ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การเปรียบเทียบลายพิมพ์ดีเอ็นเอในไมโตคอนเดรียเพื่อการจำแนกพันธุ์ไหมไทยพื้นเมือง

ชื่อผู้เขียน นายกฤษณะ เรืองฤทธิ์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชากีฏวิทยา

กรรมการสอบวิทยานิพนธ์

ผศ.ดร. จิราพร ตยุติวุฒิกุล	ประธานกรรมการ
อ.ดร. อังสนา อัครพิศาล	กรรมการ
อ.ดร. วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ	กรรมการ
รศ. เพทาย พงษ์เพียจันทร์	กรรมการ

บทคัดย่อ

พันธุ์ไหมไทยพื้นเมือง (*Bombyx mori* Linnaeus) มีหลายพันธุ์ที่แสดงถึงศักยภาพสำหรับนำไปปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ผลิตภัณฑ์จากไหมมีคุณภาพดียิ่งขึ้น อย่างไรก็ตามพันธุ์ไหมไทยพื้นเมืองเหล่านี้มีความสัมพันธ์ที่ใกล้ชิดกันมาก และลักษณะพื้นฐานทางสัณฐานวิทยาโดยเฉพาะในระยะตัวเต็มวัยมีลักษณะที่ไม่แตกต่างกันทำให้เป็นการยากที่จะจำแนกพันธุ์ไหมในระยะนี้เพื่อใช้ในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์ ดังนั้นวิธีทางอณูวิทยาที่นำมาใช้ คือ Polymerase Chain Reaction–Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR–RFLP) เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์ไหมไทยพื้นเมืองทั้ง 5 พันธุ์ได้แก่ โนนฤาษี นางลาย เขียวสกล นางเหลือง นางน้อยศรีสะเกษ 1 และใช้ไหมป่า (*Philosamia ricini*) เป็นตัวเปรียบเทียบนอกกลุ่ม โดยศึกษาส่วนของยีน cytochrome oxydase subunit I–II gene (COI–COII gene) จากไมโตคอนเดรีย และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR) แล้วตัดชิ้นส่วนของดีเอ็นเอเป้าหมายด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) 9 ชนิดคือ *Bfa* I, *Cla* I, *Hha* I, *Mbo* I, *Mse* I, *Msp* I, *Rsa* I, *Taq* I, และ *Xnm* I ตรวจสอบแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วย agarose gel และ polyacrylamide gel พบว่ามีเอนไซม์ 4 ชนิดคือ *Cla* I, *Hha* I, *Msp* I และ *Xnm* I ที่ไม่สามารถจำแนกไหมป่าและพันธุ์ไหมไทยพื้นเมืองออกจากกันได้ อย่างไรก็ตามมีเอนไซม์ 5 ชนิดที่สามารถตัดชิ้นส่วนของ COI–COII gene เป้าหมายได้ และในจำนวนนี้พบว่ามีเอนไซม์ 4 ชนิดคือ *Bfa* I, *Mbo* I, *Rsa* I, และ *Taq* I ผลิตแบบแผนลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่สามารถจำแนกไหมป่าและพันธุ์ไหมไทยพื้นเมืองออกจากกันได้ นอกจากนี้

พบว่ามีเพียงเอนไซม์เดียวคือ *Mse* I ที่จำแนกพันธุ์ไหมไทยพื้นเมืองออกจากไหมป่าได้แล้วยังสามารถจำแนกพันธุ์ไหมไทยพื้นเมืองออกจากกันได้เป็น 2 กลุ่มได้แก่ กลุ่มที่ 1 คือพันธุ์โนนฤาษีและนางลาย กลุ่มที่ 2 คือพันธุ์เขียวสกล นางเหลือง และนางน้อยศรีสะเกษ 1

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

Thesis Title Comparison on Mitochondrial DNA Fingerprint for Identification of Thai Native Silkworm Varieties

Author Mr. Krissana Ruangrit

M.S. (Agriculture) Entomology

Examining Committee

Asst. Prof. Dr. Jiraporn Tayutivutikul	Chairman
Lect. Dr. Angsana Akarapisan	Member
Lect. Dr. Weerathep Pongprasert	Member
Assoc. Prof. Petai pongpiachan	Member

Abstract

There are many varieties of Thai native silkworms (*Bombyx mori* Linnaeus) showing high potential for silk product improvement. However, since they are all very closely related and basically have morphological identity especially in their adult stage, it is difficult to identify them in a breeding process. Therefore, a molecular technique, Polymerase Chain Reaction–Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR–RFLP), was applied to study among 5 native silkworm varieties; Nonrusee, Nanglai, Keawsakol, Nangluang and Nangnoisrisaket 1, and compared to a wild silkworm (*Philosamia ricini*). The regions between cytochrome oxydase subunit I–II gene (COI–COII gene) from mitochondrial genome of all silkworms were amplified by PCR, and were digested with 9 restriction enzymes; *Bfa* I, *Cla* I, *Hha* I, *Mbo* I, *Mse* I, *Msp* I, *Rsa* I, *Taq* I, and *Xnm* I to generate band polymorphisms on agarose and polyacrylamide gel. Four restriction enzymes; *Cla* I, *Hha* I, *Msp* I and *Xnm* I were not useful in separating the Thai native silkworm varieties and the wild silkworm. However, there were five restriction enzymes that cut the COI–COII gene target, and four of them; *Bfa* I, *Mbo* I, *Rsa* I, and *Taq* I generated band patterns to differentiate between Thai native silkworm varieties and the wild silkworm. Only *Mse* I produced band polymorphisms that is not only separated the Thai native group from the wild one, but also

divided them into two groups. The first group composed of Nonrusee and Nanglai, and the second group consisted of Keawsakol, Nangluang, and Nangnoisrisaket 1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University