

การกักขังเลี้ยงและการสืบพันธุ์ของพารามีเซียมคอคเคตุมบริสุทธี

Study on the pure culture of Paramecium caudatum and its reproduction

ปริญญานิพนธ์

ของ

ทวิช กอนสกุล

THE LIBRARY
COLLEGE OF EDUCATION
BANGKOK, THAILAND

เสนอต่อวิทยาลัยวิชาการศึกษา
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญากฎการศึกษาแบบบัณฑิต

๘ มีนาคม ๒๕๑๔

คณะกรรมการที่ปรึกษาประจำตัวนิติได้พิจารณาปัญญานิพนธ์ฉบับนี้แล้ว
เห็นสมควรรับ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต
ของวิทยาลัยบริหารการศึกษได้.

นร. ๒๒๐๖

ประธาน

อ.จ. ๒๒๐๖

กรรมการ

๘ มีนาคม ๒๕๑๔

ประกาศคุณประการ

การที่นักศึกษากรังนี้สำเร็จไคคยก็ เนื่องจากผู้เขียนได้รับคำแนะนำช่วยเหลือ
จากอาจารย์ทรงคุณคุณิทยาทาน คือ อาจารย์ ดร. ทวี ทอมหง หัฒนาภะวิทยาศาสตร์
และณิไพธกร วิทยาลัยวิชาการศึกษา พระนคร อาจารย์ วราพร สุรวดี หัฒนาแผนก
ชีววิทยา วิทยาลัยวิชาการศึกษา ประสานมิตร อาจารย์ ดร.พนั สะเพียรชัย โครงการ
วิจัย เลือกสรร วิทยาลัยวิชาการศึกษา ประสานมิตร ผู้เขียนกราบขอบพระคุณอย่างสูงไว้
ณ ทนคย

นอกจากนี้ผู้เขียนขอขอบคุณ อาจารย์ บุญฤดี บรรจบรานนท์ แผนกชีววิทยา
วิทยาลัยวิชาการศึกษา พระนคร ที่ไคกรุณาให้คำแนะนำช่วยเหลือ คุณเสวดี กอนสกูล
ที่ไคกรุณาให้ความช่วยเหลือในการเก็บรวบรวมตัวอย่างน้ำที่นำมาใช้ในการศึกษากรังนี้คย.

ธวัช กอนสกูล

สารบัญ

บท	หน้า
๑ บทนำ	๑
สมมุติฐานในการศึกษาครั้งนี้	๕
ความมุ่งหมายในการศึกษาครั้งนี้	๖
ความสำคัญในการศึกษาครั้งนี้	๖
นิยามศัพท์เฉพาะในการศึกษาครั้งนี้	๗
ขอบเขตของการศึกษาครั้งนี้	๘
๒ เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาครั้งนี้	๙
๓ อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ	๒๑
พารามิเตอร์ที่ใช้ศึกษาและการเก็บตัวอย่างพารามิเตอร์	๒๑
การตรวจพารามิเตอร์เชื่อมคอเคตุม	๒๒
การแยกพารามิเตอร์เชื่อมคอเคตุมออกจากพารามิเตอร์ชนิดอื่น	๒๔
การเตรียมอาหาร	๒๖
เทคนิคและวิธีการแยกพารามิเตอร์เชื่อมคอเคตุมออกจากโปรโตซัวชนิดอื่น	๒๘
ศึกษาการเจริญเติบโตของพารามิเตอร์เชื่อมคอเคตุมบริสุทธิ์ในน้ำคัมฟาง ที่มีความเข้มข้นต่างกัน	๒๙
ศึกษาการสืบพันธุ์แบบไบนารีฟิชชัน และการหา generation time ของพารามิเตอร์เชื่อมคอเคตุมบริสุทธิ์ ในน้ำคัมฟางที่มีความเข้มข้น และปริมาณแสงสว่างต่างกัน	๓๐
การหา generation time	๓๑
ศึกษาการสืบพันธุ์แบบออโทแกมีของพารามิเตอร์เชื่อมคอเคตุมบริสุทธิ์	๓๑

บทที่	หน้า
ศึกษาการสืบพันธุ์แบบกอนจูเกชันของพารามีเซียมคอคเคตุมบริสุทธี	๓๘
๔ ผลการทดลอง	๓๕
ศึกษาวิธีเลี้ยงพารามีเซียมคอคเคตุมให้บริสุทธี	๓๕
ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของพารามีเซียมคอคเคตุมบริสุทธีในน้ำคัม	
ฟางที่มีความเข้มข้นต่างกัน	๓๕
ศึกษาการสืบพันธุ์แบบไบนารีฟิชชัน และการหา generation time	
ของพารามีเซียมคอคเคตุมบริสุทธี ในน้ำคัมฟางที่มีความเข้มข้น	
และปริมาณแสงสว่างต่างกัน	๔๓
การเปรียบเทียบ generation time ของพารามีเซียมคอคเคตุม	
บริสุทธี ในน้ำคัมฟางที่มีความเข้มข้นและปริมาณแสงสว่างต่างกัน	๔๘
ศึกษาการสืบพันธุ์แบบออโทแกมีของพารามีเซียมคอคเคตุมบริสุทธี	๖๑
ศึกษาการสืบพันธุ์แบบกอนจูเกชันของพารามีเซียมคอคเคตุมบริสุทธี	๖๓
๕ สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	๖๓
สรุปผล	๖๓
อภิปรายผล	๖๘
ข้อเสนอแนะ	๗๒
บรรณานุกรม	๗๕
ภาคผนวก	๗๗

บัญชีตาราง

ตาราง	หน้า
๑ แสดงจำนวนโปรโตชีวที่ลดน้อยลง เมื่อแพลงก์ตอนมีเชื้ยมก่อเกิด โดยใช้ไม้ปลายแหลมขนาดเล็ก	๓๖
๒ แสดงอัตราการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนเชื้ยมก่อเกิดในน้ำ ที่ต่างกัน	๓๘
๓ แสดงอัตราการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนเชื้ยมก่อเกิดในน้ำ ที่ต่างกัน	๓๘
๔ แสดงจำนวนแพลงก์ตอนเชื้ยมก่อเกิดทั้งหมด ๑๒ แห่ง มีชีวิตอยู่ได้ ในน้ำที่ความเข้มข้น ๐.๕ %	๔๒
๕ แสดง generation time ของแพลงก์ตอนเชื้ยมก่อเกิด ๓ ชั่วโมง ในน้ำที่ความเข้มข้น ๑.๐ % บนสไลด์หลุม	๔๔
๖ แสดง generation time ของแพลงก์ตอนเชื้ยมก่อเกิด ๓ ชั่วโมง ในน้ำที่ความเข้มข้น ๐.๕ % บนสไลด์หลุม	๕๐
๗ แสดง generation time ของแพลงก์ตอนเชื้ยมก่อเกิด ๓ ชั่วโมง ในน้ำที่ความเข้มข้น ๐.๑ % บนสไลด์หลุม	๕๑
๘ แสดงจำนวนแพลงก์ตอนเชื้ยมก่อเกิดในน้ำกลั่นบนสไลด์หลุม	๕๒
๙ แสดง generation time ของแพลงก์ตอนเชื้ยมก่อเกิด ๓ ชั่วโมง ในน้ำที่ความเข้มข้น ๑.๐ % บนสไลด์หลุม	๕๓

๑๐	แสดง generation time ของพารามีเซียมคอเคตุมบริสุทธิ ๓ ชั่วโมง ในน้ำคัมฟางที่มีความเข้มข้น ๐.๕ % บนสไลด์หลุม	๕๕
๑๑	แสดง generation time ของพารามีเซียมคอเคตุมบริสุทธิ ๓ ชั่วโมง ในน้ำคัมฟางที่มีความเข้มข้น ๐.๑ % บนสไลด์หลุม	๕๘
๑๒	แสดงจำนวนพารามีเซียมคอเคตุมบริสุทธิในน้ำกลั่นบนสไลด์หลุม	๕๖
๑๓	แสดง generation time ของพารามีเซียมคอเคตุมบริสุทธิ ๓ ชั่วโมง ในน้ำคัมฟางที่มีความเข้มข้น ๑.๐ % บนสไลด์หลุม	๕๗
๑๔	แสดง generation time ของพารามีเซียมคอเคตุมบริสุทธิ ๓ ชั่วโมง ในน้ำคัมฟางที่มีความเข้มข้น ๐.๕ % บนสไลด์หลุม	๕๘
๑๕	แสดง generation time ของพารามีเซียมคอเคตุมบริสุทธิ ๓ ชั่วโมง ในน้ำคัมฟางที่มีความเข้มข้น ๐.๑ % บนสไลด์หลุม	๕๙
๑๖	แสดงจำนวนพารามีเซียมคอเคตุมบริสุทธิในน้ำกลั่นบนสไลด์หลุม	๖๐
๑๗	การวิเคราะห์ความแปรปรวน generation time ของพารามีเซียมคอเคตุมบริสุทธิ ในน้ำคัมฟางที่มีความเข้มข้นต่างกัน (A) และในปริมาณแสงสว่างที่ต่างกัน (B)	๖๑
๑๘	แสดงการเกิดออโทแกมีของพารามีเซียมคอเคตุมบริสุทธิ ๑๒ แห่ง	๖๒
๑๙	แสดงการเกิดคอนจูเกชันของพารามีเซียมคอเคตุมบริสุทธิ ๑๒ แห่ง	๖๓

บัญชีรูปภาพ

รูปที่		หน้า
๑	พารามีเซียมที่เพาะเลี้ยงด้วยน้ำคัมฟางในบีกเกอร์ ๒๕๐ ซีซี	๒๓
๒	ปิเปตต์ปลายแหลมขนาดเล็ก (micro pipettes) ที่ใช้แยกพารามีเซียม	๒๕
๓	นิวเคลียสของพารามีเซียมคอเคตุม	๒๗
๔	การหา generation time ของพารามีเซียมคอเคตุม โดยใช้แสงสว่างที่มีความเข้ม 2 candles/sq.ft.	๓๒
๕	การหา generation time ของพารามีเซียมคอเคตุมในที่มีค	๓๓
๖	stock culture ของพารามีเซียมคอเคตุมซึ่งแยกบริสุทธิ์แล้ว	๓๗
๗	การสัณฐานแบบไบนารีฟิชชันของพารามีเซียมคอเคตุม แสดงการเกิด cytoplasmic membrane ขึ้นใหม่กึ่งกลางเซลล์ซึ่งมีลักษณะคอค	๔๔
๘	การสัณฐานแบบไบนารีฟิชชันของพารามีเซียมคอเคตุม 'ต่อจากรูปที่ ๗ เป็นเวลา ๑๐ นาที	๔๕
๙	การสัณฐานแบบไบนารีฟิชชันของพารามีเซียมคอเคตุม 'ต่อจากรูปที่ ๘ เป็นเวลา ๕ นาที	๔๖
๑๐	การสัณฐานแบบคอนจูเกชันของพารามีเซียมคอเคตุมบริสุทธิ์ No.8 กับ No.9 เกิดการจับกลุ่ม (clumping) ภายหลังจากรวมกัน ๒ นาที	๖๔

รูปที่		หน้า
๑๑	การสับพันธุ์แบบกอนจูเกชั่นของพารามีเซียมคอเคซุสบริษัท No.8 กับ No.10 เกิดการจับกลุ่มภายหลังจากรวมกัน ๒ นาที	๖๕
๑๒	การสับพันธุ์แบบกอนจูเกชั่นของพารามีเซียมคอเคซุสบริษัท (No.8 กับ No.9) ท่อจากรูปที่ ๑๐ หลังจากการจับกลุ่มกัน แล้วประมาณ ๕ นาทีพบว่า บางคู่เริ่มจับคู่และแยกออกจากกลุ่ม	๖๖

บัญชีกราฟ

กราฟที่		หน้า
๑	อัตราการเจริญเติบโตของพารามีเซียมกอดเคตุมยวิสุทธิ ในน้ำตมฟางที่มีความเข้มข้นต่างกัน	๔๐
๒	อัตราการเจริญเติบโตของพารามีเซียมกอดเคตุมยวิสุทธิ ในน้ำตมฟางที่มีความเข้มข้นต่างกัน	๔๑

พารามีเซียมเป็นสัตว์จำพวกโปรโตซัว (protozoa) ที่ร่างกายไม่แบ่งออกเป็นเซลล์ (acellular) มีซิเลีย (cilia) อยู่โดยรอบเซลล์ใช้สำหรับการเคลื่อนที่ พารามีเซียมมีหลายชนิด แต่ละชนิดมีขนาด รูปร่าง ลักษณะแตกต่างกัน พบทั่วไปทั้งในน้ำจืด น้ำเค็ม และน้ำกร่อย ในปัจจุบันพารามีเซียมคอคเคตัม (Paramecium caudatum) เป็นพารามีเซียมชนิดที่รู้จักกันเป็นอย่างดีในทางชีววิทยา ใช้เป็นตัวอย่างพวกโปรโตซัวสำหรับศึกษาในห้องเรียน ห้องปฏิบัติการกันอย่างแพร่หลาย เพราะสามารถนำมาเพาะเลี้ยงได้ไม่ยากนัก และเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วมาก นอกจากนี้พารามีเซียมยังใช้เป็นตัวอย่างสำหรับศึกษาทางชีววิทยานั้นสูงในหลายสาขาอีกด้วย Kudo กล่าวหาว่า "พารามีเซียมคอคเคตัม มีกระจายแพร่หลายไปตามส่วนต่าง ๆ ของโลกมากที่สุด" ฉะนั้นจึงเป็นโปรโตซัวชนิดที่หาการศึกษาได้ไม่ยากนัก

การศึกษาเกี่ยวกับโปรโตซัวในระยะเริ่มแรก เป็นการศึกษาถึงวิธีการที่จะนำเอาโปรโตซัวชนิดต่าง ๆ รวมทั้งพารามีเซียมมาเลี้ยงให้ชีวิตอยู่ได้ในห้องปฏิบัติการ และพฤติกรรมในการสืบพันธุ์ของโปรโตซัว Calkins^๒ เป็นบุคคลแรกที่ให้ความสนใจการเจริญเติบโตของพารามีเซียมในน้ำคอก้าง เขารายงานถึงวิธีเตรียมน้ำคอก้าง และการเลี้ยงพารามีเซียมบนสไลด์หลุมควม่น้ำคอก้างเพียงเล็กน้อย การศึกษาในระยะเริ่มแรกยังไม่ทราบถึงสัณฐานและองค์ประกอบที่มีอยู่ในน้ำคอก้าง ต่อมา Calkins จึงได้พบว่า บักเตรีชนิดหนึ่ง

Richard R. Kudo, Protozoology, p. 903.

^๒ Gary N. Calkins, "Study on the life history of Protozoa I, The life cycle of Paramecium caudatum," Arch. f. Ent-mech. 15:139-186, 1902 a. (citing "The growth of Paramecium in pure culture of bacteria," The Journal of Experimental Zoology 22:421-454, February, 1917. by Geo T. Hargitt and Walter W. Fray).

ชื่อ บาซิลลัส ซับติลิส (*Bacillus subtilis*) ในน้ำคั้นพางเป็นอาหารของพารามีเซียมตามปกติ แต่ยังมีผู้ศึกษาในเรื่องนี้บางคนเกิดความสงสัยอยู่ว่า การดำรงชีวิตของพารามีเซียมคงไม่ขึ้นอยู่กับแบคทีเรียชนิดใดชนิดหนึ่งที่มีอยู่ในน้ำคั้นพางแต่เพียงอย่างเดียว Peters จึงศึกษาวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำคั้นพางที่ใช้เป็นอาหารเลี้ยงพารามีเซียมด้วยความระมัดระวัง ผลการวิเคราะห์ได้พบว่า ความเป็นกรดเป็นด่าง (p^H) ของน้ำคั้นพางมีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย และมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของพารามีเซียมอีกด้วย ต่อมา Jennings ได้พบแบคทีเรียพวกหนึ่ง (bacteria flora) ในน้ำคั้นพาง และแบคทีเรียดังกล่าวเป็นสาเหตุทำให้พารามีเซียมเกิดสภาพผิดปกติขึ้น ถ้าหากน้ำคั้นพางเกิดสภาพผิดปกติขึ้นจะทำให้พารามีเซียมอ่อนกำลังลง ขณะเดียวกันก็ค่อย ๆ เริ่มลดจำนวนลงและตายไปในที่สุด ถึงแม้ว่าในอาหารนั้นจะมีแบคทีเรียขึ้นอยู่อย่างอุดมสมบูรณ์ แต่ Jennings ก็ยังไม่สามารถบอกให้ทราบได้แน่นอนว่า การตายของพารามีเซียมนั้นเกิดขึ้นเพราะสาเหตุใด การตายอาจจะเกิดขึ้นเพราะสารพิษที่แบคทีเรียขับออกมา หรืออาจเป็นเพราะสภาพอื่น ๆ ของสิ่งแวดล้อมที่เลี้ยงพารามีเซียมไม่เหมาะสม

ความพยายามในการศึกษาวิธีเลี้ยงพารามีเซียมในห้องปฏิบัติการดังกล่าว ถึงแม้ว่าจะประสบความสำเร็จเร็วอยู่บ้าง แต่ความสำเร็จเหล่านั้นยังไม่เป็นที่พึงพอใจของผู้ศึกษาค้นคว้า ทั้งนี้เพราะมีอุปสรรคเกิดขึ้นในระหว่างการทดลอง อุปสรรคสำคัญประการหนึ่งคือ พารามีเซียมมักจะอ่อนกำลังลง และตายไปในที่สุด ในอาหารที่เกิดสภาพผิดปกติขึ้น นอกจากนี้พารามีเซียมที่ใช้เลี้ยงในอาหารชนิดต่าง ๆ ยังไม่สามารถที่จะเพิ่มจำนวนได้มากตามความต้องการ และ

^๑ Amos W. Peters, "Chemical Studies on the cell and its medium part I, Method for the study of liquid culture media," Ameri. Jour. Physiol. 17:443-477, 1907. (citing "The growth of Paramecium in pure culture of bacteria," The Journal of Experimental Zoology 22:421-454, February, 1917. by Geo T. Hargitt and Walter W. Fray).

^๒ H.S. Jennings, "Heredity variation and evolution in Protozoa II," Proc. Amer. Philos. Soc. 47:393-546, 1910. (citing "The growth of Paramecium in pure culture of bacteria," The Journal of Experimental Zoology 22:421-454, February, 1917. by Geo T. Hargitt and Walter W. Fray).

มีชีวิตอยู่ไต่ยาวนานในอาหารชนิดเดียว ดังนั้นจึงได้มีการศึกษาเปลี่ยนแปลงอาหารที่ไร้เลี้ยง พารามีเซียมอยู่ตลอดมา ขณะเดียวกันก็ได้ศึกษาถึงสภาพของสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ ที่มีอิทธิพลต่อการดำรงชีวิต การเจริญเติบโต และการขยายพันธุ์ของพารามีเซียมควบคู่กันไปด้วย สิ่งแวดล้อมที่ศึกษากันส่วนมากศึกษาเกี่ยวกับสภาพของอาหาร ความเข้มข้นของอาหาร ความ เป็นกรดเป็นด่างของอาหาร อุณหภูมิ และแสงสว่าง ผลการศึกษาของแต่ละคนที่ได้ออกมา แตกต่างกันไป ส่วนใหญ่เป็นผลของการศึกษาที่ทำกันในต่างประเทศ และถ้าเป็นการศึกษา เพาะเลี้ยงพารามีเซียมที่ไม่บริสุทธิ์ มีโปรโตซัวชนิดอื่นปะปนอยู่ด้วยแล้ว ผลการศึกษาที่ได้ออกมา ก็ยังไม่อาจชี้เฉพาะเจาะจงลงไปได้นั่นเองว่า สภาพของสิ่งแวดล้อมเหล่านั้นมีอิทธิพลต่อการ ดำรงชีวิตของพารามีเซียมอย่างแท้จริงเพียงใด ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากโปรโตซัวขนาดเล็ก ที่ปะปนอยู่นั้น มีอิทธิพลต่อการดำรงชีวิตของพารามีเซียมอยู่ด้วย โปรโตซัวขนาดเล็กที่ปะปน อยู่ นั้น อาจจะเป็นอาหาร อาจจะเป็นยวณ และอาจจะอยู่อย่างพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกันกับ พารามีเซียม ฉะนั้นเราจึงไม่อาจทราบการเจริญเติบโต เวลาที่ใช้ในการแบ่งตัวของพารามีเซียม ได้ อย่างแท้จริง จนกว่าเราจะสามารถแยกเอาพารามีเซียมออกจากโปรโตซัวชนิดอื่น ๆ แล้วนำมาเลี้ยงให้เจริญเติบโตขยายพันธุ์ในอาหารชนิดใดชนิดหนึ่ง ภายใต้สภาพของสิ่งแวดล้อม ที่เรากวบลู่ได้ เมื่อไม่นานมานี้ Phelps และ Fernandez ได้ประสบความสำเร็จ ในการแยกเอาโปรโตซัวออกจากสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ๆ ตามระบบ migration system ซึ่งประกอบด้วยหลอดแก้วงอเป็นรูปตัวยู และเครื่องมีช่องยูกักสัตว์ชนิดอื่น แต่ดำเนินการ ศึกษาที่จะแยกเอาพารามีเซียมออกเคตุ้ม ออกจากโปรโตซัวชนิดอื่นมาเลี้ยง ใช้สำหรับศึกษา ทางชีววิทยาในห้องปฏิบัติการ เราอาจจะใช้วิธีการ และเทคนิคอย่างง่าย ๆ ก็สามารถที่จะ แยกเอาพารามีเซียมออกจากโปรโตซัวชนิดอื่น ๆ และนำมาเลี้ยงในอาหารที่เราต้องการได้

การสืบพันธุ์ของพารามีเซียมที่รู้จักกันทั่วไปมีอยู่ ๓ แบบคือ การสืบพันธุ์แบบไบนารี ฟิชชัน (binary fission) การสืบพันธุ์แบบคอนจูเกชัน (conjugation) และการ

๑ Austin Phelps, and Bernal Fernandez, "A simple method for obtaining protozoa in pure culture," Revista de Biologia Tropical 8:263-268, December, 1960.

