดับ ไหมพันธุ์ Pg5 หนอนไหมมีลายตามลำตัวแบบปกติ ((Figure 5A) รังไหมจะมีสีขาว รังมีลักษณะกลม มีน้ำหนักรังสดและน้ำหนักเปลือกรังมาก (Figure 5B) ส่วนไหมพันธุ์ PgNS รังไหมจะมีสีเหลืองเข้ม รังไหมมีลักษณะออกยาวรี

จากประสบการณ์การวิจัยเกี่ยวกับการชักนำให้ไข่ไหมเกิดพาร์ธิโนจิเนซิส และการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมโหมโดยวิธีการนี้ พบว่าได้หน่วยสืบพันธุ์ (clone) เฉพาะไหมเพศเมีย หนอนไหมและรังไหมที่ได้มีความสม่ำเสมอดี

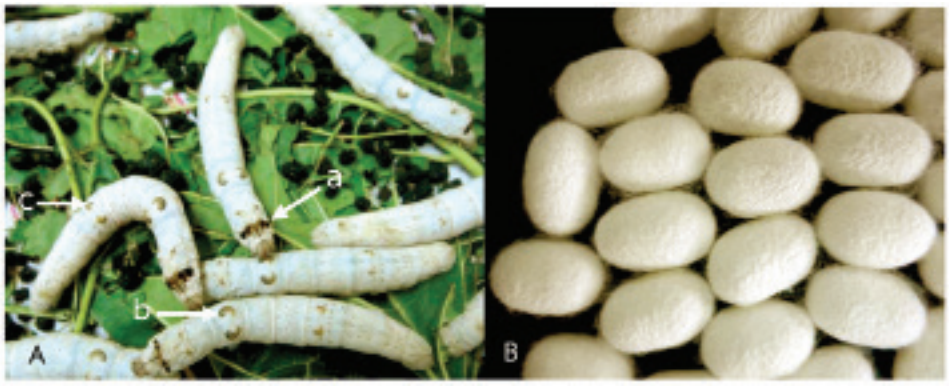

Figure 5. Parthenogenetic silkworm larvae (A) and cocoons (B) of Pg5. Larval bodies as normal marking (a: eye spot, b: crescent and c: star spot) [22]

ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุ์ไหมและการผลิตไข่ไหมลูกผสม กล่าวคือเมื่อนำไหมเพศเมียที่ได้จากกรรมวิธีพาร์ธิโนจิเนซีสไปผสมพันธุ์ไหมเพศผู้พันธุ์อื่นๆที่ดี ทำให้ได้ไหมลูกผสม (hybrid silkworm) ที่มีคุณลักษณะที่ดีทั้งในด้านคุณภาพและปริมาณ นอกจากนี้ยังพบว่าไหมพันธุ์ลูกผสมมีอัตราการเกิดพาร์ธิโนจิเนซิสสูงกว่าไหมพันธุ์เดียวกันที่เป็นพันธุ์แท้ (inbred line) ทั้งนี้เป็นผลเนื่องจากฤดูกาลที่เลี้ยง ซึ่งเป็นผลโดยตรงของอุณหภูมิในห้องเลี้ยงไหมและคุณภาพของใบหม่อน และการเกิดพาร์ธิโนจิเนซิสของไหมพันธุ์เดียวกันก็แตกต่างกันตามรุ่นเดือนที่เลี้ยงไหมทดลองซึ่งมีความเกี่ยวข้องโดยตรงกับความแข็งแรงของหนอนไหมที่เลี้ยงได้และแม่ผีเสื้อ [22-25]

Table 2 Rearing result of parthenogenetic silkworm, Pg5 [22]

Generation	Percentage of parthenogenesis (%)			Hatchability (%)	Larva duration (hr.)	Average cocoon weight (g)	Average shell weight (g)	Shell weight ratio (%)
	ทั้งหมด	Completed partheno.	Incompleted partheno.					
F1	46.5	9.9	36.6	7.8	682	2.19	0.466	22.1
F2	60.1	35.6	24.5	29.6	606	2.21	0.475	21.5
F43	80	55	25	30	665	2.75	0.624	21.6
F44	45	20	25	30	675	2.32	0.503	21.7