สืบพันธุ์แบบออโทแกมมี (autogamy)

การสืบพันธุ์แบบไบนารีฟิชชัน มีผู้ศึกษากันตลอดมา กับพารามีเซียมชนิดต่าง ๆ ผลที่ได้รับบางครั้งก็ใกล้เคียงกัน แต่บางครั้งก็แตกต่างกันไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพของอาหาร ความเข้มข้นของอาหาร อุณหภูมิ ปริมาณของแสงสว่าง พารามีเซียมที่เรากำลังศึกษาได้จากถิ่นที่อยู่ในสภาพแวดล้อมประเภทที่ต่างกัน สถานที่ทดลองต่างกัน ฉะนั้นเราจึงไม่อาจสรุปได้ว่าในวันหนึ่ง ๆ นั้น พารามีเซียมก่อเคอคุมแบ่งตัวได้กี่ครั้ง แต่การศึกษากการแบ่งตัวแบบไบนารีฟิชชันของพารามีเซียมก่อเคอคุม ที่มีอยู่ในประเทศของเราอย่างใกล้ชิด จะทำให้สรุปได้ว่า พารามีเซียมที่ไคมานั้นแบ่งตัววันละกี่ครั้ง ในสภาพของสิ่งแวดล้อมที่เราต้องการควบคุม เช่น ความเข้มข้นของอาหาร และปริมาณของแสงสว่างที่แตกต่างกัน

การสืบพันธุ์แบบกอนจูเกชัน อาจจะเกิดขึ้นได้กับพารามีเซียม strain เดียวกัน แต่ตามปกติแล้วจะไม่เกิด Sonneborn รายงานว่า ถ้าหากพารามีเซียมต่าง strains กัน หรือเป็น complementary mating types ซึ่งกันและกันแล้ว พารามีเซียมจะเกิดกอนจูเกชันกันขึ้น แต่เนื่องจากพารามีเซียมก่อเคอคุมในประเทศไทย ยังไม่เคยมีใครศึกษา มาก่อนเลย ฉะนั้นจึงไม่อาจทราบได้ว่า มีพารามีเซียมก่อเคอคุมที่ต่าง strain กันหรือไม่ แต่ Sonneborn^๒ รายงานว่า พารามีเซียมที่รวบรวมมาได้จากถิ่นที่อยู่ต่าง ๆ กัน เมื่อนำมาเลี้ยงในภาชนะเดียวกันก็เกิดกอนจูเกชันกันขึ้น และเมื่อนำไปตรวจดูก็พบว่า เป็นพารามีเซียมที่ต่าง strains กัน ดังนั้น พารามีเซียมก่อเคอคุมที่รวบรวมมาได้จากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทย อาจจะเป็น strain เดียวกัน หรือต่าง strains กันก็ได้ แต่ถ้ามองพารามีเซียมที่ต่าง strains กันแล้ว เมื่อนำมารวมกันก็จะเกิดกอนจูเกชันกัน ซึ่งจะทำให้ทราบว่า พารามีเซียมก่อเคอคุมในประเทศไทยที่รวบรวมไคมานั้น เป็นพารามีเซียมที่ต่าง strains กัน และสามารถเกิดกอนจูเกชันกันได้ เช่นเดียวกับที่มีผู้รายงานการทดลอง

^๑ T.M. Sonneborn, "Breeding system, reproductive method, and species problems in protozoa," in The species problem, pp.159-160.

^๒ Ibid. p. 158.

ในต่างประเทศ

นอกจากการสืบพันธุ์ ๒ แบบดังกล่าวมาแล้ว ในบางโอกาสพารามีเซียมมีการสืบพันธุ์แบบผสมในตัวเอง หรือที่เรียกว่าออโตแกมี (autogamy) การสืบพันธุ์แบบนี้เกิดขึ้นใน P. aurelia^๑ เกือบทุก variety ส่วนในพารามีเซียมกอดเคตมั้น ยังไม่มีใครทราบกันแน่นอน แต่ Sonneborn แนะนำว่า ออโตแกมีอาจจะเกิดขึ้นได้ในพารามีเซียมกอดเคตมั้นบาง variety และได้เรียกร้องให้การศึกษาค้นคว้าในเรื่องนี้กันต่อไป ฉะนั้นเราจึงไม่อาจทราบได้แน่นอนลงไปว่า พารามีเซียมกอดเคตมั้น เกิดออโตแกมีจริงหรือไม่ เพียงใด จนกว่าเราจะได้ทำการศึกษาค้นคว้าในเรื่องนี้ให้รู้แน่นอนลงไป การวิจัยครั้งนี้มีสมมุติฐานและความมุ่งหมายดังต่อไปนี้

สมมุติฐานในการศึกษากันว่า

๑. พารามีเซียมกอดเคตมั้น สามารถที่จะแยกและนำมาเลี้ยงให้บริสุทธิ์ได้
๒. องค์ประกอบ (factor) ของสภาพแวดล้อมที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์แบบไม้อาศัยเพศ (binary fission) อาจจะทำให้เวลาเพิ่มทวีคูณ (generation time) แตกต่างกันเมื่อ
 - (ก) อาหารมีความเข้มข้นต่างกัน
 - (ข) ปริมาณของแสงสว่างต่างกัน
๓. พารามีเซียมกอดเคตมั้นที่แยกบริสุทธิ์แล้ว ถึงแม้ว่าจะเป็นชนิด (species) เดียวกัน แต่พารามีเซียมที่นำมาจากถิ่นที่อยู่ (habitat) ต่างกัน อาจจะเป็นคนละ strains เมื่อนำมารวมกันแล้ว อาจจะมีสืบพันธุ์แบบกอนจูเกชันกันได้ หรือเป็น complementary mating types ขອງกันและกัน

^๑ Ibid. p. 188.

^๒ Ibid. pp. 239-240.

ความมุ่งหมายในการศึกษาค้นคว้า

๑. เพื่อศึกษาวิธีเลี้ยงฟาร์มเข้ยมกอกเคอุมไ้บริสุทธิ์
๒. เพื่อศึกษาการสืบพันธุ์แบบไ้নারีพิชชนั้ของฟาร์มเข้ยมกอกเคอุม
๓. เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบ generation time ของฟาร์มเข้ยมกอกเคอุมในอาหารที่มีความเข้มข้นต่างกัน
๔. เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบ generation time ของฟาร์มเข้ยมกอกเคอุมในที่มีปริมาณของแสงสว่างต่างกัน
๕. เพื่อศึกษาการสืบพันธุ์แบบออโทแกมีของฟาร์มเข้ยมกอกเคอุม
๖. เพื่อศึกษาว่า ฟาร์มเข้ยมกอกเคอุมเดียวกันนี้จะอาจจะมี brains กันนั้นอาจจับคู่สืบพันธุ์แบบกอนจู กันนั้นไ้หรือไม่

ความสำคัญในการศึกษาค้นคว้า

๑. ทำให้ทราบวิธีการและเทคนิคในการเลี้ยงฟาร์มเข้ยมกอกเคอุมไ้บริสุทธิ์
๒. ทำให้ไ้ฟาร์มเข้ยมกอกเคอุมบริสุทธิ์สำหรับเก็บไว้ศึกษาในห้องเรียนหรือห้องปฏิบัติการ
๓. ทำให้ทราบการสืบพันธุ์แบบไ้নারีพิชชนั้ของฟาร์มเข้ยมกอกเคอุม
๔. ทำให้ทราบ generation time ของฟาร์มเข้ยมกอกเคอุมเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้น และแสงสว่างต่างกัน
๕. เปรียบเทียบ generation time ของฟาร์มเข้ยมกอกเคอุมในอาหารที่มีความเข้มข้นและปริมาณของแสงสว่างต่างกัน
๖. ทำให้ทราบสภาพความเข้มข้นของอาหารและปริมาณของแสงสว่างที่เหมาะสมสำหรับการขยายพันธุ์ของฟาร์มเข้ยมกอกเคอุมไ้ไ้จำนวนมาก ๆ สำหรับใช้ศึกษาทางชีววิทยาในห้องเรียนหรือปฏิบัติการ
๗. ทำให้ทราบว่าฟาร์มเข้ยมกอกเคอุมเกิดการผสมพันธุ์แบบออโทแกมีไ้หรือไม่

๔. ทำให้ทราบว่าพารามีเซียมคอคเคตุมชนิดเดียวกัน ซึ่งอาจจะต่าง strains กันนั้น สืบพันธุ์แบบกอนจูเกชันกันใดหรือไม่
๕. เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาคนละตัวต่อไป

คำนิยามศัพท์เฉพาะในการศึกษาคนละตัว

๑. พารามีเซียมคอคเคตุม (Paramecium caudatum) หมายถึงสัตว์เซลล์เดียว (unicellular animal) ที่จัดอยู่ใน Class Ciliata, Subclass Euciliatia, Order Holotrichida เป็นสัตว์ชั้นต่ำมีชีวิตอิสระในน้ำ
๒. พารามีเซียมคอคเคตุมบริสุทธิ์ (pure culture of P. caudatum) หมายถึงการเลี้ยงพารามีเซียมคอคเคตุมให้บริสุทธิ์ ในอาหารที่มีแบคทีเรีย (bacteria) สำหรับการเจริญเติบโต
๓. การสืบพันธุ์ (reproduction) หมายถึงการส่งผ่านไว้ซึ่งพันธุ์สัตว์ชนิดหนึ่ง จากชั่ว (generation) หนึ่งไปสู่ชั่วหนึ่ง
๔. ไบนารีฟิชชัน (binary fission) หมายถึงการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการแบ่งตัวตามขวางออกเป็นสองส่วนเท่ากันโดยประมาณ
๕. เวลาเพิ่มทวีคูณ (generation time) หมายถึงเวลาที่เซลล์แบ่งตัวเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่าของจำนวนเดิม
๖. ออโตแกมี (autogamy) หมายถึงการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ แต่เป็นการผสมภายในตัวเอง (self fertilization)
๗. กอนจูเกชัน (conjugation) หมายถึงการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ โดยการจับคู่กันชั่วคราว (temporary conjugation) เพื่อแลกเปลี่ยนนิวเคลียส (nucleus) ซึ่งกันและกัน

ขอบเขตของการศึกษากนกัว

๑. การศึกษากนกัวนี้ มุ่งเพื่อพิสูจน์สมมุติฐานดังกล่าวข้างต้นนี้เท่านั้น
๒. การศึกษากนกัวครั้งนี้จะเฉพาะกับพารามี เซียมกอกเคตุมที่ได้มาจากการแยกชนิดเดียวเท่านั้น
๓. พารามีเซียมที่ใช้ในการศึกษา เป็นพารามีเซียมกอกเคตุมที่ได้มาจากน้ำจืดในประเทศไทยนี้เท่านั้น
๔. การสืบพันธุ์ ศึกษาทั้งการสืบพันธุ์แบบไบนารีฟิชชัน ออโทแกมมี และแบบกอนจูเกชัน ส่วนการสืบพันธุ์แบบหลัง จะศึกษาเฉพาะกับพารามีเซียมกอกเคตุมที่หามาได้จากถิ่นที่อยู่ต่าง ๆ และจะศึกษาแต่เพียงว่า เมื่อนำเอาพารามีเซียมชนิดเดียวกัน ต่างสถานที่กัน ซึ่งอาจจะต่าง strains กัน นำมารวมกัน จะเกิดกอนจูเกชันกันหรือไม่เท่านั้น
๕. การหา generation time จะทำกับพารามีเซียมกอกเคตุม ๒ - ๔ generations เท่านั้น.

เวกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษากันกว่า

พารามีเซียมกอดเคอซเป็นสัตว์เซลล์เดียว มีรูปร่างลักษณะคล้ายรวงเท้าตะ ส่วนหน้า (anterior) ทุ และกอยเรียวเล็กลงทางคานท้าย (posterior) มีความยาวประมาณ ๔๐ - ๓๐๐ ไมครอน (micron) ความกว้างประมาณ ๑ ใน ๓ ของความยาว ร่างกายมีผนังบาง ๆ (pellicle) ที่ยึดหยุ่นได้ หุ้มผนังนี้มีซี่เลียบขึ้นปกคลุมตลอด ทำหน้าที่เกี่ยวกับการโยกพัดน้ำในการเคลื่อนที่ ถัดจากผนังเข้าไปเป็นชั้น ectoplasm มี trichocyst รูปร่างคล้ายกระสวย เกิดขึ้นสลับกับซี่เลียบ trichocyst มีไว้เพื่อจับอาหารและใช้ในการป้องกันตัว ทางคานข้างมีร่องปาก (oral groove) เป็นบริเวณมุมเข้าไปในตัว ทั้งต้นจากส่วนหน้าไปจนกระทั่งถึง cytostome ซึ่งจะเปิดลงสู่ cytopharynx และ endoplasm ที่อยู่ลึกถัดจาก ectoplasm บริเวณ endoplasm เป็นที่อยู่ของ organelles ต่าง ๆ เช่น ฟูดแวคิวโอล (food vacuole) เป็นแหล่งย่อยอาหาร กอนแทรกไทด์แวคิวโอล (contractile vacuole) ควบคุมการปรับระดับน้ำภายในร่างกาย โดยมีกอนแทรกไทด์แวคิวโอลที่อยู่ทางคานหน้าและคานท้ายทำงานสลับกัน ถ้าย้อมสีด้วย acidulated methyl green จะมองเห็นแมกโครนิวเคลียส (macronucleus) ขนาดใหญ่ ๑ อัน อยู่ตรงกลาง นิวเคลียสอันนี้ทำหน้าที่เกี่ยวกับการควบคุมการเป็นอยู่ต่าง ๆ ของร่างกาย (vegetative phase) และมีไมโครนิวเคลียส (micronucleus) ขนาดเล็กอีก ๑ อัน อยู่ข้าง ๆ นิวเคลียสอันนี้ทำหน้าที่เกี่ยวกับการสืบพันธุ์ (reproductive phase)

การดำรงชีวิตของพารามีเซียมอาศัยขบวนการโภชนาการแบบ holozoic อาหารของพารามีเซียมได้แก่ แบคทีเรีย สาหร่าย โปรโตซัวขนาดเล็ก อาหารจะถูกพัดพาเข้าไปในร่องปาก โดยการโยกพัดของซี่เลียบในร่องปากที่เรียกว่า undulating membrane ในที่สุด

อาหารจะเคลื่อนที่เข้าไปถึง cytopharynx และหลุกเข้าไปใน endoplasm กลายเป็น
เป็นพุกแวกกิวโอด พุกแวกกิวโอดเหล่านี้จะลดยวนเวียนอยู่ใน endoplasm ขณะเดียวกัน
ก็จะถูกย่อยไปควย น่าย่อยที่ใช้ในการย่อยอาหารขับออกมาจาก endoplasm อาหารที่ถูก
ย่อยแล้วถูกดูดซึมผ่านเยื่อหุ้มของพุกแวกกิวโอดเข้าไปใน cytoplasm อาหารที่ย่อยไม่หมด
หรือย่อยต่อไปไม่ได้ จะถูกขับออกจาก cytophyge ที่อยู่ทางก้นข้างถัดจาก cytopharynx
ขบวนการหายใจ พารามีเซียมไคริบอกรีเจนโดยขบวนการซึมแพร่ผ่านผนังบาง ๆ เข้าไป
ส่วนการขับออกไขจะซึมแพร่ผ่านผนังบาง ๆ ออกสู่ภายนอกร่างกาย ขบวนการขับถ่าย
เนื่องจากของเสียที่เกิดจากขบวนการ เมตาบอลิซึม (metabolism) ละลายในน้ำได้
สารเหล่านี้จึงปนอยู่ในน้ำและถูกกำจัดออกทางกอนแทรกไทล์แวกกิวโอด

นักอนุกรมวิธานวิทยา^๑ ได้จัดพารามีเซียมอยู่ใน Subphylum Ciliophora, Class
Ciliata, Subclass Euciliatia, Order Holotrichida, Suborder Trichosto-
mina, Family Parameciidae โดยอาศัยความแตกต่างของลักษณะโครงสร้างภายใน เช่น
ไมโทริเวเกลียส กอนแทรกไทล์แวกกิวโอด เหล่านี้ ทำให้สามารถแยกพารามีเซียมออกเป็น
เป็นหลายชนิด นอกเหนือจากพารามีเซียมกอลเคตุม เชน "P. aurelia"^๒ ยาวประมาณ
๑๒๐ - ๔๐ ไมครอน มี vesicular micronuclei ๒ อัน แวกกิวโอดเกลียส
ขนาดใหญ่ ๑ อัน กอนแทรกไทล์แวกกิวโอด ๒ อัน ทางก้นท้ายของลำตัวกลมมากกว่าพารา-
มีเซียมกอลเคตุม อาศัยอยู่ในน้ำจืด P. multimicronucleatum เป็นพารามีเซียมชนิดที่มี
ขนาดใหญ่ที่สุด มีกอนแทรกไทล์แวกกิวโอด ๓ - ๘ อัน vesicular micronuclei ๔ อัน
หรือมากกว่า แวกกิวโอดเกลียส ๑ อัน อาศัยอยู่ในน้ำจืด P. bursaria รูปร่างเป็น
รูปเท้า (foot-shaped) ขนาดประมาณ ๑๐๐ - ๔๐ ไมครอน จนถึง ๔๐ - ๖๐ ไมครอน
มีสาหร่ายสีเขียว Zoochlorella อาศัยอยู่ในแบบพึ่งพาอาศัยกัน มีไมโทริเวเกลียส

^๑ Theodore Jahn, and Frances Floed Jahn, How to Know the Protozoa,
p. 186.

^๒ Richard R. Kudo, op.cit. pp. 903-950.

และแมงกิ้งกริณี เกิดขึ้นอย่างละอัน กอนแทรกไทล์แวกกิริโดล ๒ อัน อากัยอยู่ในน้ำจืด
P. putrinum เฝือกกับ P. calkinsi รูปร่างเป็นรูปเท้า ทางคาเทาขางกลม
 มีขนาดความยาวประมาณ ๑๐๐ - ๑๔๐ ไมครอน จนกระทั่งถึง ๕๐ ไมครอน มี vesicular
 micronuclei ๑ อัน กอนแทรกไทล์แวกกิริโดล ๒ อัน อากัยอยู่ในน้ำจืด น้ำกรวย และ
 น้ำเค็ม P. trichium รูปร่างกลมมนทางคาหนาและคาเทา ยาวประมาณ ๕๐ - ๑๐๕
 ไมครอน (๕๐ - ๕๐ ไมครอน) มี compact micronucleus และกอนแทรกไทล์แวก
 กิริโดล ๒ อัน อยู่ลึกลงไป อากัยอยู่ในน้ำจืด P. polycaryum รูปร่างเหมือนกับ
P. bursaria ยาว ๗๐ - ๑๑๐ ไมครอน มีกอนแทรกไทล์แวกกิริโดล ๒ อัน vesicular
 micronuclei ๓ - ๔ อัน อากัยอยู่ในน้ำจืด P. woodruffi เหมือนกับ P. poly-
caryum ยาว ๑๔๐ - ๒๐๐ ไมครอน มีกอนแทรกไทล์แวกกิริโดล ๒ อัน vesicular
 micronuclei ๓ - ๔ อัน อากัยอยู่ในน้ำกรวย P. jenningsi มีรูปร่างลักษณะ
 โครงสร้างเหมือนกับ P. aurelia มีไมโครทริเกียส ๒ อัน ขนาดใหญ่กว่าของ
P. aurelia แมงกิ้งกริณี เกิดขึ้นสวประกอบทวยโครมาตินอยู่ตรงกลาง

ตามปรกติฟารามีชีวิตอาศัยอยู่ในน้ำ ปะปนอยู่กับจุลชีวันชนิดต่าง ๆ อวแมงพารา
 มีเขี้ยวออกมากำโงโดยใจปีเปกต์ด้วยแหลมทวยแยกออกมาภายในคลองจุลทรรศน์ แล้วถายลง
 ลงในน้ำกลั่นหลาย ๆ ครั้ง ปีเปกต์ที่ใช้ในการถายแต่ละครั้งจะต้องผ่านการฆ่าเชื้อมาแล้ว
 เป็นอย่างคี่ ทวยวิธีการดังกลาวนี้ ก็จะทำให้ฟารามีชีวิตมีวิสุทธิ ฟารามีชีวิตมีวิสุทธิ
 แยกออกมา ก็พร้อมที่จะนำไปเลี้ยงให้เจริญเติบโต และขยายพันธุ์ในอาหารร่อกต่าง ๆ ตาม
 ที่ต้องการ มีผู้ทดลองให้อาหารหลายชนิดเลี้ยงฟารามีชีวิต เช่น "ข้าวสาลีประมาณ ๕๐ - ๖๐
 กรัม กับน้ำประปา ๑ ลิตร ทวยไม่ให้เค็ดค ฟางขาว ๑๐ กรัม กับน้ำ ๑ ลิตร ทวยไม่ให้เค็ดค
 ประมาณ ๑๐ - ๑๕ นาที แล้วทำให้เจือจางลง ๑๐ เท่า แล้วยาวมอดท์ ๐.๕ กรัม

๑ J. Brontë Gatenby, and H.W. Beans, The Microtonist's
vade-mecum, p. 608.

๒
Ibid. p. 613.

กัมมันต์ ๑ ลิตรต้มไม่ให้เดือด สารละลายยีสต์สกัด ๐.๕ กรัม กัมมันต์ ๑ ลิตร ปล่อยให้เดือด เป็นเวลา ๑ นาที ผลิตภัณฑ์อาหารใช้สำหรับเลี้ยงทารก ๐.๕ กรัมกับน้ำ ๑ ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อ โดยใช้เวลา ๑๕ - ๒๐ นาทีโดยการวางนึ่ง เป็นเวลา ๑๕ นาที ผู้ทดลองบางคนที่ใช้น้ำต้มในแก้วใส ปริมาณหนึ่งกัมมันต์กับน้ำ ๑ ลิตร ทำให้เกิดเป็นเวลาประมาณ ๑๐ - ๑๕ นาที ส่วนเวลาส่วนที่เหลือเป็นผลทิ้งไป ทั้งทั้งไว้ให้เย็นเป็นเวลาหนึ่งคืนก่อนนำเอาพารามีเซียมมาเลี้ยง พารามีเซียมจะเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมาก ภายในเวลาหนึ่งสัปดาห์ การศึกษาเกี่ยวกับการเลี้ยง พารามีเซียมในอาหารชนิดต่าง ๆ ใ้มีผู้ศึกษาหลายท่าน เช่น

Anderson^๒ ได้ศึกษาการเลี้ยงพารามีเซียมในพาบล์ม (Pablum) ซึ่งเป็นอาหารสำหรับใช้เลี้ยงทารก ผลิตภัณฑ์ของบริษัทที่มีคจอนด์สัน แพงประเทศออสเตรเลีย โดยใช้เวลา ๐.๒ กรัมกับน้ำประปา ๔๐๐ ซีซี บรรจุในภาชนะขนาด ๒ แกลลอน ปิดด้วยแผ่นพลาสติก นำไปนึ่งในอโตคลาฟ (autoclave) โดยใช้เวลา ๔ - ๒๐ นาทีโดยการวางนึ่ง เป็นเวลา ๓๐ นาที ทั้งทั้งไว้ให้เย็น แล้วนำเอาพารามีเซียมมาเลี้ยงในขวดกลิ้งนี้ จากการทดลองเขาได้พบว่า พารามีเซียมจะเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างหนาแน่นภายในเวลาหนึ่งสัปดาห์ ในตอนท้ายยังได้เสนอว่า "พารามีเซียมที่เลี้ยงด้วยวิธีนี้ เหมาะสำหรับเลี้ยงไว้ใช้สอนนักเรียนเป็นจำนวนมาก ๆ ใ้โดยง่ายมีประสิทธิภาพ"

Conolly, Reisner และ Sobey^๓ ได้ทดลองเลี้ยงพารามีเซียมในกากยีสต์ ที่ได้จากบริษัทของโรงงานอุตสาหกรรม โดยผสมกับเชื้อ Aerobacter aerogenes

^๑ Michael F. Guyer, and Elizabeth A. (Smith) Bean, Animal microbiology, pp. 286-287.

^๒ Bertil Gottfrid Anderson, "A new culture medium for Paramoecium," Science 90:448, November, 1939.

^๓ Dorothy Conolly, A.H. Reisner, and W.R. Sobey, "A growth medium for mass culture of Paramoecium," The Australian Journal of Science 24:144-145, September, 1961.

ลงไปควย อาหารที่ใส่เลี้ยงทำให้ความเข้มข้นเป็น ๐.๒๕, ๐.๕๐, ๐.๖๒๕, ๐.๗๕, ๑.๐๐ และ ๑.๕ กรัมต่อลิตรตามลำดับ จากการเลี้ยงพารามีเซียมในอาหารที่มีความเข้มข้นเหล่านี้ เขาได้พบว่า อาหารที่มีความเข้มข้น ๐.๖๒๕ กรัมต่อลิตร เป็นอาหารที่มีความเข้มข้นเหมาะสมที่สุด เมื่อเลี้ยงพารามีเซียมในอาหารที่มีความเข้มข้น ๐.๖๒๕ กรัมต่อลิตร ในภาชนะที่บรรจุอาหาร ๓.๕ ลิตร ต่อพื้นที่ผิวหนึ่งตารางเซนติเมตร ที่อุณหภูมิ ๓๐ องศาเซนติเกรด โดยเริ่มตนเลี้ยงพารามีเซียม ๕๐ ตัวต่อชิ้น ผลปรากฏว่าพารามีเซียมเพิ่มจำนวนได้สูงสุดถึง ๕๕๐๐๐ ตัวต่อชิ้น นอกจากความเข้มข้นของอาหารแล้ว อัตราส่วนปริมาตรต่อพื้นที่ผิวยังมีผลต่อการเพิ่มจำนวนของพารามีเซียมที่เพาะเลี้ยงอีกด้วย

Hargitt และ Fray ได้ทดลองเพาะเลี้ยงพารามีเซียมโดยใช้นักเตรีเป็นอาหาร เริ่มแรกเขาทั้งสองได้ศึกษาวิเคราะห์เกี่ยวกับนักเตรีชนิดต่าง ๆ ที่มีอยู่ในน้ำคัมฟาง ผลการศึกษาวิเคราะห์พบว่านักเตรีชนิดต่าง ๆ มากกว่า ๓๐ ชนิด เจริญอยู่ในน้ำคัมฟางทั้งในน้ำคัมฟางที่มีสภาพปรกติและน้ำคัมฟางที่หมักเน่า ต่อมาได้แยกนักเตรีไฮริสทุธินำมาเลี้ยงในอาหารวุ้น แล้วนำเฉยนักเตรีไฮริสทุธินี้ไปเพาะเลี้ยงในน้ำคัมฟาง นำพารามีเซียมไฮริสทุธินี้ (พารามีเซียมที่ไฮริสทุธินี้โดยการล้างควยน้ำประปาที่ฆ่าเชื้อมาแล้ว ๕ ครั้ง บนสไลด์หลุมซึ่งวางอยู่ในจานแก้ว) มาเลี้ยงในน้ำคัมฟาง ที่มีนักเตรีชนิดใดชนิดหนึ่ง และในนักเตรีหลายชนิดรวมกัน ผลปรากฏว่า พารามีเซียมเจริญเติบโตในอาหารที่มีนักเตรีหลายชนิดรวมกันได้ดีกว่าในอาหารที่มีนักเตรีเพียงชนิดใดชนิดหนึ่ง ยกเว้น Bacillus subtilis นอกจากนี้เขายังได้พบต่อไปอีกว่า นักเตรีที่ได้อาจมาจากน้ำคัมฟางที่หมักเน่า เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงพารามีเซียม จะทำให้พารามีเซียมตายภายในเวลา ๒ - ๓ วัน น้ำคัมฟางที่ทิ้งฆ่าเชื้อโดยไม่ใช้ความถี่ เหมาะสำหรับการใช้เลี้ยงพารามีเซียมมากกว่าน้ำคัมฟางที่ทิ้งฆ่าเชื้อโดยใช้ความถี่สูง ๆ เขาเสนอแนะว่า การเลี้ยงพารามีเซียมในนักเตรีชนิดใดชนิดหนึ่งนั้น ควรจะมีความระมัดระวังเกี่ยวกับการใช้เครื่องมือเป็นอย่างดี เครื่องมือทุกชิ้นต้องผ่านการฆ่าเชื้อเป็นอย่างดี

๑

Goo T. Hargitt, and Walter W. Fray, "The growth of Paramecium in pure culture of bacteria," The Journal of Experimental Zoology 22:421-454, February, 1917.

อาหารที่ใส่ของผ่านการทดสอบให้เกิดความแน่ใจเสียก่อนว่าบริสุทธิ์จริง การเลี้ยงพารามีเซียมบนสไลด์คลุมที่มีปริมาณของอาหาร เพียงเล็กน้อย กว่าจะเก็บไว้ในภาชนะที่มีความชื้นเพื่อป้องกันการระเหยของน้ำ

Phillips ได้ศึกษาการเจริญเติบโตของพารามีเซียมในน้ำคั้นฝรั่ง น้ำคั้นพริก น้ำคั้นนมมันนี่เวิร์ทที่หนึ่ง ๕๕ ซึ่งโดยไม่ใช้ความดันเป็นเวลา ๓ วันต่อเนื่องกันไป โดยมีแบคทีเรียชนิดใดชนิดหนึ่งเป็นอาหาร น้ำคั้นทั้งสามชนิดมีความเข้มข้น ๐.๑ เปอร์เซ็นต์ วัตถุ pH ได้ ๘.๒, ๘.๒ และ ๘.๔ ตามลำดับ P. aurelia ที่นำมาเลี้ยงทำให้บริสุทธิ์โดยล้างในน้ำคั้นฝรั่งที่มีความเข้มข้น ๐.๑ เปอร์เซ็นต์ ๗ ครั้ง จากนั้นก็ถ่ายเอาพารามีเซียมบริสุทธิ์ไปเลี้ยงในแบคทีเรียชนิดใดชนิดหนึ่ง และในแบคทีเรียหลายชนิดรวมกันที่อยู่ในน้ำคั้นฝรั่งในกระจกฉีก (watch crystal) วางอยู่ในจานแก้วที่มีความชื้น ผลการศึกษาดูตรวจสอบอย่างใกล้ชิดพบว่า พารามีเซียมสามารถเจริญเติบโตอยู่ในแบคทีเรียบริสุทธิ์ได้ แต่พารามีเซียมที่เลี้ยงในแบคทีเรียหลายชนิดรวมกันแย่งตัวได้ดีกว่าที่เลี้ยงด้วยแบคทีเรียเพียงชนิดใดชนิดหนึ่ง นอกจากนี้เขายังได้ศึกษาถึงสภาพของสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการเจริญเติบโต การแบ่งตัว และการตายของพารามีเซียม ซึ่งพบว่าเมื่อย้ายพารามีเซียมจากน้ำคั้นฝรั่งที่มีแบคทีเรียชนิดที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโต ไปยังน้ำคั้นฝรั่งที่มีแบคทีเรียชนิดที่ไม่เหมาะสำหรับการเจริญเติบโต ทำให้อัตราการแบ่งตัว และการตายจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ถ้าเลี้ยงพารามีเซียมในน้ำคั้นพริกแทน น้ำคั้นฝรั่งที่เพาะแบคทีเรียแทน ก็ยังปรากฏว่า อัตราการแบ่งตัวไม่แตกต่างไปจากที่เลี้ยงในน้ำคั้นฝรั่ง แต่อัตราการตายกลับเพิ่มขึ้น ถ้าเปลี่ยนเป็นน้ำคั้นนมมันนี่เวิร์ท อัตราการแบ่งตัวยังงดต่ำกว่าที่เลี้ยงในน้ำคั้นฝรั่ง แต่ร่นเอาน้ำคั้นฝรั่งรวมกับน้ำคั้นนมมันนี่เวิร์ท และเปลี่ยนแบคทีเรียที่เลี้ยงไปเป็นแบคทีเรียชนิดอื่น ปรากฏว่า น้ำคั้นชนิดนี้ทำให้พารามีเซียมเกิดกระปรี้กระเปร่า (active) ขึ้น แต่ไม่ทำให้อัตราการแบ่งตัวเพิ่มขึ้น เมื่อเขาได้เปลี่ยนการทดลองจากการใช้น้ำคั้นฝรั่งที่หนึ่ง ๕๕ โดยไม่ใช้ความดันมาเป็นน้ำคั้นฝรั่งที่หนึ่ง ๕๕ โดยใช้

ความค้น ปรากฏว่าพารามีเซียมมีชีวิตอยู่ในน้ำต้มฟางไค ๒.๑๕ วัน น้ำต้มฟาง ๒.๔๔ วัน และน้ำต้มฟางนี้ไว้ที่ ๑.๓๕ วัน คอยเหตุนี้เราจึงสรุปว่า น้ำต้มฟางที่ซึ่งสาเชื้อโคมใช้ความค้นสูง ๆ ไม่เหมาะสำหรับเชื้อเลี้ยง *P. aurelia* ส่วนอาหารที่เหมาะสมคือ อาหารที่ซึ่งสาเชื้อโคมไม่ใช้ความค้น และเพาะบักเตรีหลาย ๆ ชนิดรวมกัน อาหารชนิดนี้ทำให้พารามีเซียมมีอัตราการแบ่งตัวไคสูง ก่อนวางสม่ำเสมอ มีชีวิตอยู่ในอาหารไคเป็นระยะเวลาอันยาวนาน

Johnson และ Barker^๑ ได้ศึกษาการเลี้ยงพารามีเซียมกอดเคตุมบริสุทธิในน้ำที่ไคจากยีสต์ ๕ ซีซี หลังจากนี้ซึ่งเชื้อแล้ว เติมน้ำบริสุทธิลงไปอีก ๐.๔ ซีซี เสร็จแล้วนำเอาพารามีเซียมที่ทำการบริสุทธิแล้วมาเลี้ยงในอาหารดังกล่าว ปรากฏว่า อาหารที่มีความเข้มข้น ๑ ทด ๑๐ เป็นอัตราส่วนความเข้มข้นของอาหารที่คงจะเหมาะสมที่สุด ทั้งนี้เพราะความเข้มข้นของอาหารดังกล่าว ทำให้พารามีเซียมมีอัตราการแบ่งตัวไคสูงที่สุดถึง ๐.๕ ครั้งต่อวัน แต่อัตราการแบ่งตัวนี้ก็ยังต่ำกว่าอัตราการแบ่งตัว เมื่อเลี้ยงคอยบักเตรีเพียงชนิดใดชนิดหนึ่ง หรือบักเตรีหลายชนิดรวมกัน คอยวิธีนี้ทำให้สามารถเพาะเลี้ยงพารามีเซียมไคอย่างบริสุทธิปราศจากสิ่งที่มีชีวิตชนิดอื่นไคเป็นเวลานานถึง ๑๔ วัน แต่พารามีเซียมจะไม่เจริญเติบโตในน้ำยีสต์ที่ถูกความร้อนสูง ๆ ทั้งนี้เพราะความร้อนอาจทำลายองค์ประกอบที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพารามีเซียม

Phelps และ Fernandez^๒ ได้รับความสำเร็จในการเลี้ยงโปรโตซัวบริสุทธิโดยวิธีการอย่างง่าย ๆ สองขั้น คือ ขั้นแรกเขาได้ใช้ปฏิชีวนสารชนิดต่าง ๆ ที่มีความเข้มข้นต่างกัน รวมกับแบคทีเรียโปรทีโดส เปปโตน (Bacto-proteose peptone) ๐.๕ เปอร์เซ็นต์ ผลปรากฏว่า สเตปโตไมซิน และอัลฟาไทอาโนล ที่มีความเข้มข้นประมาณ ๐.๔ mg/ml

^๑ W.H. Johnson, and E.G.S. Barker, "The sterile culture of *Paramecium multimicronucleatum*," Science 95:333-334, March, 1942.

^๒ Austin Phelps, and Bernal Fernandez, "A Simple method for obtaining protozoa in pure culture," Revista de Biologia Tropical 8:263-268, December, 1960.

และ ๐.๐ mg/ml ใช้โคผลดีที่สุด เพราะสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ประมาณครึ่งหนึ่ง แต่โปรโตซัวยังสามารถเจริญเติบโตได้เป็นปกติ ขณะที่สองเขาคือ migration tube เขาคือภาชนะที่เลี้ยงพารามีเซียมในอาหารที่มีการควบคุม การเจริญของแบคทีเรียดังกล่าว โปรโตซัวชนิดที่ว่ายน้ำได้เร็ว จะว่ายน้ำไปตาม migration tube และเร็วกว่าที่แบคทีเรียจะติดตามเข้าไปได้ทัน ในที่สุดแบคทีเรียจะถูกทิ้งเอาไว้เบื้องหลัง โปรโตซัวจะว่ายน้ำไปตาม migration tube เร็วไป จนกระทั่งเข้าไปถึง flask ที่บรรจุโปรตีนไฮส เปปโตน ๐.๕ เปอร์เซ็นต์ เมื่อตรวจสอบดูภายหลังจากที่ทิ้งทิ้งเอาไว้แล้วหลายวัน จะพบโปรโตซัวที่มีชีวิตเจริญอยู่ในอาหารนั้น โดยปราศจากแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ

Loefer^๑ ได้ศึกษาการเลี้ยงพารามีเซียมบริสุทธิ์ โดยใช้เทคนิคทำให้พารามีเซียมบริสุทธิ์ด้วยการล้างพารามีเซียมในน้ำกลั่นหลาย ๆ ครั้งบนสไลด์หลุม และใช้ปิเปตที่สะอาดแล้ว ทดสอบพารามีเซียมถ่ายไปเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ชนิดต่าง ๆ ผลการทดลองพบว่าอาหารที่มีความเข้มข้นเหมาะสมที่สุดในการเพาะเลี้ยงพารามีเซียมได้แก่ เดกซ์โทส (dextose) ที่มีความเข้มข้น ๐.๕ เปอร์เซ็นต์ ทริปโตน (tryptone) ๐.๕ เปอร์เซ็นต์ ยีสต์สกัด (yeast extract) ๐.๓ เปอร์เซ็นต์ โปรตีนไฮส เปปโตน (proteose peptone) ๐.๓๕ เปอร์เซ็นต์ พารามีเซียมเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนได้สูงสุดภายในเวลา ๑๖ วัน หลังจากนั้นจำนวนพารามีเซียมจะเริ่มลดลง จนกระทั่งตายไปจนหมดสิ้นภายในเวลา ๔๐ วัน

อาหารนั้นว่าเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญมากในการเพาะเลี้ยงพารามีเซียม นอกจากนี้ ยังมีปัจจัยอื่น ๆ อีก เช่น pH อุณหภูมิ แสงสว่าง ฯลฯ พารามีเซียมแต่ละชนิดเจริญเติบโตในอาหารที่มี pH แตกต่างกันไป เช่น "พารามีเซียมคอเคซุส สามารถเจริญเติบโตได้ใน pH ระหว่าง ๕.๓ - ๕.๕ pH ที่เหมาะสมที่สุดประมาณ ๗.๐ *P. aurelia* เจริญเติบโตได้ใน pH ระหว่าง ๕.๗ - ๕.๒ pH ที่เหมาะสมที่สุดคือ pH ระหว่าง

^๑ J.B. Loefer, "Bacteria-free culture of *Paramecium bursaria* and concentration of medium as a factor in growth," The Journal of Experimental Zoology 72:387-407, February, 1936.

๗.๗ - ๗.๘ P. multimicronucleatum เจริญเติบโตได้ใน pH ระหว่าง ๔.๘ - ๘.๓
 pH ที่เหมาะสมที่สุดคือ pH ระหว่าง ๖.๕ - ๗.๐ P. trichium pH ที่เหมาะสมที่สุด
 สำหรับการเจริญเติบโตคือ pH ระหว่าง ๖.๗ - ๗.๐ P. bursaria pH ที่เหมาะสม
 ที่สุดสำหรับการเจริญเติบโต คือ pH ระหว่าง ๗.๑ - ๗.๓^๑ ทำนองเดียวกันพารามีเซียม
 แต่ละชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ต่างกัน ในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับ
 การเจริญเติบโตของพารามีเซียมในสภาวะปกติ^๒ คืออุณหภูมิระหว่าง ๒๔ - ๒๕ องศาเซลเซียส

การสืบพันธุ์ของพารามีเซียมที่รู้จักกันโดยทั่วไป คือการสืบพันธุ์ไม่อาศัยเพศแบบไบนารี-
 ฟิชชัน การสืบพันธุ์แบบนี้เซลล์จะคอดคางตามขวางตรงกลางออกเป็นสองส่วน แต่ละส่วนจะกลาย
 ไปเป็นพารามีเซียมแต่ละตัว ขบวนการนี้กินเวลาประมาณ ๒ ชั่วโมง^๓ แต่ไบนารีเนชั่น^๒ ทั้งนี้
 ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของน้ำ ปริมาณ และคุณภาพของอาหาร และองค์ประกอบอื่น ๆ อีก ตามปกติ
 พารามีเซียมที่แบ่งตัวเสร็จใหม่ ๆ จะเพิ่มขนาดขึ้นอย่างรวดเร็ว และแบ่งตัวอีกทุก ๆ ๒ ชั่วโมง
 เมื่ออุณหภูมิอยู่ระหว่าง ๔ - ๓๗ องศาเซลเซียส แต่ในวันหนึ่ง ๆ การแบ่งตัวอาจจะเกิดขึ้น
 ได้ถึงสองครั้ง ถ้าอุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น ๓๗ - ๔๐ องศาเซลเซียส หรือถ้าหากอาหารอุดม-
 สมบูรณ์อยู่ตลอดเวลา และสภาพของสิ่งแวดล้อมเหมาะสมด้วย ในปีหนึ่ง ๆ พารามีเซียม
 สามารถแบ่งตัวต่อเนื่องกันไปได้มากกว่า ๒๐๐ ชั่วโมง^๓ และสามารถแบ่งตัวแบบนี้ต่อเนื่องกันไป
 ได้ถึง ๕๕๐๐๐ ชั่วโมงภายในเวลา ๕ ปี ด้วยวิธีถ่ายเอาลูกที่เกิดมาไปยังอาหารที่เตรียมขึ้นใหม่
 แต่การเลี้ยงพารามีเซียมในห้องปฏิบัติการเป็นจำนวนมาก ๆ โดยไม่เปลี่ยนอาหาร อัตราการ
 แบ่งตัวจะลดลงที่ละน้อย

^๑ Robert W. Hegner, and Joseph G. Engemann, Invertebrate Zoology,
 p. 87.

^๒ Ibid. p. 81.

^๓ Tracy I. Storer, and Robert L. Usinger, General Zoology,
 p. 265.

Giese^๑ ได้ศึกษาเกี่ยวกับเรื่องแสงที่มีผลต่ออัตราการแบ่งตัวของพารามีเซียม
 กอเคตุม ที่อยู่ในสารละลายอีโธซิน (eosin) ผลจากการศึกษาพบว่า อัตราการแบ่งตัว
 เฉลี่ยไม่แตกต่างกันแต่อย่างใด และยังพบต่อไปอีกว่า ถ้าพารามีเซียมได้รับความเข้มแสงการ
 ส่องสว่างต่อเนื่องกันไปเป็นเวลา ๑๒ ชั่วโมง ในสารละลายอีโธซิน ที่มีความเข้มข้นสูงกว่า
 ๑๐๐๐๐๐๐ แลพารามีเซียมจะตาย

สุรวดี วิสุทธิแพทย์^๒ ได้ศึกษาการขยายพันธุ์ของพารามีเซียมแบบไบนารีฟิชชัน
 เขานำเอาพารามีเซียมมาจากสระน้ำในบริเวณมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์มาเลี้ยงในน้ำคั้นพวง
 ใยเค็มเมล็ดข้าวสารและยีสต์ลงไปด้วย อาหารที่เตรียมขึ้นวัด pH ได้ ๔.๘ ภาชนะที่ใช้
 เลี้ยงพารามีเซียมคือ กระเจียนาฬิกาที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ๔ เซนติเมตร

การทดลองเกี่ยวกับปริมาณของอาหาร เขาได้พบว่า เมื่อให้อาหารเต็มที่ พารามีเซียม
 มีการแบ่งตัวได้เร็วเฉลี่ยแล้ว ๔.๕๕ ชั่วโมงต่อครั้ง แต่ถาให้อาหารเจือจางโดยเติมน้ำใน
 อัตราส่วนอาหาร ๑ ส่วน ต่อน้ำ ๓ ส่วน พบว่า พารามีเซียมแบ่งตัวช้ากว่าที่ให้อาหารเต็มที่
 ก็เฉลี่ยแล้วแบ่งตัวโดยใช้เวลา ๑๐.๖๕ ชั่วโมงต่อครั้ง เมื่อไม่ให้อาหารเลยการแบ่งตัวยัง
 ช้าลง บางครั้งก็ไม่ไ้แบ่งตัวเลย และบางครั้งก็ตาย

การทดลองเกี่ยวกับอุณหภูมิเขาพบว่า เมื่อเลี้ยงในที่ที่มีอุณหภูมิ ๑๔ - ๒๐ องศาเซนติเกรด
 การแบ่งตัวเท่า ๆ กัน เมื่อเลี้ยงในอุณหภูมิของห้องธรรมดา ทั้งนี้เพราะอุณหภูมิค่าที่สุดของห้อง
 ทดลองมักสูงไม่เกิน ๑๕ - ๒๐ องศาเซนติเกรด ซึ่งนับว่าเป็นอุณหภูมิที่ยังคงสูงอยู่ การทดลอง
 เลี้ยงในที่ที่พบว่า เวลาที่ใช้ในการแบ่งตัวแสดงไปในทางที่ช้าลง และหาความแตกต่างที่ไ้ค่อนข้างมาก

^๑ Arthur C. Giese, Research in Protozoology, p. 276.