เอกสารอ้างอิง

1. Otosuki, Y., 1979. Silkmoth eggs. In “A general textbook of sericulture” (The Sericultural Society of Japan ed), Nihon Sanshi Shinbun-sha, Tokyo, pp.156-173 (in Japanese).
2. Tichomiroff, A. A. 1886a. Arch. Anal. Physiol., Suppl. Bd., 35.
3. Tichomiroff, A. A. 1886a. Boll. Mens. Bachiocol. (Padova) Ser. 2, Anno 3, N11.
4. Kawaguchi, E. 1934. Genitical and cytological analysis of parthenogenetically raised silkworm. *J Seric Sci Jpn.* 5 (1): 1-20.
5. Frolova, S. L. 1940a. Peculiarities of maturation of unfertilized eggs of *Bombyx mori* L., activated by hight temperature. C. R. Acad. Sci. U. R. S. S., (n. s.) 27: 601-603.
6. Frolova, S. L. 1940b. Cytology of development of parthenogenetic eggs of *Bombyx mori* L., activated by hight temperature. C. R. Acad. Sci. U. R. S. S., (n. s.) 27: 604-606.
7. Astaurov, B.L. 1940. Artificial parthenogenesis in the silkworm (*Bombyx mori*). An Experimental study. Acaddemic Press, Moscow, pp. 240.
8. Astaurov, B.L. 1957. Hight temperature as a tool for controlling development and sex determination. *Proc Zool Soc Culcutta Mookerjee*. 29-55.
9. Ohtsuki, Y. and Murakami, A. 1968. Zool. Magaz. Japan, 77, 383.
10. Sugai, E., Aoyagi, H. and Otsuka, K. 1983. Some fundamental studies on parthenogenesis of the silkworm ovarian egg. *Bombyx mori* L. *J Seric Sci.* 52(1) : 51-56.

11. Yokoyama, T., Sugai, E. 1987. Effect of hot water treatment on early development of eggs of the silkworm, *Bombyx mori. J Seric Sci.* 56 (5): 441- 442.
12. Strunnikov, V.A. 1983. Control of silkworm reproduction, development and sex. Mir publisher, Moscow, USSR. 280 pages.
13. Wilai,S. 1991. In Doctoral thesis "The sterility in female silkworm, *Bombyx mori* L., Tokyo University of Agriculture and Technology, Tokyo, Japan.
14. Ohkuma, T. 1971. Studies on the mechanism of hybrid vigour by means of artificial parthenogesis in the silkworm, *Bombyx mor*i L. *J Sericult Sci.* 36(4): 277-285.
15. Hirogawa, M, 1990. Selection of the high parthenogenesis lines and examination of their practical characters in commercial F1 Hybrid races of the silkworm, *Bombyx mori*. The Bull. of the Fukushima Seric. Exp. Sta., 21: 1-6 (in Japanese with an English summary).
16. Tamazawa, S. and Takizawa, Y. 1977. On the polyploidy induced by supercooling treatment of the eggs of the silkworm, *Bombyx mori* L. The relation between the enlargement of the serosa cells and the polyploidy. Memoirs of the Faculty of Agriculture, Hokkaido University, vol 10 (4): 272-283.
17. Yokoyama, T., Sugai, E., Oshiki, T. and Zhong, P. Q. 1990. Induction of the triploid silkworm. Bombyx mori, by the hot water treatment to the inseminated egg immediately after oviposition. *J Seric Sci Japan.* 59 (3): 218-224.
18. Takei, R., Nakagaki, Kodaira, R, and Nagashima, E. 1990. Factor analysis on the parthenogenesis development of ovarian eggs in the silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). Appl. Ent. Zool. 25 (1): 43- 48.
19. Astaurov, B.L. 1967. Artificial Parthenogenesis and Experimental Polyploidy in Silkworm. *J Seric Sci Sc Japan*. 36(4): 277-285.
20. Fugo, H. 1989. Comparison of some components in parthenogenesic eggs and fertilized egg of the silkworm, Bombyx mori. *J Seric Sci.* 58 (4): 351-352.
21. สาน วิไล สุธาทิพย์ ห้องทองแดง นภดล พันธุ์คำเกิด และภุชงค์ เพชรมนต์. 2534. การศึกษาการเจริญเติบโตของไข่ไหมพันธุ์ K1 x K3 และ KT x KT1 โดยวิธีการไม่ผ่านการผสมพันธุ์, รายงานการประชุมสถาบันวิจัยหม่อนไหม, กรมวิชาการเกษตร หน้า 171-176.
22. สาน วิไล และสุธาทิพย์ ห้องทองแดง. 2539. การรวบรวม และอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมไหมโดยกรรมวิธีพาทิโนเจเนซิส รายงานการประชุมสถาบันวิจัยหม่อนไหม, กรมวิชาการเกษตร หน้า 231-234.
23. สาน วิไล และสุธาทิพย์ ห้องทองแดง. 2541. การคงสภาพเชื้อพันธุกรรมของไหมลูกผสมโดยวิธีการไม่ผ่านการผสมพันธุ์, รายงานโครงการอนุรักษ์ และพัฒนาพันธุ์หม่อนไหม และไม้ย้อมสี, สถาบันวิจัยหม่อนไหม, กรมวิชาการเกษตร หน้า 1-8.
24. สาน วิไล. 2554. การคงสภาพความดีเด่นของไหมพันธุ์การค้าลูกผสมชั่วที่ 1 พันธุ์ Kinshu x Showa โดยวิธีพาธิโนเจเนซิส วารสารวิทยาเขตหนองคาย มข. ปีที่ 6 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม-ธันวาคม ประจำปี 2554. หน้า 107-113.
25. Wilai, S. and Hongthongdaeng, S. 2002. Induction and preservation of parthenogenesis in bivoltine silkworm. The19th Congress of the International Sericultural Commission Proceedings, 21th–25th September 2002, Queen Sirikit National Convention center Bangkok, Thailand. : 149-153.