^๒ สุรวดี วิสุทธิแพทย์ "การขยายพันธุ์ของพารามีเซียมแบบ binary fission"
วิทยานิพนธ์ หน้า ๑ - ๒๐.

Woodruff และ Baitsell^๑ ได้ศึกษาการสืบพันธุ์ของพารามีเซียมในน้ำเนื่อสกัดที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กับ พารามีเซียมที่ใช้ศึกษาได้มาจากที่เลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการ เป็นเวลามากกว่า ๔ ปีมาแล้ว และแบ่งตัวไคถึงครั้งที่ ๒๓๓๐ ผลการทดลองพบว่า อาหารที่เหมาะสมที่สุดสำหรับใช้เลี้ยงพารามีเซียมได้แก่ น้ำเนื่อสกัดที่มีความเข้มข้น ๐.๐๒๕ เปอร์เซ็นต์ การทดลองเปรียบเทียบการแบ่งตัวของพารามีเซียม เมื่อเลี้ยงโดยการเปลี่ยนแปลงอาหารชนิดต่าง ๆ เช่น น้ำคั้นพริก น้ำต้มพริก และน้ำคั้นพืชชนิดอื่น ๆ กับพารามีเซียมที่เลี้ยงไว้ในเนื่อสกัดตลอดการทดลอง โดยการนับพารามีเซียมที่เกิดขึ้นใหม่ทุก ๆ ๒๔ ชั่วโมง แล้วคำนวณหาอัตราการแบ่งตัวใหม่ทั้งวัน และหาอัตราเฉลี่ยอีกทุก ๕ - ๑๐ วัน ผลการคำนวณพบว่า ในระยะ ๓ เดือนแรก พารามีเซียมที่เลี้ยงด้วยวิธีการเปลี่ยนอาหารแบ่งตัวไคสูงสุด ๙๖ ชั่วโมง พวกที่เลี้ยงในน้ำเนื่อสกัดตลอด แบ่งตัวไคสูงสุด ๑๔ ชั่วโมง การทดลองที่ใหม่ต่างกันนี้อาจจะเกิดขึ้นเพราะพวกหลังอยู่ในอุณหภูมิที่สูงกว่า ในระยะ ๔ เดือนต่อมาเขาจึงทำการทดลองซ้ำ โดยการควบคุมอุณหภูมิ ผลปรากฏว่าพวกที่เลี้ยงด้วยวิธีการเปลี่ยนอาหารแบ่งตัวไคสูงสุด ๙๗ ชั่วโมง ส่วนพวกที่เลี้ยงในน้ำเนื่อสกัดแบ่งตัวไคสูงสุด ๑๖๗ ชั่วโมง ดังนั้นเขาจึงสรุปว่า การเลี้ยงพารามีเซียมทั้งสองวิธีใหม่ เช่นเดียวกัน ทั่ววิธีนั้นพารามีเซียมอาจจะเลี้ยงต่อไปได้อีกโดยไม่จำกัดเวลา และอาหารชนิดนี้เหมาะสมสำหรับใช้เลี้ยงพารามีเซียม เพื่อให้ขยายพันธุ์แบบไบนารีฟิชชันต่อเนื่องกันไป ตลอดจนเหมาะสมสำหรับใช้ศึกษาสรีระศาสตร์ต่าง ๆ ของพารามีเซียมอีกด้วย

การสืบพันธุ์อาศัยเพศแบบกอนจูเกชัน เป็นที่ทราบกันมานานแล้ว Sonneborn^๒ รายงานว่า เมื่อนำพารามีเซียมจากถิ่นที่อยู่ต่าง ๆ กันมาเลี้ยงปนในภาชนะเดียวกัน ทำให้เกิดการจับคู่กันระหว่างพารามีเซียมในกลุ่มนั้น สภาพการณ์ที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งที่ทำให้เกิดกอนจูเกชัน

^๑ L.L. Woodruff, and G.L. Baitsell, "The reproduction of Paramecium in a 'constant' culture medium of beef extract," The Journal of Experimental Zoology 99:135-142, July, 1911 c.

^๒ T.M. Sonneborn, "Breeding system, reproductive method, and species problems in protozoa," in The species problem, pp. 157-160.

คือ เมื่ออาหารที่ไร้อย่างพารามีเซียมนั้นเริ่มลดลง ผลการทดลองของเขากับคนอื่น ๆ สรุปไว้ว่า กอนจูเก็นอาจจะเกิดขึ้นได้กับพารามีเซียม strain ใด ๆ กัน แต่ต่าง strain กัน แต่กอนจูเก็นจะเกิดขึ้นเสมอกับพารามีเซียมแต่ละตัวที่เป็น complementary mating type ซึ่งกันและกัน

การสืบพันธุ์แบบออโตแกมมี เป็นการสืบพันธุ์อาศัยเพศ เช่น เกี่ยวกับการสืบพันธุ์แบบกอนจูเก็น แต่เป็นการสืบพันธุ์ที่เกิดขึ้นจากการรวมของนิวเคลียสภายในตัวเอง ออโตแกมมีเป็นการสืบพันธุ์พบใน P. aurelia เกือบทุก variety แต่จากการศึกษาเอกสารโดยละเอียด ผู้ทำการศึกษามิพบรายงานเกี่ยวกับออโตแกมมีใน P. caudatum

บทที่ ๓

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

พารามิเขียนที่ได้นำมาและการเก็บตัวอย่างพารามิเขียน

พารามิเขียนที่ได้นำมาใช้ในการศึกษา ได้มาจากการเก็บน้ำจากบ่อ สระ และแอ่งน้ำ
จำนวน ๖๐ แห่ง ของจังหวัดพระนครและจังหวัดสมุทรปราการ ตั้งแต่ ๕ เมษายน - ๓๐
กรกฎาคม ๒๕๑๓ เมื่อนำเอาน้ำเหล่านี้มาเพาะเลี้ยงในน้ำต้มฆ่า จากการตรวจสอบพบว่า
น้ำตัวอย่างนี้มีพารามิเขียนก่อเคตุมเพียง ๑๒ แห่งด้วยกันดังนี้

พารามิเขียนก่อเคตุม No.	แหล่งที่อยู่ที่ได้มา	
๑	สระน้ำขอยบุญศรี ห้วยขวาง	อ. บางกะปิ
๒	สระน้ำข้างทางรถไฟมักกะสัน	อ. พญาไท
๓	คลองน้ำขอยสุขสันต์	อ. บางเขน
๔	สระน้ำข้างถนนทางเข้า วท.พระนคร	อ. บางเขน
๕	คลองข้างสนามม้าบางลำโพง	อ. ดุสิต
๖	คลองประปา	อ. สามเสน
๗	สระน้ำ ม.วท.ประสานมิตร	อ. พระโขนง
๘	สระน้ำนากรมพัฒนาที่ดิน	อ. บางเขน
๙	สระน้ำนาสกลาวิชัยแห่งชาติ	อ. บางเขน
๑๐	คลองขอยเจริญพานิช ดาดพร้าว	อ. บางเขน
๑๑	คลองแสนแสบ	อ. พระโขนง
๑๒	สระน้ำนากรมอุทนาการเรือ	สมุทรปราการ

นำตัวอย่างดังกล่าวมาจากการข้างบ่อ สระ คู คลอง และแอ่งน้ำต่างๆที่มี จดบันทึกชชะวา
แทน วา ใสลงในถุงพลาสติก โดยวางรัดปากถุงให้แน่น เขียนชื่อสถานที่ที่เก็บไว้ที่ข้างถุงพลาสติก



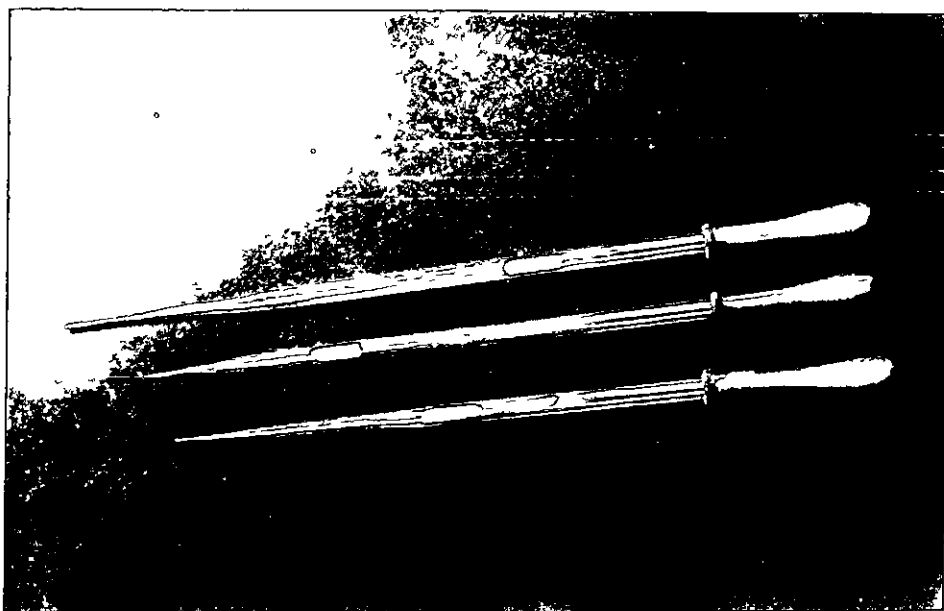
รูปที่ ๑ พารามิเตอร์เฉพาะเสียงควมฟางในบีกเกอร์ ๒๕๐ มล

ไมโครนิว เกือบเสมอกันจะอยู่ในกองที่ เรน อาจจะถูกยักไปทางก้นหน้า บางตัวพบอยู่กองใบ
ทางก้นท้ายก้น โดยที่ส้อมชนิดนี้จะยอมไม่ติดไมโครนิว เกือบสองพารามีเย็บชนิดอื่น
นอกจากนี้แล้วยังมีรูปร่าง ลักษณะ ขนาด ประกอบด้วยกัน ด้วยวิธีการดังกล่าวนี้ทำให้
ตรวจพบพารามีเย็บมากเกือบ รวมทั้งสิ้น ๑๒ แพ้ จากน้ำตัวอย่าง ๒๐ แพ้ ที่นำมาใช้ในการ
ศึกษาครั้งนี้

การแยกพารามีเย็บมาก เกือบออกจากพารามีเย็บชนิดอื่น

แยกพารามีเย็บที่ตรวจพบออกจากพารามีเย็บชนิดอื่น โดยดำเนินการ เป็นขั้น ๆ
ดังนี้

๑. บรรจุน้ำกลั่นลงในหลอดแก้ว (test tube) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง
๔ มิลลิเมตร สูง ๔ เซนติเมตร ประมาณครึ่งหลอด จำนวน ๒๕๐ หลอด
๒. ใ้ใบปีเปตต์ปลายแหลมขนาดเล็ก (รูปที่ ๒) ถูคพารามีเย็บจากบีกเกอร์
ถ่ายไปยังน้ำกลั่นในจานแก้วที่วางอยู่บนพื้นกระดาษแข็งสีดำ เพื่อให้เห็นพารามีเย็บได้
ชัดเจนยิ่งขึ้น
๓. ใ้ใบปีเปตต์ถูคพารามีเย็บที่ละตัวถ่ายลงในสไลด์หลุม นำไปตรวจดูด้วย
กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope เพื่อให้แน่นอนว่ามีพารามีเย็บตัว เดียวจริง
๔. ใ้ใบปีเปตต์ใหม่ถูคพารามีเย็บแต่ละตัวซึ่งอยู่ในสไลด์หลุม ถ่ายไปยังน้ำกลั่น
ที่เตรียมไว้ในหลอดแก้วหลอดละตัว จำนวน ๒๐ หลอด ปฏิบัติเช่นเดียวกันกับน้ำตัวอย่างที่พบ
พารามีเย็บมากเกือบทั้ง ๑๒ แพ้ จนกระทั่งครบ ๒๕๐ หลอด เขียนหมายเลขกำกับไว้ที่หลอด
ให้ตรงกับที่ใช้ในไวชานบีกเกอร์
๕. ใ้ loop กอຍ ๆ เชื้อยีสต์แห้งบริสุทธิ์ (pure Tolula yeast)
ใส่ลงในหลอดแก้วทุก ๆ หลอดขนาดประมาณเท่าหัวไม้ขีดไฟ ใ้เชื้อยีสต์จุกหลอดแก้วแล้วนำ
ไปวางไว้ในห้องทดลอง กอຍเชื้อยีสต์ทุก ๆ ๒ วัน ในปริมาณเท่า ๆ กันครั้งแรก
๖. หลังจากเริ่มเพาะแล้วประมาณหนึ่งสัปดาห์ ปรากฏว่าบางหลอดมี



รูปที่ ๒ ปิเปตปลายแหลมขนาดเล็ก (micro pipettes) ที่โรงพยาบาลราชวิถี

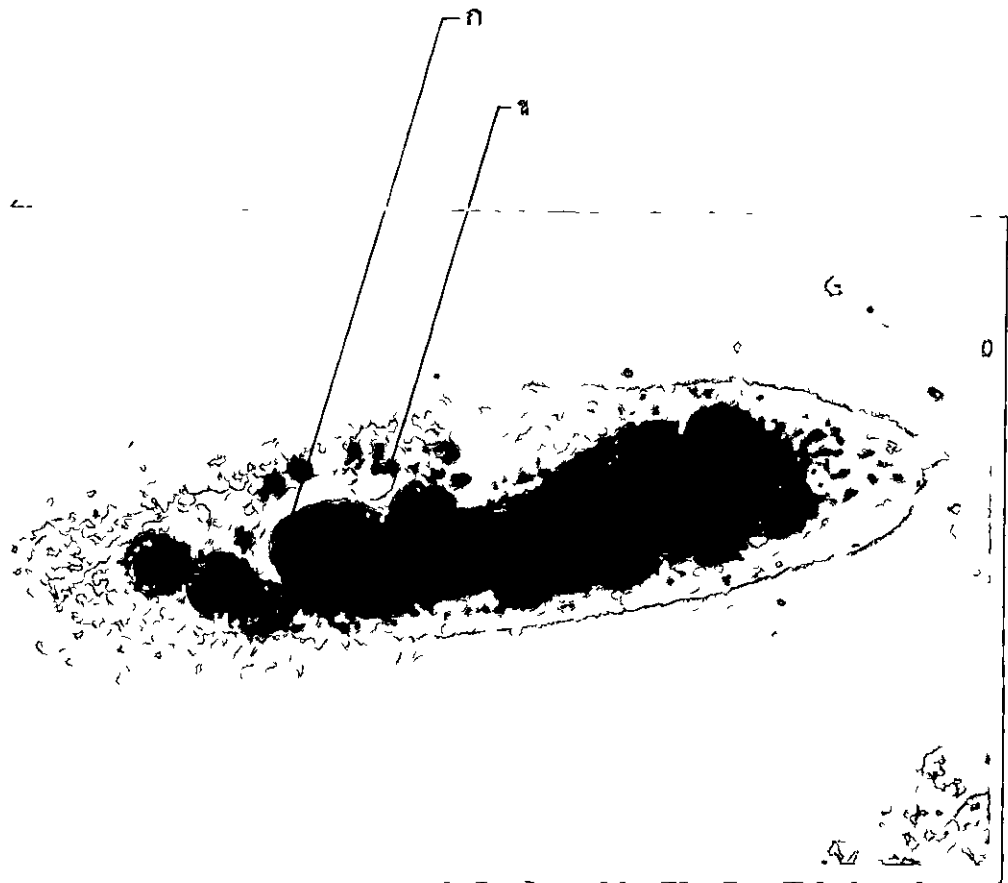
พารามีเซียมที่เตรียมแล้ว ตรวจสอบพารามีเซียมในแต่ละหลอดโดยใช้ปิเปตดูดพารามีเซียมหยดลงบนสไลด์ที่สะอาดประมาณหนึ่งหยด ย้อมสีด้วย acidulated methyl green ประมาณหนึ่งหยด ปิดด้วย cover slip อย่างเบา ๆ แล้วนำไปตรวจดูรูปร่าง ลักษณะ ขนาด และไมโทกรินัวเกลียสด้วยกล้องจุลทรรศน์ ถ้าพารามีเซียมที่ตรวจนั้นเป็นพารามีเซียมกอลเคอุม ก็ะพบไมโทกรินัวเกลียสขนาดเล็กเพียงหนึ่งอันย้อมติดสีเขียว (รูปที่ ๓)

๗. พารามีเซียมกอลเคอุมที่ตรวจพบในหลอดใดหลอดหนึ่งยอมเป็นพารามีเซียมกอลเคอุมทั้งหมด เพราะเริ่มเลี้ยงมาจากพารามีเซียมเพียงตัวเดียว แผลงให้ขยับมากกว่าหนึ่งหลอดก็ถือว่าเพียงหลอดเดียวเป็นตัวแทนของแหล่งนั้น ส่วนที่เหลือทิ้งไป

๘. เมื่อตรวจพารามีเซียมครบแหล่งละ ๒๐ หลอดแล้ว ยังไม่พบพารามีเซียมกอลเคอุมของแหล่งนั้น ก็ปฏิบัติซ้ำเช่นเดียวกันที่กล่าวมาแล้ว (ข้อ ๑-๗) จนกระทั่งได้พารามีเซียมกอลเคอุมครบตามจำนวนที่ตรวจพบในบีกเกอร์ในตอนแรก ควบคุมขนาดการกักแล้วทำให้พารามีเซียมกอลเคอุมจากสถานที่ต่าง ๆ ถึง ๑๒ แห่ง มาใช้ศึกษา

การเตรียมอาหาร

อาหารที่ใช้เลี้ยงพารามีเซียมได้แก่แบคทีเรียหลายชนิดรวมกัน ในน้ำคัมฟางที่มีความเข้มข้น ๐.๑%, ๐.๕% และ ๑.๐% น้ำคัมฟางที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ นี้ เตรียมโดยใช้ฟางขาวที่สับออกเป็นตอน ๆ ยาวประมาณตอนละหนึ่งนิ้ว หนัก ๑๐ กรัม รวมกับน้ำประปา ๑๐๐๐ ซีซี ต้มให้เดือดเป็นเวลาประมาณ ๑๕ นาที ยกลงทิ้งทิ้งไว้ให้เย็น น้ำคัมฟางที่ได้มีความเข้มข้นเป็น ๑.๐% ตามที่ต้องการ แล้วจึงทำให้มีความเข้มข้นเป็น ๐.๕% และ ๐.๑% โดยเติมน้ำลงไปอีกครึ่งเท่าและสิบเท่าตามลำดับ ทวงอาหารที่มีความเข้มข้นทั้งสามใส่ในหลอดแก้วขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ๘ มิลลิเมตร สูง ๘ เซนติเมตร อย่างละ ๑๐๐ หลอด โดยใส่น้ำคัมฟางลงไปประมาณครึ่งหลอด และใส่ฟองฟางลงไปกดยหลอดละ ๕-๖ ท่อน ทวงน้ำคัมฟางใส่ใน flask ขนาด ๕๐๐ ซีซี อีกความเข้มข้นละ ๕ ใบ แต่ละใบบรรจุน้ำคัมฟาง ๕๐๐ ซีซี เท่ากัน อุดหลอดแก้วและ flask ด้วยสำลีให้แน่น นำไปทิ้งฆ่าเชื้อในอโอโตเคลฟ



รูปที่ ๓ นีว เกลี้ยงของพารามีเซียมกอดเคตุ่ม (ประมาณ ๕๐๐ x)

ก. แพกโกโรนีว เกลี้ยง

ข. ไมโกโรนีว เกลี้ยง

โดยใช้ความถี่ ๑๕ ปอนด์ ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา ๓๐ นาที อาหารที่เตรียมขึ้นนี้สามารถเก็บไว้
ไว้ได้เป็นระยะเวลายาวนานโดยไม่เสีย เมื่อจะใช้จึงนำเอาบักเตรีที่ใช้เป็นอาหารมาเพาะ
บักเตรีที่ใช้เป็นอาหารของพารามีเซียม เป็นบักเตรีที่ไผ่มาจากน้ำคั้นพางที่เปิดตั้งทิ้งไว้
ในอากาศในระยะเวลาที่แตกต่างกัน โดยใช้ loop ลงไปจุ่มลงในน้ำคั้นพาง เสร็จแล้ว
ใช้ loop นั้นกรีดไปบนปูนในหลอดแก้วเป็นจำนวนหลาย ๆ หลอด สองวันต่อมาที่พบบักเตรี
เจริญในหลอดแก้วเป็นจำนวนมากโดยไม่ปรากฏมีเชื้อราขึ้นปะปนอยู่เลย บักเตรีที่ขึ้น
ในปูนมีสีต่าง ๆ หลายสีปนกัน เมื่อนำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ก็พบว่าไม่มีพวกคอคคัส
(coccus) และบาซิลลัส ดังนั้นตลอดการทดลองจึงใช้บักเตรีพวกนี้เป็นอาหารของพารามีเซียม

เทคนิคและวิธีการแยกพารามีเซียมออกจากโปรโตซัวชนิดอื่น

พารามีเซียมที่ไผ่มาจากสถานที่ต่าง ๆ กันทั้ง ๑๒ แห่งนั้น ทำให้วิธีสุทธิ
ปราศจากโปรโตซัวชนิดอื่นโดยอาศัยเทคนิคและวิธีการเป็นชั้น ๆ ดังนี้

๑. ใช้ปิเปตปลายแหลมขนาดเล็กที่ฆ่าเชื้อแล้ว และพองน้ำเอาออกมาจาก
กระบอกทองเหลืองใหม่ ๆ สวมจุกยางสำหรับจุกที่ปลายคานตรงข้าม ครอบพารามีเซียมจาก
หลอดแก้วที่แยกไว้แล้ว หยดลงบนสไลด์ที่สะอาดที่อบฆ่าเชื้อมาแล้วประมาณหนึ่งหยด

๒. นำไม้นขนาดเล็กที่มีปลายแหลมขนาดเท่ากับปลายเข็ม แต่ปลายนั้นทำให้เป็น
ฝอยเล็ก ๆ กลายปลายงูกันมาฆ่าเชื้อ ใช้เขี่ยพารามีเซียมที่อยู่บนสไลด์ที่ละตัวใส่ลงไปในน้ำกลั่น
ในจานแก้วที่ฆ่าเชื้อแล้ว พารามีเซียมที่หยดลงบนสไลด์ถาดยู่หนาแน่นใสน้ำกลั่นนั้นหยดเพิ่มลงไป
บนสไลด์อีก แล้วใช้ปิเปตดูดเอาน้ำและพารามีเซียมออกไปประมาณครึ่งหนึ่ง วิธีนี้ทำให้
พารามีเซียมอยู่ห่างกัน โอกาสที่จะทำให้โปรโตซัวชนิดอื่นติดลงไปควบลดน้อยลง

๓. ใช้ปิเปตปลายแหลมขนาดเล็กจุกด้วยพารามีเซียมจากจานแก้วที่หนึ่ง
ถ่ายไปยังจานแก้วอีกจานหนึ่ง และถ่ายต่อ ๆ กันไปจนครบ ๓ ครั้ง

๔. ถ่ายพารามีเซียมที่ยังคงเหลืออยู่ในจานแก้วแต่ละจาน นำไปเลี้ยงในน้ำ
คั้นพางที่มีความเข้มข้น ๐.๕% ที่เพาะบักเตรีไว้แล้วในหลอดแก้ว โดยใช้ปิเปตปลายแหลม

ขนาดเล็กอีกใบใหม่ถูกพารามิเยียมในจานแก้วแต่ละจานประมาณจานละ ๓ - ๔ ตัว โดยให้น้ำในจานแก้วตักไปควมดยที่สุด

๕. ปฏิบัติเช่นเดียวกันนี้ตั้งแต่ข้อ ๑ - ๔ กับพารามิเยียมกอลเคตุมาจากแหล่งอื่น ๆ ที่เหลือจนครบทั้ง ๑๒ แหล่ง

๖. นำหลอดแก้วทั้งหมดที่เพาะพารามิเยียมแล้ว เข้าที่นำไปวางไว้ในห้องทดลอง

๗. ตรวจดูพารามิเยียมทุกหลอดที่เพาะเลี้ยงในวันที่ ๕, ๑๐ และ ๑๕ โดยใช้ปิเปตปลายแหลมขนาดเล็กถูกพารามิเยียมจากหลอดแก้ว (ทำในตู้เขียะเขือ) หยดลงบนสไลด์ที่สะอาด นำไปตรวจดูควมกลองจุลทรรศน์ บันทึกผลการทดลอง

ศึกษาการเจริญเติบโตของพารามิเยียมกอลเคตุบริสุทธิ์ในน้ำคัมฟางที่มีความเข้มข้นต่างกัน

นำเอา flask ที่บรรจุน้ำคัมฟาง ๔๐๐ ซีซี ความเข้มข้นต่าง ๆ กันอย่างละ ๒ ใบที่เตรียมไว้แล้วเข้าไปในตู้เขียะเขือ ใช้ loop เขี่ยน้ำที่รีจากหลอดกุ่มนี้ใส่ลงไปใน flask จำนวน ๓ loops เท่า ๆ กันทุก flask ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลาหนึ่งคืน เสร็จแล้วนำเอาพารามิเยียมกอลเคตุบริสุทธิ์มาเพาะเลี้ยงในอาหารนี้ โดยดำเนินการเป็นขั้น ๆ ดังนี้

๑. ใช้ปิเปตปลายแหลมขนาดเล็กสะอาดแล้ว ถูกพารามิเยียมบริสุทธิ์จากหลอดแก้วถ่ายลงไปในน้ำกลั่นในจานแก้ว ที่วางอยู่บนพ่นกระดาษสีกำ

๒. ใช้ปิเปตอันใหม่ถูกเอาพารามิเยียมกอลเคตุ No.2 โดยเริ่มต้นจากพารามิเยียมจำนวน ๔๐ ตัวเท่า ๆ กัน ถ่ายลงใน flask แต่ละใบ เสร็จแล้วปิครุกควมสำล้นำไปวางไว้ในห้องทดลอง

๓. นับจำนวนพารามิเยียมทุก ๆ วัน หลังจากวันที่เริ่มเพาะเป็นต้นไป การนับใช้วิธีและ fix พารามิเยียมควมสารละลายด้วยอิมคว์ปรอทกลดไรด์ (saturated corrosive sublimate) นับจำนวนพารามิเยียมทุก ๆ ตัวที่สำ โดยใช้ปิเปตขนาด ๑ ซีซี กนพารามิเยียมที่เลี้ยงใน flask อย่างเงา ๆ ๔ กร้ง เพื่อไหพารามิเยียมกระจายไปทั่ว แล้วใช้ปิเปต

ถูกน้ำท่วมเข้ามา ๐.๐๔ นิ้ว หยดลงในกระเจียนาที่ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ๔.๕ เซนติเมตร
ใช้สารละลายยิมตัวประทกตลอดโรคหยดลงไปประมาณ ๒ หยด นำไปนับจำนวนกบยกลอง
จุลทรรศน์ส่องตา บันทึกจำนวนที่นับได้ไว้ทุก ๆ วัน แล้วหาค่าเฉลี่ยอีกทุก ๔ วัน

นำฟารามีเยียมบริสุทธิ์ถ่ายไปยังน้ำคัมฟางที่มีความเข้มข้น ๐.๕% แหะละ ๒ หลอด
เป็นจำนวนทั้งสิ้น ๗๒ หลอด บันทึกเวลานับทั้งแคว้นเริ่มเพาะเป็นต้นไป จนกระทั่งฟารามีเยียม
นั้นตายไปหมดสิ้น ส่วนฟารามีเยียมอีกจำนวนหนึ่งถ่ายไปยังอาหารใหม่ทุก ๆ เดือนเพื่อเก็บ
ไว้เป็น stock culture

ศึกษาการสืบพันธุ์แบบไมนารีพรีชัน และการหา generation time ของฟารามีเยียม
กอดเคตุมบริสุทธิ์ ในน้ำคัมฟางที่มีความเข้มข้น และปริมาณแสงสว่างต่างกัน

ฟารามีเยียมกอดเคตุมบริสุทธิ์ที่ใช้ศึกษาการสืบพันธุ์แบบไมนารีพรีชัน ได้แก่ฟารามีเยียม
กอดเคตุม No.2 แหะละยกลองการทดลอง โดยเพาะเลี้ยงเอาไว้เป็น stock culture
นำคัมฟางที่ใส่น้ำคัมฟางที่มีความเข้มข้น ๐.๑%, ๐.๕% และ ๑.๐% ที่เพาะบักเตรี
ลงจนเวลาไว้อ่อนแวลเป็นเวลา ๒ วัน แสงสว่างที่ใส่น้ำคัม แสงในที่มืด แสงสว่าง
ตามธรรมชาติ (กลางวันสลับกลางคืนของห้องทดลอง) และแสงสว่างจากหลอดไฟฟ้า
2 candles/sq. ft. การทดลองดำเนินเป็นชั้น ๆ ดังนี้

๑. ใบบีเปตต์ปลายแหลมขนาดเล็กลงแล้ว กอฟารามีเยียมจาก stock
culture ถ่ายไปยังน้ำกลั่นในจานแก้วซึ่งวางอยู่บนพ่นกระดาษสีดำ

๒. ใบบีเปตต์อันใหม่กอฟารามีเยียมจากจานแก้ว ถ่ายลงในสไลด์หลุมที่ฉา
เชอแลวหลุมละตัว จนครบ ๗ หลุม สไลด์หลุมเหล่านั้นวางอยู่ในจานแก้ว

๓. นำจานแก้วที่มีสไลด์หลุมวางอยู่ไปตรวจดูกบยกลองจุลทรรศน์ส่องตา
เพื่อให้เกิควาบแน่ใจว่าสไลด์แต่ละหลุมมีฟารามีเยียมอยู่เพียงตัวเดียว

๔. ใบบีเปตต์คูน้ำคัมฟางที่มีความเข้มข้นทั้งสามและน้ำกลั่นไว้สำหรับกบยกลอง
หยดบนสไลด์หลุม ๆ ละประมาณ ๐.๐๔ นิ้ว อย่างละ ๕ หลุม

๕. ปกติงานแก้วทำเครื่องหมายกำกับบนสไลด์หลุม เพื่อให้ทราบเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของอาหาร และแสงสว่างที่โรยกับหลุมสไลด์นั้น ๆ

๖. แยกงานแก้วที่ทำเครื่องหมายแล้วออกเป็น ๓ พวกคือ พวกที่หนึ่งมีน้ำขมข้างที่ความเข้มข้น ๐.๑%, ๐.๕%, ๐.๑๐% และนำกลิ้ง อย่างละ ๓ จาน รวม ๑๒ จาน นำเขาไปวางไว้ในตู้กระจกเลี้ยงปลาขนาด ๔" x ๑๒" จัดแสงจากหลอดไฟให้ส่องเข้าตู้กระจกทั้งสองข้างในระยะ 2 candles/sq.ft. (รูปที่ ๔) เพื่อป้องกันการระเหยของน้ำในสไลด์หลุม พักตู้ให้ส่น้ำลงไปแล้วก็น้อย พวกที่สองมี ๑๒ จานเช่นเดียวกับพวกแรก นำเขาไปวางไว้ในตู้กระจกเลี้ยงปลาที่ขยกระดกส่น้ำอย่างมีขีด มีฝาปิดอย่างสนิทซึ่งแสงลอดผ่านไม่ได้ (รูปที่ ๕) พวกที่สามมี ๑๒ จานเช่นเดียวกับพวกที่หนึ่งและสอง นำเขาไปวางไว้ในตู้กระจกเลี้ยงปลาที่ไม่ขยกระดกส่น้ำขึ้น นำตู้กระจกไปวางไว้ในห้องทดลองให้ได้รับแสงสว่างตามธรรมชาติ (กลางวันส่น้ำกลางคืนของห้องทดลอง)

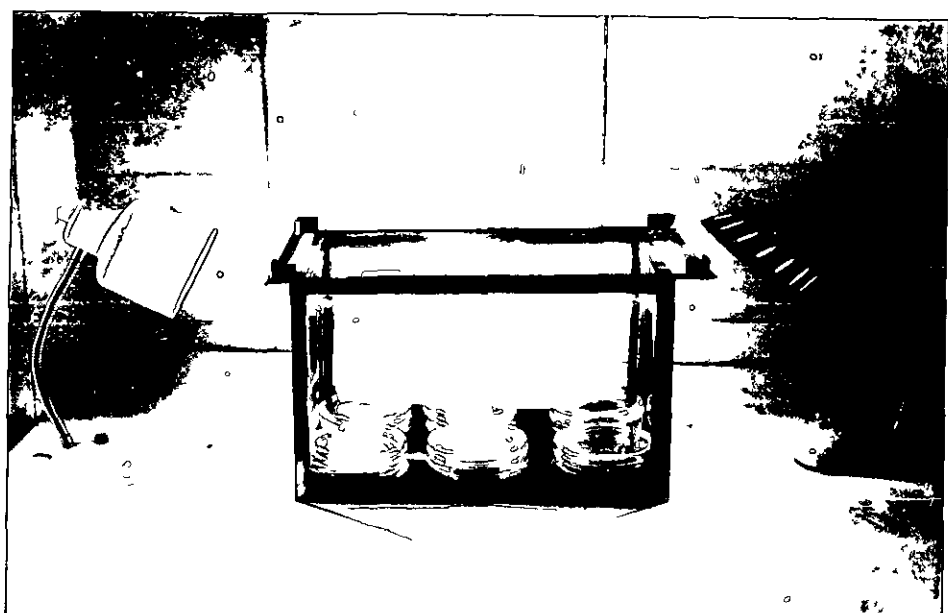
๗. นำแต่ละสไลด์ไปตรวจดูการแบ่งตัวแบบไมนาโรฟิซันทุกชั่วโมง พร้อมกับบันทึกจำนวนการมีเย็บค้ปรากฏให้เห็นจนกระทั่งครบ ๓ ชั่วโมง (๔ ชั่วโมง)

การหา generation time

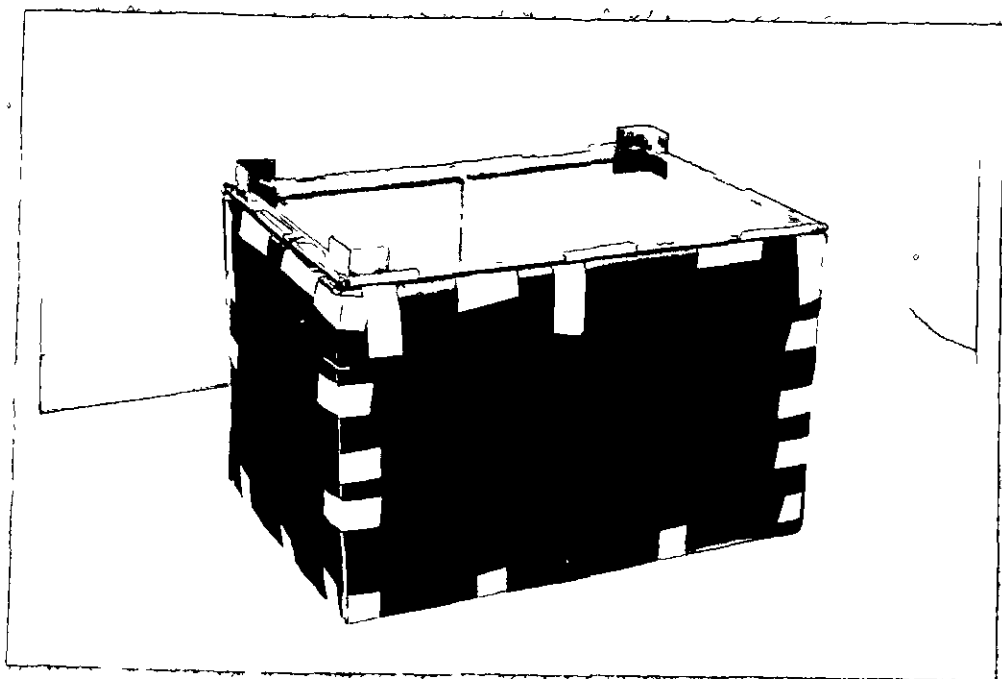
Generation time หาได้จากค่าเฉลี่ยของเวลาทั้งหมด ที่พาราบีเย็บค้แบ่งจนได้ ๓ ชั่วโมงทั่วโลก ทั้งโดยที่ได้ออกมาเป็นค่า generation time ของพาราบีเย็บค้ในแต่ละสไลด์ แล้วเอาหาค่า generation time เฉลี่ยของน้ำขมฟางแต่ละความเข้มข้นในที่ปริมาณของแสงสว่างต่างกัน นำเอาค่า generation time ในอาหารที่มีความเข้มข้นแต่ละปริมาณแสงสว่างต่างกันไป วิเคราะห์หาความแปรปรวนทางสถิติ

ศึกษาการส่น้ำแบบออกโทแกมมีของพาราบีเย็บค้กับคุณสมบัติ

๑. ไซบีเปกต์ฝ่ายแหลมขนาดเล็กๆ ซึ่งถูกพาราบีเย็บค้กับคุณสมบัติจาก stock culture แต่ละแห่งถ่ายไปบ่งน้ำขมฟางในหลอดแก้วที่เพาะบ่งไว้



รูปที่ ๘ การหา generation time ของพารามีเชียมอดเคตุม
โดยใช้แสงที่มีความเข้ม 2 candles/sq.ft.



รูปที่ ๘ การหา generation time ของพารามีเซียมกอดเคตุณีในตู้หมัก

แห่งละ ๒ หลอด อุดหลอดด้วยสำลีนำไปวางไว้ในห้องทดลอง

๒. ตรวจดูการเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียส และการสร้าง cytoplasmic cone ทุกวัน นับแต่วันเริ่มเพาะเป็นต้นไป โดยใช้ปิเปตต์ปลายแหลมขนาดเล็กดูดพารามีเซียมจากหลอดแก้วหยดลงบนสไลด์ที่สะอาดประมาณหนึ่งหยด หยด acidulated methyl green ลงไปประมาณหนึ่งหยด ปิดด้วย cover slip นำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

๓. ปฏิบัติเช่นเดียวกันนี้จนครบทุกหลอดพร้อมกับบันทึกผลที่ได้จากการศึกษา

การศึกษาการสืบพันธุ์แบบกอนวเกนของพารามีเซียมกอนวเกนวิธี

๑. นำเอาพารามีเซียมกอนวเกนวิธีที่เลี้ยงไว้ใน stock culture ทั้ง

๑๒ แ่ง วางเรียงกันตามลำดับ จาก No.1-12

๒. ใช้ปิเปตต์ปลายแหลมขนาดเล็กมาเขี่ยแล้วดูดพารามีเซียมจากหลอดแก้วออกมารวมกันในสไลด์หลุมที่ละ ๒ แ่ง โดยสลัหลอดกันจนกระทั่งครบทั้ง ๑๒ แ่ง

๓. ตรวจดูพารามีเซียมที่รวมกันเป็นระยะ ๆ ด้วยกล้องจุลทรรศน์ บันทึกผลที่ได้จากการสังเกตประจักษ์ผลการทดลอง

สถานที่ทดลอง

ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการชีววิทยา วิทยาลัยวิชาการศึกษา พระนคร บางเขน
พระนคร เริ่มทำการทดลองตั้งแต่ ๕ เมษายน ๒๕๑๓ - ๓๐ มกราคม ๒๕๑๔.

ผลการทดลอง

๑. ศึกษาวิธีเลี้ยงพารามีเซียมกอดเคตุมิใบริสท์

ผลการศึกษาวิธีเลี้ยงพารามีเซียมกอดเคตุมิที่ได้อาจจากถิ่นที่อยู่ต่าง ๆ กัน ๑๒ แห่ง โดยอาศัยเทคนิคและวิธีการแยกพารามีเซียมด้วยไม้ปลายแหลมแยกกลางลงในน้ำกลั่น และแยกต่อไปหลาย ๆ ครั้งโดยวิธีทำให้เจือจาง ผลปรากฏว่า พารามีเซียมที่เลี้ยงด้วยน้ำกลั่นเพียง ๑ ครั้งเกือบหรือจนกระทั่ง มีโปรโทซัวขนาดเล็กขึ้นปะปนอยู่บ้าง และมีแนวโน้มลดน้อยลง เมื่อเลี้ยงพารามีเซียมด้วยน้ำกลั่นหลาย ๆ ครั้ง พารามีเซียมทั้ง ๑๒ แห่ง ทำให้บริสุทธิ์โดยการล้างด้วยน้ำกลั่นเพียง ๑ ครั้ง ดังปรากฏในตาราง ๑.

๒. ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของพารามีเซียมกอดเคตุมิใบริสท์ในน้ำคั้นฟางที่มีความเข้มข้นต่างกัน

ผลการศึกษาพารามีเซียมกอดเคตุมิใบริสท์ No.2 ในน้ำคั้นฟางที่มีความเข้มข้น ๐.๑%, ๐.๕% และ ๑.๐% ตั้งแต่ ๔ ตุลาคม - ๑ ธันวาคม ๒๕๑๓ และครั้งที่สองตั้งแต่ ๒๕ ตุลาคม - ๒๒ ธันวาคม ๒๕๑๓ จากการศึกษาทั้งสองครั้งปรากฏว่า อัตราการเจริญเติบโตของพารามีเซียมสูงที่สุดอยู่ในระหว่างสัปดาห์ที่ ๒ - ๓ ในน้ำคั้นฟางที่มีความเข้มข้น ๑.๐% ซึ่งมีจำนวนโคสูงสุดถึง ๕๐ ตัวต่อน้ำคั้นฟาง ๐.๐๕ ลิตร (ประมาณครึ่งหยด) อัตราการเจริญเติบโตลดลงมากเมื่อ น้ำคั้นฟางที่มีความเข้มข้น ๐.๕% อัตราการเจริญเติบโตดังกล่าวมักไม่สม่ำเสมอ ดังแสดงไว้ในตาราง ๒. และ ๓. กราฟที่ ๑ และ ๒

การศึกษาเลี้ยงพารามีเซียมกอดเคตุมิใบริสท์ทั้ง ๑๒ แห่ง ในน้ำคั้นฟางที่มีความเข้มข้น ๐.๕% ในหลอดแก้วจำนวน ๑๒ หลอด ตั้งแต่ ๕ สิงหาคม - ๓๐ ธันวาคม ๒๕๑๓ ผลปรากฏว่า พารามีเซียมกอดเคตุมิ No.3 มีชีวิตอยู่ในอาหารไคยวามานที่สุด ตั้งแต่วันที่เริ่มเพาะ จนกระทั่งตายไปหมด ก่อเชื้อแล้วเท่ากับ ๑๕๐.๓ วัน พารามีเซียมกอดเคตุมิ No.1 มีชีวิต

อยู่ในอาหารน้อยที่สุดก็ ได้เลยเท่ากับ ๑๘.๖ วัน มีแสงไว้ในตาราง ๔.

ตาราง ๑. แสดงจำนวนโปรโตซัวที่ลดลง เมื่อแยกพารามีเซียมออกจากเคชูน
โดยใจไม่ปลายแหลมขนาดเล็ก

พารามีเซียม No.	จำนวนรัง ที่แยกควยไม้	จำนวนรังที่ต่างควยน้ำกลั่น						
		๑	๒	๓	๔	๕	๖	๗
๑	๑	+++	++	++	++	+	-	-
๒	๑	+++	+++	++	+	+	-	-
๓	๑	+++	++	+	+	-	-	-
๔	๑	++	++	+	+	+	-	-
๕	๑	++	++	+	+	-	-	-
๖	๑	++	+	+	-	-	-	-
๗	๑	++	++	+	+	-	-	-
๘	๑	++	+	+	+	-	-	-
๙	๑	+++	++	+	+	+	-	-
๑๐	๑	+++	++	++	+	+	-	-
๑๑	๑	++	++	++	+	+	-	-
๑๒	๑	++++	+++	++	+	+	+	-

++++ พบ โปรโตซัวชนิดอื่นปะปนอยู่เป็นจำนวนมาก

+++ พบ โปรโตซัวชนิดอื่นปะปนอยู่ปานกลาง

++ พบ โปรโตซัวชนิดอื่นปะปนอยู่เป็นจำนวนน้อย

+

- ไม่พบ โปรโตซัวชนิดอื่นปะปนอยู่เลย



รูปที่ ๖ stock culture ของฟารามิ เซียนกอกเคตุนึง แมกนวิสุทวิไล

ตาราง ๒. แสดงอัตราการเจริญเติบโตของพารามิเตอร์เชิงปริมาณในน้ำดื่มวาง
ที่มีความเข้มข้นต่างกัน ตั้งแต่ ๘ ตุลาคม - ๓ ธันวาคม ๒๕๑๓ ๑/

วันที่ทำการนับ	จำนวนวันที่นับ	จำนวนเฉลี่ยของพารามิเตอร์เชิงปริมาณ ในน้ำดื่มวางที่มีความเข้มข้น*		
		๐.๑ %	๐.๔ %	๑.๐ %
๘ - ๑๓ ตุลาคม	๕	๔	๓๗	๒๓
๑๔ - ๑๘ ตุลาคม	๑๐	๔	๒๐	๔๐
๑๙ - ๒๓ ตุลาคม	๑๕	๕	๒๒	๓๒
๒๔ - ๒๘ ตุลาคม	๒๐	๑๐	๒๓	๒๐
๒๙ ตุลาคม - ๒ พฤศจิกายน	๒๕	๓	๑๓	๕
๓ - ๗ พฤศจิกายน	๓๐	๒	๒๐	๕
๘ - ๑๒ พฤศจิกายน	๓๕	๒	๓๗	๑๒
๑๓ - ๑๗ พฤศจิกายน	๔๐	๒	๑๔	๒๒
๑๘ - ๒๒ พฤศจิกายน	๔๕	๔	๑๔	๒๓
๒๓ - ๒๗ พฤศจิกายน	๕๐	๕	๓๗	๑๔
๒๘ พฤศจิกายน - ๒ ธันวาคม	๕๕	๕	๑๖	๑๔
๓ - ๗ ธันวาคม	๖๐	๔	๑๖	๑๔

๑/ การทดลองครั้งที่ ๑

* ในน้ำดื่มวาง ๐.๐๔ ซีซี

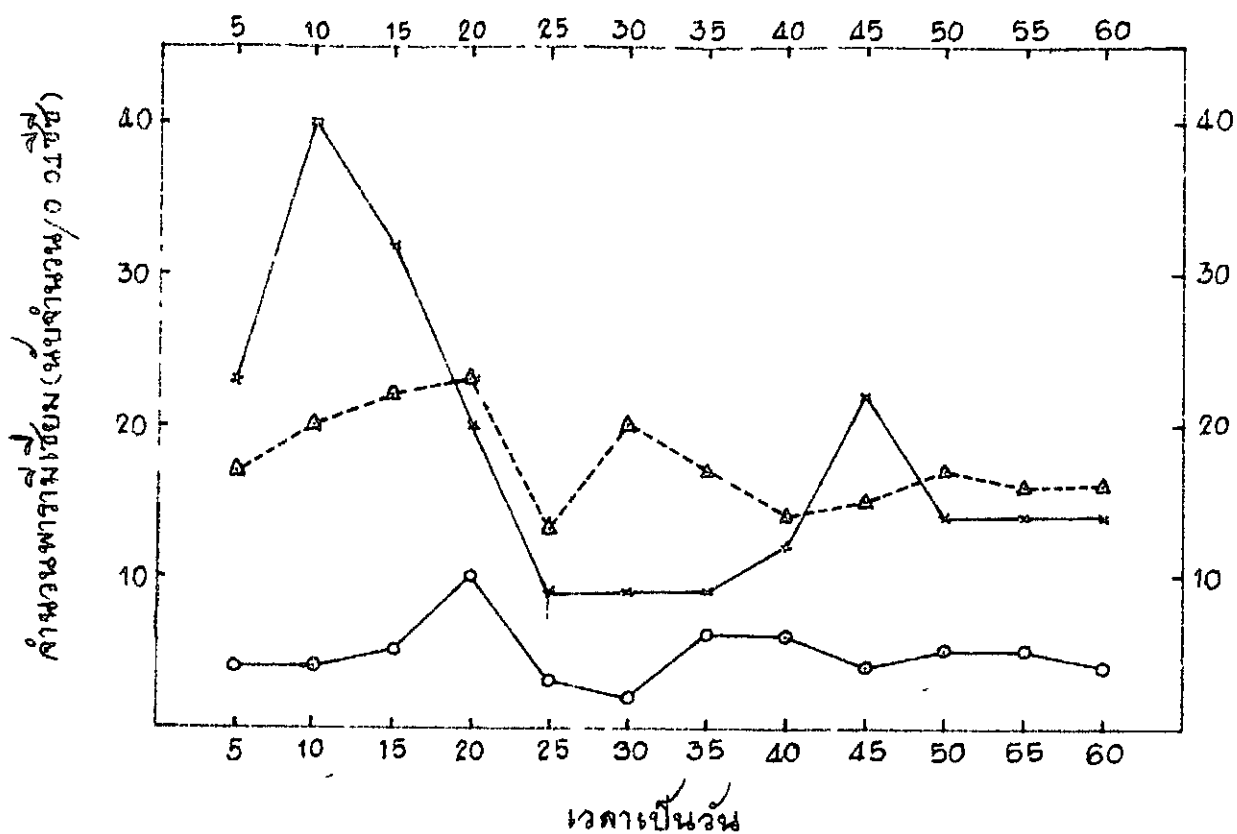
ตาราง ๓. แสดงอัตราการเจริญเติบโตของพารามีเซียมกอดเคอเบรียล^๒ ในน้ำคั้นฟาง
ที่มีความเข้มข้นต่างกัน ตั้งแต่ ๕ ตุลาคม - ๒ ธันวาคม ๒๕๑๓ ๒/

วันที่ทำการนับ	จำนวนวันที่นับ	จำนวนเฉลี่ยของพารามีเซียม ในน้ำคั้นฟางที่มีความเข้มข้น *		
		๐.๑ %	๐.๕ %	๑.๐ %
๕ ตุลาคม - ๑ พฤศจิกายน	๕	๒	๗	๙
๒ - ๖ พฤศจิกายน	๑๐	๖	๑๔	๒๐
๗ - ๑๑ พฤศจิกายน	๑๕	๖	๒๔	๒๓
๑๒ - ๑๖ พฤศจิกายน	๒๐	๕	๑๗	๓๒
๑๗ - ๒๑ พฤศจิกายน	๒๕	๕	๒๔	๒๐
๒๒ - ๒๖ พฤศจิกายน	๓๐	๔	๒๑	๑๓
๒๗ พฤศจิกายน - ๑ ธันวาคม	๓๕	๖	๙	๑๖
๒ - ๖ ธันวาคม	๔๐	๔	๕	๓๒
๗ - ๑๑ ธันวาคม	๔๕	๒	๓	๒๔
๑๒ - ๑๖ ธันวาคม	๕๐	๒	๔	๓๔
๑๗ - ๒๑ ธันวาคม	๕๕	๒	๔	๑๔
๒๒ - ๒๖ ธันวาคม	๖๐	๑	๔	๕

๒/ การทดลองครั้งที่ ๒

* ในน้ำคั้นฟาง ๐.๐๔ ซีซี

การทดลองครั้งที่ 1



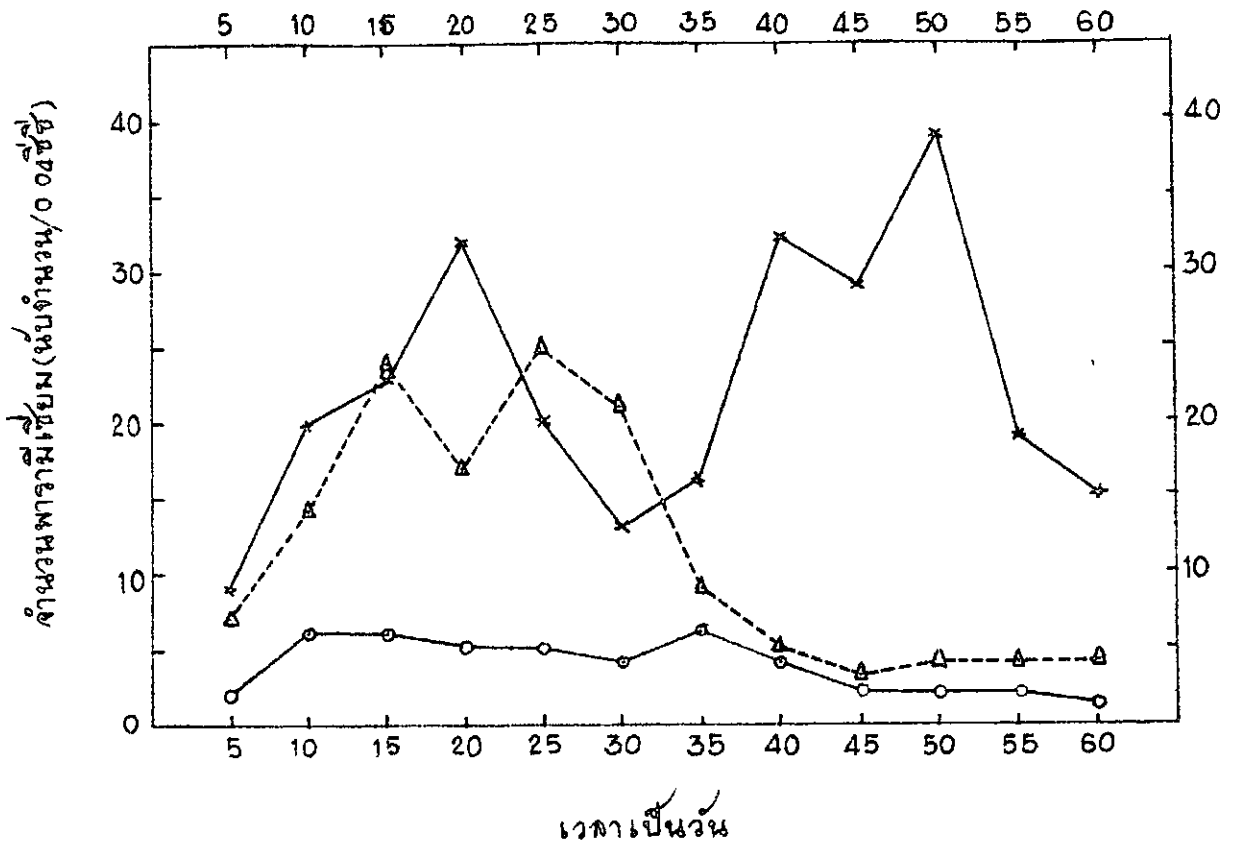
x ความเข้มข้น 1.0 %

Δ ความเข้มข้น 0.5 %

o ความเข้มข้น 0.1 %

กราฟที่ 1 อัตราการเจริญเติบโตของพารามีเซียมคอเดตุม
 บริสุทธิ์ในน้ำต้มฟางที่มีความเข้มข้นต่างกัน
 แต่ละจุดเป็นจำนวนพารามีเซียมที่คิดเฉลี่ยในวัน

การทดลองครั้งที่ 2



x ความเข้มข้น 10 %

Δ ความเข้มข้น 0.5 %

o ความเข้มข้น 0.1 %

กราฟที่ 2 อัตราการเจริญเติบโตของพารามีเซียมคอเดตุม
 นริสท์ธิ์ในน้ำต้มพางที่มีความเข้มข้นต่างกัน
 แต่ละจุดเป็นจำนวนพารามีเซียมที่คิดเฉลี่ยใน 5 วัน

ตาราง ๔. แสดงจำนวนวันที่พารามิเยียมคอกเคอุมบริสุทธิ์ถึง ๑๖ แห่ง มีชีวิตอยู่ได้
ในน้ำตมฟางที่มีความเข้มข้น ๐.๕% ตั้งแต่ ๕ สิงหาคม - ๓๐ ธันวาคม
๒๕๑๓

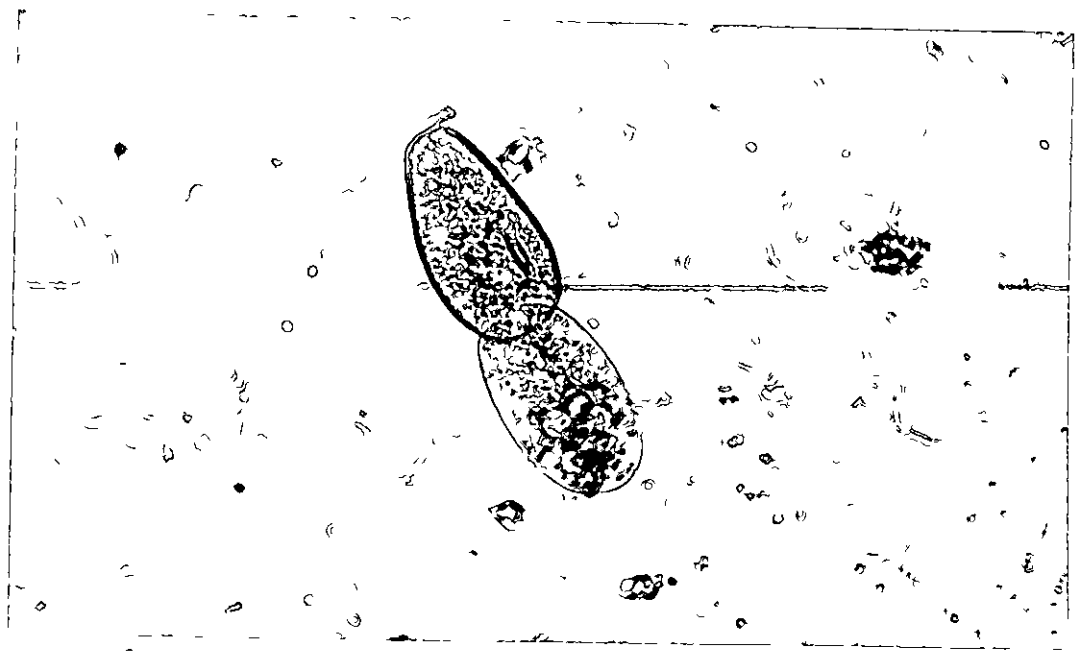
พารามิเยียมคอกเคอุม No.	จำนวนวันที่พารามิเยียมมีชีวิตอยู่ได้ในหลอดแก้วหลอดที่						เฉลี่ย (วัน)
	๑	๒	๓	๔	๕	๖	
๑	๑๕๐	๒๒	๑๑๕	๑๒๓	๑๒๓	๑๒๒	๑๑๐.๕
๒	๘๘	๑๓๕	๑๐๘	๒๐	๑๕๓	๑๔๘	๑๔๘.๖
๓	๑๖๐	๑๕๕	๑๖๐	๑๕๘	๑๓๖	๑๓๓	๑๕๐.๓
๔	๑๖๕	๑๖๐	๑๕๕	๑๔๐	๑๒๓	๑๓๑	๑๕๕.๐
๕	๑๓๒	๑๒๗	๑๓๐	๑๓๗	๑๓๓	๑๕๓	๑๕๕.๖
๖	๑๔๐	*	๑๕๐	๑๔๐	๑๓๓	๑๓๘	๑๓๕.๓
๗	๑๔๕	๑๒๘	๑๓๐	๑๔๕	๑๒๑	๑๒๔	๑๔๐.๒
๘	๑๓๕	๑๓๔	๑๓๒	๑๔๕	๑๔๑	๑๒๘	๑๓๓.๐
๙	๔๕	*	๑๖๗	๑๕๔	๔๔	๕๖	๑๓๗.๑
๑๐	*	๔๑	๑๔๕	๑๒๔	๑๒๘	๑๓๘	๑๑๖.๒
๑๑	๑๓๔	๑๔๐	๑๔๒	๑๕๔	๘๖	๑๐๘	๑๒๘.๑
๑๒	๑๔๒	๑๒๗	๑๔๕	๑๑๐	๑๒๘	๑๔๓	๑๒๗.๕

* เกือบไม่กิน

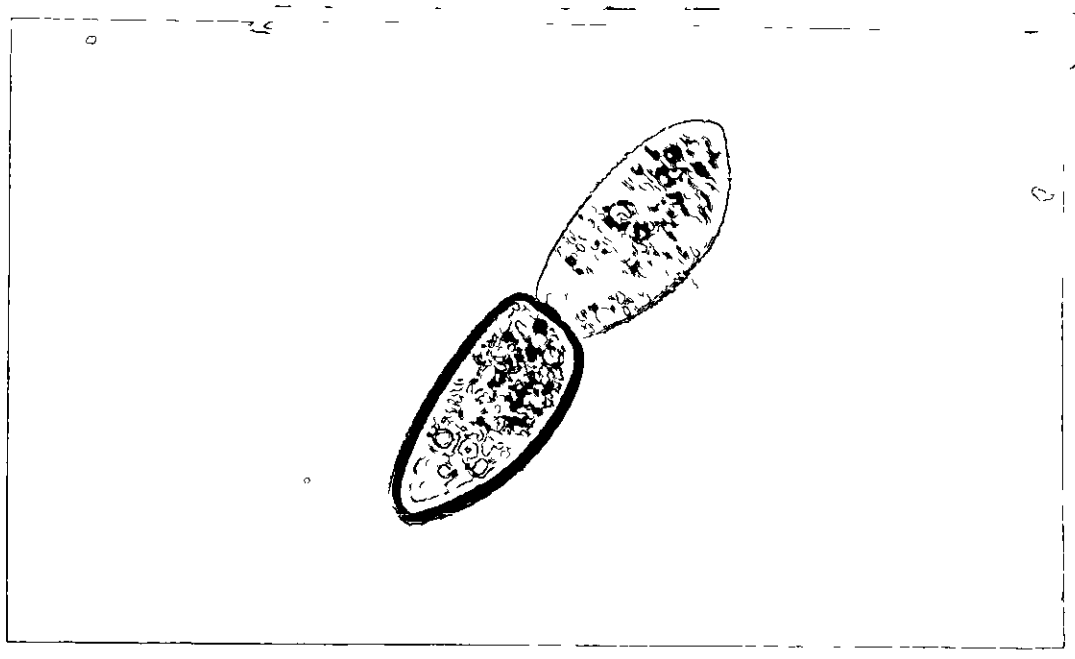
๓. การศึกษาการสืบพันธุ์แบบใบนารีพืชนั้น และการหา generation time ของพารามีเซียม
กอลเดมบริคกี ในน้ำคัพฟที่มีความเข้มข้นและปริมาณแสงสว่างต่างกัน

ผลการศึกษากการสืบพันธุ์แบบใบนารีพืชนั้นของพารามีเซียมกอลเดมปรากฏว่า ก่อนที่พารามีเซียมจะเริ่มแบ่งตัวนั้น มันเจริญเติบโตเต็มที่ที่มีการเคลื่อนที่ช้าลง และมักจะหยุดนิ่งอยู่ตรงที่ใดที่หนึ่งของสไลด์หุ้ยม ต่อมาประมาณ ๓๐ นาที สังเกตเห็นตรงกลางตัวมีรอยบุ๋มเข้าไปเล็กน้อยทั้งสองข้าง อีก ๒๐ นาทีต่อมา สังเกตเห็นรอยบุ๋มนั้นเป็นรอยกอดกลางตัวตามแนวขวาง โดยที่รอยกอดทั้งสองนั้นเหลื่อมกันเล็กน้อย ต่อมาอีก ๓๐ นาที รอยกอดยิ่งกอดมากยิ่งขึ้น ระยะนี้สังเกตเห็น oral groove ของรอยกอดแต่ละข้าง เริ่มแยกออกจากกันประมาณ ๒๐ นาทีต่อมา รอยกอดนั้นเหลื่อมเพียงเล็กน้อยมีลักษณะคล้ายพารามีเซียมสองตัวหันเอากันตามขวางของตัวหนึ่งไปพบกับก้นของอีกตัวหนึ่ง (รูปที่ ๗,๘,๙) หลังจากนั้นประมาณ ๕ - ๖ นาที รอยกอดนั้นก็แยกออกจากกันกลายเป็นพารามีเซียมใหม่สองตัวที่มีขนาดเท่ากันลักษณะค่อนข้างรี กว้างกับตัวที่เจริญเติบโตเต็มที่ แตขนาดเล็กกว่า เวลาตั้งแต่เริ่มแบ่งจนกระทั่งเสร็จสิ้นใช้เวลา ๑ - ๒ ชั่วโมง พารามีเซียมที่โตจากการแบ่งเจริญเติบโตเต็มที่ภายในเวลา ๒ - ๓ ชั่วโมง หลังจากนั้นก็เริ่มแบ่งตัวใหม่อีก ส่วนมากแล้วการแบ่งตัวในกรณี ๆ ไปมักเกิดขึ้นไม่พร้อมกัน

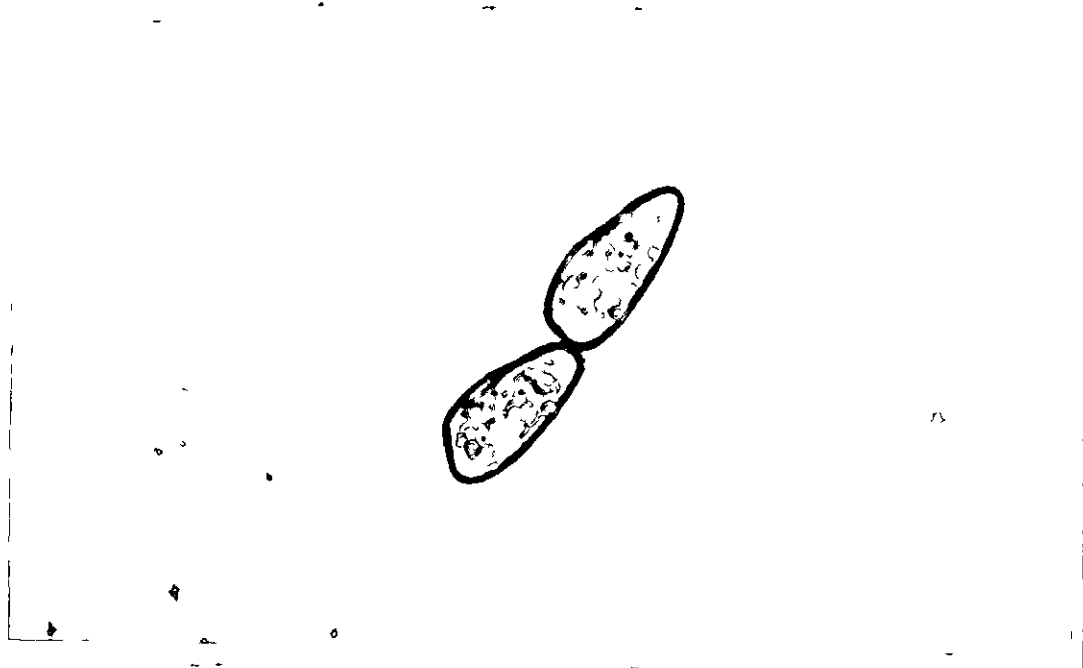
ผลการหา generation time ของพารามีเซียมกอลเดม ๓ ชั่วโมง ในน้ำคัพฟที่มีความเข้มข้น ๐.๑%, ๐.๕%, ๑.๐% และในน้ำกลั่นในที่มีแสงสว่างตามธรรมชาติ (กลางวันสลับกลางคืนของห้องทดลอง) แสงสว่างจากหลอดไฟฟ้า 2 candles/sq.ft. จากการทดลองทั้งสามกรณีได้ค่าเฉลี่ยของ generation time ของการทดลองแต่ละครั้งดังนี้



รูปที่ ๘ การฉีกขาดของเยื่อพลาสมาของพารามีเซียมกอลเดอุม แสดงการเกิด
cytoplasmic membrane ขึ้นใหม่กึ่งกลางเซลล์ซึ่งมีลักษณะกอด
จะสังเกตเห็น cytoplasmic membrane ที่เกิดขึ้นใหม่เชื่อมกับ
เล็กน้อย (ประมาณ ๒๐๐ x)



รูปที่ ๘ การจับคู่แบบไบนารีฟิชันของพารามีเซียมกอดเคตุม ต่อจากรูปที่ ๗
เป็นเวลา ๑๐ นาที (ประมาณ ๒๐๐ x)



รูปที่ ๕ การสัณฐานวิทยาของพารามีเซียมที่เลี้ยงในอาหารเหลว กว้างรูปที่ ๕
เป็นเวลา ๕ นาที (ประมาณ ๕๐x)

ความเข้มข้นของ น้ำตมฟาง (%)	การทดลอง ครั้งที่	generation time		
		ในที่มืด	แสงตามธรรมชาติ	แสงจากหลอดไฟฟ้า (2 candles/sq.ft.)
๐.๑	๑	๗.๑๑๑	๖.๒๒๒	๗.๖๖๖
๐.๑	๒	๗.๕๕๕	๗.๑๑๑	๗.๑๑๑
๐.๑	๓	๗.๕๕๕	๗.๖๖๖	๗.๕๕๕
๐.๕	๑	๖.๕๕๕	๕.๔๔๔	๖.๐๐๐
๐.๕	๒	๗.๗๗๗	๗.๓๓๓	๘.๗๗๗
๐.๕	๓	๗.๑๑๑	๖.๗๗๗	๗.๑๑๑
๑.๐	๑	๖.๕๕๕	๕.๐๐๐	๕.๕๕๕
๑.๐	๒	๖.๘๘๘	๗.๗๗๗	๗.๖๖๖
๑.๐	๓	๗.๕๕๕	๗.๓๓๓	๗.๘๘๘

น้ำตมฟางที่มีความเข้มข้น ๐.๑% การทดลองครั้งที่ ๑, ๒ และ ๓ มีแสงไว้ใน
ตาราง ๓, ๑๑ และ ๑๕.

น้ำตมฟางที่มีความเข้มข้น ๐.๕% การทดลองครั้งที่ ๑, ๒ และ ๓ มีแสงไว้ใน
ในตาราง ๖, ๑๐. และ ๑๔

น้ำตมฟางที่มีความเข้มข้น ๑.๐% การทดลองครั้งที่ ๑, ๒ และ ๓ มีแสงไว้ใน
ในตาราง ๘, ๙ และ ๑๓

สำหรับน้ำตม ผู้ศึกษาไม่ได้นำ generation time เอาไว้ เพราะส่วนมาก
พารามีเซียมมักจะตายไปในระหว่างการทดลอง ตัวที่ให้ออกอยู่ส่วนมากก็ไม่โตแม้ตัวเลย หรือ
แบ่งก็ช้ามาก แต่ก็ได้สังเกตจำนวนพารามีเซียมที่ปรากฏให้เห็นแต่ละครั้งที่สังเกต มีแสงไว้ใน
ในตาราง ๘, ๑๖. และ ๑๖

๔. การเปรียบเทียบ generation time ของพารามีเซียมกอลเดอเบรียในน้ำตมต่าง
ที่มีความเข้มข้นและปริมาณแสงสว่างต่างกัน

จากการเปรียบเทียบ generation time ของพารามีเซียมกอลเดอเบรีย ในน้ำตมต่าง
ที่มีความเข้มข้น ๐.๑%, ๐.๕% และ ๑.๐% ในที่มืด แสงสว่างตามธรรมชาติ และแสง
สว่างจากหลอดไฟฟ้า 2 candles/sq.ft. ของการทดลองทั้งสามครั้ง โดยวิธีวิเคราะห์
ความแปรปรวนแบบทวิ (Two-way analysis of variance) ผลปรากฏว่า
น้ำตมต่างที่มีความเข้มข้นทั้งสาม (A) และแสงสว่างทั้งสาม (B) ต่างก็ไม่ได้ทำให้
generation time ของพารามีเซียมกอลเดอเบรียแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < .05$
จะเกี่ยวกับ ความเข้มข้นของอาหารทั้งสามอย่างและแสงสว่างทั้งสามรวมกัน (A x B)
ก็ไม่มีผลทำให้ generation time ของพารามีเซียมกอลเดอเบรียแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ
ทางสถิติที่ $p < .05$ เช่นเดียวกัน มีแสดงไว้ในตาราง ๓๗.

ตาราง ๕. แสดง generation time ของพารามีเซียมกอกเคตุมบริติช ๓ ปี
ในน้ำที่ความเข้มข้น ๑.๐% บนสไลด์หลอด ทั้งแกว ๑๗ - ๑๘
ตุลาคม ๒๕๑๓ ๑/

เวลา	อุณหภูมิ (องศา ซ.)	แสงตามธรรมชาติ								
		ในน้ำ			แสงตามธรรมชาติ			แสงจากหลอดไฟฟ้า (2 candles/sq.ft.)		
		จำนวนพารามีเซียมในหลอดสไลด์								
		๑	๒	๓	๑	๒	๓	๑	๒	๓
๑๐.๐๐	๓๐.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๑.๐๐	๓๐.๘	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๒.๐๐	๓๑.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๓.๐๐	๓๑.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๔.๐๐	๓๑.๕	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๕.๐๐	๓๑.๘	๑	๑	๒	๒	๑	๒	๑	๑	๒
๑๖.๐๐	๓๑.๓	๒	๑	๒	๒	๑	๒	๒	๒	๒
๑๗.๐๐	๓๑.๐	๒	๑	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๑๘.๐๐	๓๐.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๑๙.๐๐	๓๐.๐	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๒๐.๐๐	๓๐.๐	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๒๑.๐๐	๒๙.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๒๒.๐๐	๒๙.๕	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๒๓.๐๐	๒๙.๕	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๒๔.๐๐	๒๙.๐	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๑.๐๐	๒๙.๐	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๒.๐๐	๒๙.๐	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓.๐๐	๒๙.๐	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๔.๐๐	๒๙.๐	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๕.๐๐	๒๘.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๖.๐๐	๒๘.๘			๒						

เวลา(ช.ม.) เมื่อแบ่ง

กรวย ๓ ปี

๑๘ ๑๙ ๒๐ ๑๕ ๑๕ ๑๕ ๑๗ ๑๗ ๑๘

generation time

ของหลอด

๒.๓๓๓ ๒.๓๓๓ ๒.๖๖๖ ๕.๐๐๐ ๕.๐๐๐ ๕.๐๐๐ ๕.๖๖๖ ๕.๖๖๖ ๕.๐๐๐

การเลี้ยง

generation time

๒.๕๕๕

๕.๐๐๐

๕.๕๕๕

๑/ การทดลองครั้งที่ ๑

ตาราง ๖. แสดง generation time ของพารามีเซียมคอคเคียมบริสุทธิ์ ๓ ตัว
ในน้ำกลั่นที่มีความเข้มข้น ๐.๕ % บนสไลด์หลุม ทั้งเต ๑ - ๔

ตุลาคม ๒๕๑๓ ๑/

เวลา	อุณหภูมิ (องศา ซ.)	ไฟตะมก	แสงตามธรรมชาติ			แสงจากหลอดไฟฟ้า (2 candles/sq.ft.)				
		จำนวนพารามีเซียมในหลุมสไลด์								
		๑	๒	๓	๑	๒	๓	๑	๒	๓
๑๐.๐๐	๓๐.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๑.๐๐	๓๐.๕	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๒.๐๐	๓๑.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๓.๐๐	๓๑.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๔.๐๐	๓๑.๕	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๕.๐๐	๓๑.๕	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๖.๐๐	๓๑.๓	๑	๑	๒	๒	๑	๒	๑	๒	๑
๑๗.๐๐	๓๑.๐	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๑	๒	๑
๑๘.๐๐	๓๐.๕	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๑๙.๐๐	๓๐.๐	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๒๐.๐๐	๓๐.๐	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๒๑.๐๐	๒๙.๕	๒	๔	๒	๒	๔	๔	๒	๔	๒
๒๒.๐๐	๒๙.๕	๒	๔	๔	๔	๔	๔	๒	๔	๔
๒๓.๐๐	๒๙.๕	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๔
๒๔.๐๐	๒๙.๐	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๔
๑.๐๐	๒๙.๐	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๔
๒.๐๐	๒๙.๐	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๔
๓.๐๐	๒๙.๐	๔	๖	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๔
๔.๐๐	๒๙.๐	๔	๖	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๔
๕.๐๐	๒๙.๕	๖	๖	๖	๖	๖	๖	๔	๔	๔
๖.๐๐	๒๙.๕	๖	๖	๖	๖	๖	๖	๔	๔	๔
๗.๐๐	๒๙.๐	๖	๖	๖	๖	๖	๖	๔	๔	๔

เวลา(๒.๓.) ไม่แบ่ง

กรณ ๓ ตัว

๒๑ ๑๕ ๑๕ ๑๗ ๑๕ ๑๗ ๒๑ ๑๖ ๑๗

generation time

ของแกละหลุม

๗.๐๐๐ ๖.๓๓๓ ๖.๓๓๓ ๕.๖๖๖ ๖.๓๓๓ ๕.๖๖๖ ๗.๐๐๐ ๕.๓๓๓ ๕.๖๖๖

การเฉลี่ยของ

generation time

๖.๕๕๕

๕.๘๘๘

๖.๐๐๐

ตาราง ๗. แสดง generation time ของพารามีเซียมคอคเคียมบริสุทธิ์ ๓ ชั่วโมง
ในน้ำคอกฟางที่มีความเข้มข้น ๐.๑% บนสไลด์กลม ทั้งแต่ ๑๑ - ๑๘

ตุลาคม ๒๕๑๓ ๑/

เวลา	อุณหภูมิ (องศา ค.)	จำนวนพารามีเซียมในหลุมสไลด์ที่								
		ในสไลด์			แสงตามธรรมชาติ			แสงจากหลอดไฟฟ้า (2 candles/sq.ft.)		
		๑	๒	๓	๑	๒	๓	๑	๒	๓
๑๐.๐๐	๓๐.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๑.๐๐	๓๐.๕	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๒.๐๐	๓๑.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๓.๐๐	๓๑.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๔.๐๐	๓๑.๕	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๕.๐๐	๓๑.๕	๑	๑	๒	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๖.๐๐	๓๑.๓	๑	๑	๒	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๗.๐๐	๓๑.๐	๒	๑	๒	๒	๒	๑	๑	๒	๒
๑๘.๐๐	๓๐.๕	๒	๑	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๑๙.๐๐	๓๐.๐	๒	๑	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๒๐.๐๐	๓๐.๐	๒	๑	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๒๑.๐๐	๒๙.๕	๒	๒	๔	๓	๓	๒	๒	๒	๒
๒๒.๐๐	๒๙.๕	๓	๒	๔	๔	๔	๒	๒	๒	๒
๒๓.๐๐	๒๙.๕	๔	๒	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๔
๒๔.๐๐	๒๙.๐	๔	๒	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๔
๑.๐๐	๒๙.๐	๔	๒	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๔
๒.๐๐	๒๙.๐	๔	๒	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๔
๓.๐๐	๒๙.๐	๔	๔	๖	๔	๕	๔	๔	๔	๔
๔.๐๐	๒๙.๐	๕	๔	๖	๔	๖	๔	๔	๔	๔
๕.๐๐	๒๙.๕	๖	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๖	๖
๖.๐๐	๒๙.๕	๖	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๖	๖
๗.๐๐	๒๙.๐	๖	๔	๔	๔	๔	๔	๖	๖	๖
๘.๐๐	๒๙.๓	๘	๗	๔	๔	๔	๔	๖	๖	๖
๙.๐๐	๒๙.๕	๘	๗	๔	๔	๔	๔	๖	๖	๖
๑๐.๐๐	๒๙.๕	๘	๗	๔	๔	๔	๔	๖	๖	๖

เวลา (ช.ม.) ไม่แบ่ง

กรณ ๓ ชั่วโมง

๒๒ ๒๓ ๑๔ ๑๕ ๑๕ ๑๘ ๒๓ ๒๑ ๒๔

generation time

ของเชื้อแบคทีเรีย

๙.๓๓๓ ๙.๖๖๖ ๖.๓๓๓ ๖.๓๓๓ ๖.๓๓๓ ๖.๐๐๐ ๙.๖๖๖ ๙.๐๐๐ ๘.๐๐๐

ค่าเฉลี่ย

generation time

๙.๑๑๑

๖.๒๒๒

๙.๖๖๖

ตาราง ๔. แสดงจำนวนพารามีเซียมกอกเคอุมบริสุทธิในน้ำกลั่นแบบสไลด์หุ้ม

ทั้งแถว ๑๑ - ๑๘ ตุลาคม ๒๕๑๓ ๑/

เวลา	อุณหภูมิ (องศา ซ.)	จำนวนพารามีเซียมในหลอดสไลด์								
		ในน้ำกลั่น			แสงตามธรรมชาติ			แสงจากหลอดไฟฟ้า (2 candles/sq.ft.)		
		๑	๒	๓	๑	๒	๓	๑	๒	๓
๑๐.๐๐	๓๐.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๑.๐๐	๓๐.๕	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๒.๐๐	๓๑.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๓.๐๐	๓๑.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๐	๑
๑๔.๐๐	๓๑.๕	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑		๑
๑๕.๐๐	๓๑.๘	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๐		๑
๑๖.๐๐	๓๑.๓	๑	๑	๑	๑	๑	๑			๑
๑๗.๐๐	๓๑.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑			๑
๑๘.๑๑	๓๐.๕	๑	๑	๑	๑	๑	๑			๑
๑๙.๐๐	๓๐.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑			๑
๒๐.๐๐	๓๐.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑			๑
๒๑.๐๐	๒๙.๕	๑	๑	๑	๑	๑	๑			๑
๒๒.๐๐	๒๙.๕	๑	๑	๑	๑	๑	๑			๑
๒๓.๐๐	๒๙.๕	๑	๑	๑	๑	๑	๑			๑
๒๔.๐๐	๒๙.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑			๑
๑.๐๐	๒๙.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑			๑
๒.๐๐	๒๙.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑			๑
๓.๐๐	๒๙.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑			๑
๔.๐๐	๒๙.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑			๑
๕.๐๐	๒๘.๕	๐	๑	๑	๑	๑	๑			๑
๖.๐๐	๒๘.๕		๑	๑	๑	๑	๑			๑
๗.๐๐	๒๘.๐		๑	๒	๒	๑	๑			๑
๘.๐๐	๒๘.๓		๑	๒	๒	๑	๒			๑
๙.๐๐	๒๘.๕		๑	๒	๒	๑	๒			๑
๑๐.๐๐	๒๘.๘		๑	๒	๕	๑	๒			๑

๐ พารามีเซียมตาย

๑/ การทดลองครั้งที่ ๑

ตาราง ๕. แสดง generation time ของพารามีเซียมคอคเคียมวิสต์รี ๓ ตัว
ในน้ำคนฟางที่มีความเข้มข้น ๑.๐% บนสไลด์หลุม ทั้งแกว ๑๐ - ๑๑

ธันวาคม ๒๕๑๓ ๒/

เวลา	อุณหภูมิ (องศา ค.)	ในน้ำค			แสงตามธรรมชาติ			แสงจากหลอดไฟฟ้า (2 candles/sq.ft.)		
		จำนวนพารามีเซียมในหลุมสไลด์								
		๑	๒	๓	๑	๒	๓	๑	๒	๓
๑๔.๐๐	๒๕.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๕.๐๐	๒๕.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๖.๐๐	๒๕.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๗.๐๐	๒๗.๘	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๘.๐๐	๒๗.๖	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๙.๐๐	๒๗.๘	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๒๐.๐๐	๒๗.๕	๑	๑	๑	๑	๒	๑	๒	๑	๑
๒๑.๐๐	๒๗.๐	๒	๑	๒	๒	๒	๑	๒	๑	๒
๒๒.๐๐	๒๗.๐	๒	๑	๒	๒	๒	๑	๒	๑	๒
๒๓.๐๐	๒๗.๐	๒	๒	๒	๒	๒	๑	๒	๑	๒
๒๔.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๑	๒	๒	๒
๑.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๒.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓.๐๐	๒๖.๘	๓	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๔.๐๐	๒๖.๘	๔	๒	๔	๔	๔	๒	๔	๓	๔
๕.๐๐	๒๖.๐	๔	๒	๔	๔	๔	๒	๔	๔	๔
๖.๐๐	๒๖.๐	๔	๔	๔	๔	๔	๒	๔	๔	๔
๗.๐๐	๒๕.๘	๔	๔	๔	๔	๔	๒	๔	๔	๔
๘.๐๐	๒๕.๘	๕	๔	๔	๔	๔	๒	๕	๔	๔
๙.๐๐	๒๖.๐	๕	๔	๔	๔	๔	๓	๕	๔	๔
๑๐.๐๐	๒๖.๘	๕	๔	๕	๔	๔	๔	๕	๔	๔
๑๑.๐๐	๒๗.๕		๕		๕	๕	๔	๕	๔	๕
๑๒.๐๐	๒๗.๕		๕		๕	๕	๕	๕	๔	๕
๑๓.๐๐	๒๕.๐				๕	๕	๕	๕	๕	๕
๑๔.๐๐	๒๕.๘				๕	๕		๕	๕	๕
๑๕.๐๐	๒๕.๗									๕

เวลา (ข.ม.) ไม่

แบ่งกรวย ๓ ชั่วโมง

๒๐ ๒๒ ๒๐ ๒๒ ๒๔ ๒๔ ๒๐ ๒๔ ๒๔

generation time

ของแต่ละหลุม

๖.๖๖๖ ๗.๓๓๓ ๖.๖๖๖ ๗.๓๓๓ ๘.๐๐๐ ๘.๐๐๐ ๖.๖๖๖ ๘.๐๐๐ ๘.๓๓๓

ค่าเฉลี่ยของ

generation time

๖.๘๘๘

๗.๓๓๓

๗.๖๖๖

ตาราง ๑๐. แสดง generation time ของพารามีเซียมกอดเคอเนบริสที่ ๓ ชั่วโมง
ในน้ำคั้นฟางที่ความเข้มข้น ๐.๘ % บนสไลด์หลุม ตั้งแต่ ๑๐ - ๑๑
ธันวาคม ๒๕๑๓ ๒/

เวลา	อุณหภูมิ (องศา ค.)	จำนวนพารามีเซียมในหลุมสไลด์								
		ในที่มืด			แสงตามธรรมชาติ			แสงจากหลอดไฟฟ้า (2 candles/sq.ft.)		
		๑	๒	๓	๑	๒	๓	๑	๒	๓
๑๔.๐๐	๒๕.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๕.๐๐	๒๕.๘	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๖.๐๐	๒๕.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๗.๐๐	๒๕.๘	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๘.๐๐	๒๗.๖	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๙.๐๐	๒๗.๘	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๒๐.๐๐	๒๗.๘	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๒๑.๐๐	๒๗.๐	๒	๑	๑	๒	๒	๒	๑	๑	๑
๒๒.๐๐	๒๗.๐	๒	๑	๑	๒	๒	๒	๑	๒	๑
๒๓.๐๐	๒๗.๐	๒	๑	๒	๒	๒	๒	๑	๒	๑
๒๔.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๑	๒	๑
๒๕.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๒๖.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๒๗.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๒๘.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๒๙.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓๐.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓๑.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓๒.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓๓.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓๔.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓๕.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓๖.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓๗.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓๘.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓๙.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๔๐.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๔๑.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๔๒.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๔๓.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๔๔.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๔๕.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๔๖.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๔๗.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๔๘.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๔๙.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๕๐.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๕๑.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๕๒.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๕๓.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๕๔.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๕๕.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๕๖.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๕๗.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๕๘.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๕๙.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๖๐.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๖๑.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๖๒.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๖๓.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๖๔.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๖๕.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๖๖.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๖๗.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๖๘.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๖๙.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๗๐.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๗๑.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๗๒.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๗๓.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๗๔.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๗๕.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๗๖.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๗๗.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๗๘.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๗๙.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๘๐.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๘๑.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๘๒.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๘๓.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๘๔.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๘๕.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๘๖.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๘๗.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๘๘.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๘๙.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๙๐.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๙๑.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๙๒.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๙๓.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๙๔.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๙๕.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๙๖.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๙๗.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๙๘.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๙๙.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๑๐๐.๐๐	๒๖.๘	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒

เวลา(ช.ม.) ไม่เกิน

กริบ ๓ ชั่วโมง ๒๒ ๒๔ ๒๔ ๒๒ ๒๒ ๒๒ ๒๓ ๒๒ ๒๒

generation time

ของเซลล์เดิม ๓.๓๓๓ ๔.๐๐๐ ๔.๐๐๐ ๓.๓๓๓ ๓.๓๓๓ ๓.๓๓๓ ๔.๐๐๐ ๔.๖๖๖ ๔.๖๖๖

การขยายของ

generation time ๓.๓๓๓ ๓.๓๓๓ ๔.๐๐๐ ๔.๖๖๖

ตาราง ๑๑. แสดง generation time ของพารามีเซียมคอบเคอเพอร์ริสซูทรี ๓ ชั่วโมง
ในน้ำคนหางที่มีความเข้มข้น ๐.๑% บนสไลด์หลุม ตั้งแต่ ๑๐ - ๑๑
ธันวาคม ๒๕๑๓ ๒/

เวลา	อุณหภูมิ (องศา ค.)	ในที่บัง	แสงตามธรรมชาติ			แสงจากหลอดไฟฟ้า (2 candles/sq.ft.)				
		จำนวนพารามีเซียมในหลุมสไลด์ที่								
		๑	๒	๓	๑	๒	๓	๑	๒	๓
๑๔.๐๐	๒๕.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๕.๐๐	๒๕.๕	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๖.๐๐	๒๕.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๗.๐๐	๒๕.๘	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๘.๐๐	๒๕.๖	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๙.๐๐	๒๕.๔	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๒๐.๐๐	๒๕.๕	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๒	๑	๑
๒๑.๐๐	๒๕.๐	๑	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๑	๑
๒๒.๐๐	๒๕.๐	๑	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๑
๒๓.๐๐	๒๕.๐	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๒๔.๐๐	๒๕.๕	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๑.๐๐	๒๕.๕	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๒.๐๐	๒๕.๕	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓.๐๐	๒๕.๕	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๔.๐๐	๒๕.๕	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๕.๐๐	๒๕.๐	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๖.๐๐	๒๕.๐	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๗.๐๐	๒๕.๕	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๘.๐๐	๒๕.๕	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๙.๐๐	๒๕.๐	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๑๐.๐๐	๒๕.๕	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๑๑.๐๐	๒๕.๕	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๑๒.๐๐	๒๕.๕	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๑๓.๐๐	๒๕.๐			๒						๒
๑๔.๐๐	๒๕.๕									๒

เวลา (๒.๕.) เติบโต

กรณี ๓ ชั่วโมง ๒๖ ๒๖ ๒๓ ๒๖ ๒๒ ๒๐ ๒๐ ๒๐ ๒๔

generation time

ของแบคทีเรีย ๓.๓๓๓ ๓.๓๓๓ ๓.๖๖๖ ๓.๓๓๓ ๓.๓๓๓ ๖.๖๖๖ ๖.๖๖๖ ๖.๖๖๖ ๘.๐๐๐

การขยายตัว

generation time ๓.๕๕๕ ๓.๑๑๑ ๓.๑๑๑

๒/ การทดลองครั้งที่ ๒

ตาราง ๑๒. แสดงจำนวนพารามิเตอร์แบบอเลกซ์เบรียลในน้ำกลั่นชนิดหลอด

ตั้งแต่ ๑๐ - ๑๑ ธันวาคม ๒๕๑๓ ๒/

เวลา	อุณหภูมิ (องศา ค.)	แสงจากหลอดไฟฟ้า (2 candles/sq.ft.)								
		ในที่มืด			แสงตามธรรมชาติ			แสงจากหลอดไฟฟ้า		
		จำนวนพารามิเตอร์ในหลอดไส้								
		๑	๒	๓	๑	๒	๓	๑	๒	๓
๑๔.๐๐	๒๕.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๕.๐๐	๒๕.๕	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๖.๐๐	๒๕.๐	๑	๑	๐	๐	๐	๐	๑	๐	๐
๑๗.๐๐	๒๕.๕	๑	๑					๑		
๑๘.๐๐	๒๕.๖	๑	๑					๑		
๑๙.๐๐	๒๕.๘	๑	๑					๑		
๒๐.๐๐	๒๕.๕	๑	๑					๑		
๒๑.๐๐	๒๕.๐	๑	๑					๑		
๒๒.๐๐	๒๕.๐	๑	๑					๑		
๒๓.๐๐	๒๕.๐	๑	๑					๑		
๒๔.๐๐	๒๕.๕	๑	๑					๑		
๑.๐๐	๑๖.๕	๑	๑					๑		
๒.๐๐	๒๕.๕	๑	๑					๑		
๓.๐๐	๒๕.๘	๑	๑					๑		
๔.๐๐	๒๕.๕	๑	๑					๑		
๕.๐๐	๒๕.๐	๑	๑					๑		
๖.๐๐	๒๕.๐	๑	๑					๑		
๗.๐๐	๒๕.๘	๑	๑					๑		
๘.๐๐	๒๕.๘	๑	๑					๑		
๙.๐๐	๒๕.๐	๑	๑					๑		
๑๐.๐๐	๒๕.๕	๑	๒					๑		
๑๑.๐๐	๒๕.๕	๑	๒					๑		
๑๒.๐๐	๒๕.๕	๑	๒					๑		
๑๓.๐๐	๒๕.๐	๑	๒					๑		
๑๔.๐๐	๒๕.๘	๑	๒					๑		
๑๕.๐๐	๒๕.๖	๑	๒					๑		
๑๖.๐๐	๒๕.๖	๑	๒					๑		
๑๗.๐๐	๒๕.๐	๑	๒					๑		

๐ พารามิเตอร์แบบอเลกซ์เบรียล

๒/ การทดลองครั้งที่ ๒

ตาราง ๑๓. แสดง generation time ของพารามีเซียมกอลเดอเบรียสที่ ๓ ชั่วโมง
ในน้ำคั้นฟางที่ความเข้มข้น ๑.๐% บนสไลด์กลม ทั้งแกว ๑๖ - ๑๗
ธันวาคม ๒๕๐๓ ๓/

เวลา	อุณหภูมิ (องศา ซ.)	ไต้ที่มีก			แสงตามธรรมชาติ			แสงจากหลอดไฟฟ้า (2 candles/sq.ft.)		
		จำนวนพารามีเซียมในหลุมสไลด์								
		๑	๒	๓	๑	๒	๓	๑	๒	๓
๑๑.๐๐	๒๗.๘	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๒.๐๐	๒๘.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๓.๐๐	๒๘.๓	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๔.๐๐	๒๘.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๕.๐๐	๒๘.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๖.๐๐	๒๘.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๗.๐๐	๒๘.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๘.๐๐	๒๗.๕	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๙.๐๐	๒๗.๒	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๒๐.๐๐	๒๗.๐	๑	๒	๑	๑	๒	๑	๑	๑	๑
๒๑.๐๐	๒๗.๐	๒	๒	๑	๑	๒	๑	๑	๑	๑
๒๒.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๑	๑	๒
๒๓.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๒๔.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๒๕.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๒๖.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๒๗.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๒๘.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๒๙.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓๐.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓๑.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓๒.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓๓.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓๔.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓๕.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓๖.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓๗.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓๘.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓๙.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๔๐.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๔๑.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๔๒.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๔๓.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๔๔.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๔๕.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๔๖.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๔๗.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๔๘.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๔๙.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๕๐.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๕๑.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๕๒.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๕๓.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๕๔.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๕๕.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๕๖.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๕๗.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๕๘.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๕๙.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๖๐.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๖๑.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๖๒.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๖๓.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๖๔.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๖๕.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๖๖.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๖๗.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๖๘.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๖๙.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๗๐.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๗๑.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๗๒.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๗๓.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๗๔.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๗๕.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๗๖.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๗๗.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๗๘.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๗๙.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๘๐.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๘๑.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๘๒.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๘๓.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๘๔.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๘๕.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๘๖.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๘๗.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๘๘.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๘๙.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๙๐.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๙๑.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๙๒.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๙๓.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๙๔.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๙๕.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๙๖.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๙๗.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๙๘.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๙๙.๐๐	๒๖.๙	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒

เวลา(ช.ม.) เมื่อแบ่ง

กริบ ๓ ชั่วโมง

๒๒ ๒๑ ๒๔ ๒๓ ๒๒ ๒๑ ๒๓ ๒๔ ๒๔

generation time

ของแต่ละหลอด

๗.๓๓๓ ๗.๐๐๐ ๘.๐๐๐ ๗.๖๖๖ ๗.๓๓๓ ๗.๐๐๐ ๗.๖๖๖ ๘.๐๐๐ ๘.๐๐๐

การเติบโตของ

generation time

๗.๔๔๔

๗.๓๓๓

๗.๘๘๘

ตาราง ๑๔. แสดง generation time ของพารามีเซียมกอลเคอมบริสุทธิ ๓ ตัว
ในน้ำคัพางที่มีความเข้มข้น ๐.๕ % บนสไลด์หลุม ทั้ง ๒๖ - ๓๓
ธันวาคม ๒๕๑๓ ๓/

เวลา	อุณหภูมิ (องศา ค.)	ในที่มืด			แสงตามธรรมชาติ			แสงจากหลอดไฟฟ้า (2 candles/sq.ft.)		
		จำนวนพารามี เรียบมีในหลุมสไลด์								
		๑	๒	๓	๑	๒	๓	๑	๒	๓
๑๑.๐๐	๒๗.๘	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๒.๐๐	๒๘.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๓.๐๐	๒๘.๓	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๔.๐๐	๒๘.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๕.๐๐	๒๘.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๖.๐๐	๒๘.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๗.๐๐	๒๘.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๘.๐๐	๒๗.๘	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๙.๐๐	๒๗.๒	๑	๑	๒	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๒๐.๐๐	๒๗.๐	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๑	๑	๑
๒๑.๐๐	๒๗.๐	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๑	๑	๑
๒๒.๐๐	๒๖.๕	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๑	๑
๒๓.๐๐	๒๖.๕	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๒๔.๐๐	๒๕.๕	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๑.๐๐	๒๕.๕	๒	๒	๔	๑	๔	๒	๒	๒	๒
๒.๐๐	๒๕.๕	๒	๔	๔	๔	๔	๔	๒	๒	๒
๓.๐๐	๒๕.๕	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๒	๒
๔.๐๐	๒๖.๐	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๔
๕.๐๐	๒๖.๐	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๔
๖.๐๐	๒๖.๐	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๔	๔
๗.๐๐	๒๕.๐	๔	๔	๖	๖	๔	๖	๔	๔	๔
๘.๐๐	๒๕.๘	๖	๖	๖	๖	๖	๖	๖	๖	๖
๙.๐๐	๒๕.๘	๖	๖	๖	๖	๖	๖	๖	๖	๖
เวลา (ข.ม.) เมื่อแบ่ง										
กรวย ๓ ตัว		๒๑	๒๒	๒๑	๒๐	๒๑	๒๐	๒๑	๒๒	๒๑
generation time										
ของแต่ละหลุม		๗.๐๐๐	๗.๓๓๓	๗.๐๐๐	๖.๖๖๖	๗.๐๐๐	๖.๖๖๖	๗.๐๐๐	๗.๓๓๓	๗.๐๐๐
ค่าเฉลี่ยของ										
generation time		๗.๑๑๑			๖.๗๗๗			๗.๑๑๑		

การวาง ๑๕. แสดง generation time ของพารามีเซียมกอลเดอเบรียลัส ๓ ชั่วโมง
ในน้ำหมักที่มีความเข้มข้น ๐.๑% บนสไลด์คลุม ทั้งเก่า ๑๖ - ๑๗
จำนวน ๒๕๑๓ ๓/

เวลา	อุณหภูมิ (องศา ซ.)	ในที่มืด			แสงตามธรรมชาติ			แสงจากหลอดไฟฟ้า (2 candles/sq.ft.)		
		จำนวนพารามีเซียมในหลอดสไลด์								
		๑	๒	๓	๑	๒	๓	๑	๒	๓
๑๑.๐๐	๒๗.๕	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๒.๐๐	๒๘.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๓.๐๐	๒๘.๓	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๔.๐๐	๒๘.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๕.๐๐	๒๘.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๖.๐๐	๒๘.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๗.๐๐	๒๘.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๘.๐๐	๒๗.๕	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๙.๐๐	๒๗.๒	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๒๐.๐๐	๒๗.๐	๑	๑	๒	๒	๑	๒	๑	๑	๑
๒๑.๐๐	๒๗.๐	๑	๒	๒	๒	๑	๒	๑	๑	๑
๒๒.๐๐	๒๖.๕	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๑	๒	๒
๒๓.๐๐	๒๖.๕	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๑	๒	๒
๒๔.๐๐	๒๖.๕	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๒๕.๐๐	๒๖.๕	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๒๖.๐๐	๒๖.๕	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๒๗.๐๐	๒๖.๕	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๒๘.๐๐	๒๖.๐	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๒๙.๐๐	๒๖.๐	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓๐.๐๐	๒๖.๐	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓๑.๐๐	๒๖.๐	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓๒.๐๐	๒๖.๐	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓๓.๐๐	๒๖.๐	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓๔.๐๐	๒๖.๐	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓๕.๐๐	๒๖.๐	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓๖.๐๐	๒๖.๐	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓๗.๐๐	๒๖.๐	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓๘.๐๐	๒๖.๐	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๓๙.๐๐	๒๖.๐	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๔๐.๐๐	๒๖.๐	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒
๔๑.๐๐	๒๖.๕	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒	๒

เวลา(ช.ม.) เมื่อแบ่ง

ครบ ๓ ชั่วโมง

๒๓ ๒๓ ๒๒ ๒๓ ๒๔ ๒๒ ๒๓ ๒๒ ๒๒

generation time

ของแบคทีเรีย

๗.๖๖๖ ๗.๖๖๖ ๗.๓๓๓ ๗.๖๖๖ ๘.๐๐๐ ๗.๓๓๓ ๗.๖๖๖ ๗.๓๓๓ ๗.๓๓๓

ค่าเฉลี่ยของ

generation time

๗.๕๕๕

๗.๖๖๖

๗.๕๕๕

๓/ การทดลองครั้งที่ ๓

ตาราง ๑๖. แสดงจำนวนพารามิเตอร์เชื่อมก่อกำหนดวิธีในน้ำกลั่นในหลอด

ตั้งแต่ ๑๖ - ๑๗ ธันวาคม ๒๕๑๓ ๓/

เวลา	อุณหภูมิ (องศา ค.)	จำนวนพารามิเตอร์เชื่อมในหลอด								
		ในที่มืด			แสงตามธรรมชาติ			แสงจากหลอดไฟฟ้า (2 candles/sq.ft.)		
		๑	๒	๓	๑	๒	๓	๑	๒	๓
๑๑.๐๐	๒๗.๔	๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๒.๐๐	๒๕.๐	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑	๑
๑๓.๐๐	๒๕.๓	๐	๐	๐	๑	๑	๑	๐	๑	๑
๑๔.๐๐	๒๕.๐				๑	๑	๑		๑	๑
๑๕.๐๐	๒๕.๐				๑	๑	๐		๑	๑
๑๖.๐๐	๒๕.๐				๑	๑			๑	๑
๑๗.๐๐	๒๕.๐				๑	๑			๑	๑
๑๘.๐๐	๒๗.๕				๑	๑			๑	๑
๑๙.๐๐	๒๗.๒				๑	๑			๑	๑
๒๐.๐๐	๒๗.๐				๑	๑			๑	๑
๒๑.๐๐	๒๗.๐				๑	๑			๑	๑
๒๒.๐๐	๒๖.๕				๑	๑			๑	๑
๒๓.๐๐	๒๖.๕				๑	๑			๑	๑
๒๔.๐๐	๒๕.๕				๑	๑			๑	๑
๑.๐๐	๒๕.๕				๑	๑			๑	๑
๒.๐๐	๒๕.๕				๑	๑			๑	๑
๓.๐๐	๒๕.๕				๑	๑			๑	๑
๔.๐๐	๒๖.๐				๑	๑			๑	๑
๕.๐๐	๒๖.๐				๑	๑			๑	๑
๖.๐๐	๒๖.๐				๑	๑			๑	๑
๗.๐๐	๒๕.๐				๑	๑			๑	๑
๘.๐๐	๒๕.๘				๑	๑			๑	๑
๙.๐๐	๒๕.๘				๑	๑		๒	๑	
๑๐.๐๐	๒๖.๐				๑	๑		๒	๑	
๑๑.๐๐	๒๖.๕				๑	๑		๒	๑	

๐ พารามิเตอร์เชื่อมตาย

๓/ การทดลองครั้งที่ ๓

ตาราง ๑๓. การวิเคราะห์ความแปรปรวน generation time ของพารามีเซียม
กอกเคอเบริคัล ในน้ำคัมฟางที่มีความเข้มข้นต่างกัน (A) และ
ในปริมาณแสงสว่างที่ต่างกัน (B)

Source of variation	SS	df	MS	F	p
ความเข้มข้นของน้ำคัมฟาง (A)	๑.๘๖๑๖๓๖	๒	๐.๙๓๐๘๑๘	๑.๘๘๘๖๖๐	< .๐๕
ปริมาณแสงสว่าง (B)	๒.๘๘๓๐๘๑	๒	๑.๔๔๑๕๔๐	๑.๘๔๑๐๘๑	
A X B	๐.๓๑๘๘๖๐	๔	๐.๐๗๙๗๑๕	๐.๑๐๑๔๑๐	
Error	๕๖.๓๗๔๐๗๔	๓๒	๐.๗๖๒๓๓๓		
Total	๖๑.๔๓๖๖๖๖	๔๐			

๕. ศึกษาการสืบพันธุ์แบบออกโทแกมีของพารามีเซียมกอกเคอเบริคัล

ผลการศึกษากการสืบพันธุ์แบบออกโทแกมีของพารามีเซียมกอกเคอเบริคัลทั้ง ๑๒ แห่ง
ตั้งแต่ ๑๑ ธันวาคม ๒๕๑๓ - ๑๕ มกราคม ๒๕๑๔ พบว่ามีออกโทแกมีเกิดขึ้นกับพารามีเซียม
เพียง ๔ แห่งเท่านั้น คือ No.3, No.4, No.9 และ No.12 ตาราง ๑๔.

ตาราง ๘. แสดงการเกิดอโทแกมมีของพารามีเซียมกอกเคตุมบริสุทธิ ๑๒ แพะ

วันตรวจ	เดือน	ปี	เวลา	พารามีเซียมกอกเคตุม No.															
				๑	๒	๓	๔	๕	๖	๗	๘	๙	๑๐	๑๑	๑๒				
				๑ ๒	๑ ๒	๑ ๒	๑ ๒	๑ ๒	๑ ๒	๑ ๒	๑ ๒	๑ ๒	๑ ๒	๑ ๒	๑ ๒	๑ ๒	๑ ๒	๑ ๒	๑ ๒
๑๔	ธันวาคม	๒๕๐๓	๑๐.๓๐	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๑๕	"	"	๑๐.๓๕	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๑๖	"	"	๑๓.๐๐	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๑๗	"	"	๘.๓๐	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๑๘	"	"	๑๑.๐๐	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๑๙	"	"	๑๒.๐๐	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๒๐	"	"	๑๒.๐๐	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๒๑	"	"	๑๔.๓๐	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๒๒	"	"	๑๖.๐๐	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๒๓	"	"	๑๒.๐๐	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๒๔	"	"	๑๒.๑๒	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๒๕	"	"	๑๑.๓๕	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
๒๖	"	"	๑๕.๐๐	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๒๗	"	"	๑๕.๐๐	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๒๘	"	"	๑๐.๓๐	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๒๙	"	"	๑๐.๐๐	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๓๐	"	"	๑๐.๑๐	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๓๑	"	"	๕.๐๐	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
๑	มกราคม	๒๕๑๔	๑๐.๐๐	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๒	"	"	๕.๐๐	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๓	"	"	๑๓.๐๐	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๔	"	"	๑๐.๐๐	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๕	"	"	๕.๕๐	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๖	"	"	๑๐.๑๕	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๗	"	"	๑๐.๑๐	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๘	"	"	๑๐.๓๐	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๙	"	"	๑๑.๑๐	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
๑๐	"	"	๑๒.๐๐	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๑๑	"	"	๑๓.๐๐	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๑๒	"	"	๑๐.๑๐	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๑๓	"	"	๑๐.๑๐	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๑๔	"	"	๑๑.๐๐	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๑๕	"	"	๕.๕๐	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+ พยอโทแกมมี

- ไม่พยอโทแกมมี

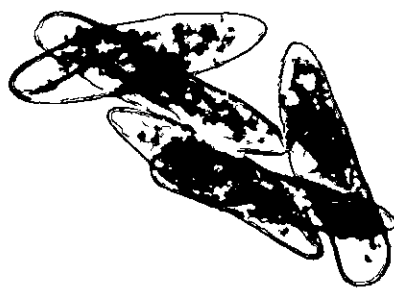
๒. การศึกษาการสืบพันธุ์แบบกอนจูเกชันของพารามีเซียมกอลเดอเบรียสกี

ผลการศึกษาการสืบพันธุ์แบบกอนจูเกชันของพารามีเซียมกอลเดอเบรียสกี ๑๒ แห่ง ผลปรากฏว่ามีกอนจูเกชันเกิดขึ้นกับพารามีเซียมเพียง ๓ แห่งเท่านั้น คือ No.8 กับ No.9 และ No.8 กับ No.10 (ตาราง ๘. รูปที่ ๑๐, ๑๑, ๑๒) ในการเกิดกอนจูเกชันนี้สิ่งที่เห็นได้ชัด คือ หลังจากรวมพารามีเซียม No.8 กับ No.9 หรือ No.8 กับ No.10 เข้าด้วยกันแล้ว ตั้งแต่นั้นพารามีเซียมมองไว้มากกว่าเดิม หลังจากรวมกัน ๒-๓ นาที จะเริ่มเกาะกันเป็นกลุ่ม ๆ กลุ่มละ ๒-๔ ตัว ในลักษณะของกอนจูเกท บางกลุ่มเกาะกันอยู่ประมาณ ๕ นาทีก็เริ่มแยกออกจากกัน บางกลุ่มเกาะกันนานหลายชั่วโมง และในที่สุดก็เริ่มแยกออกจากกัน

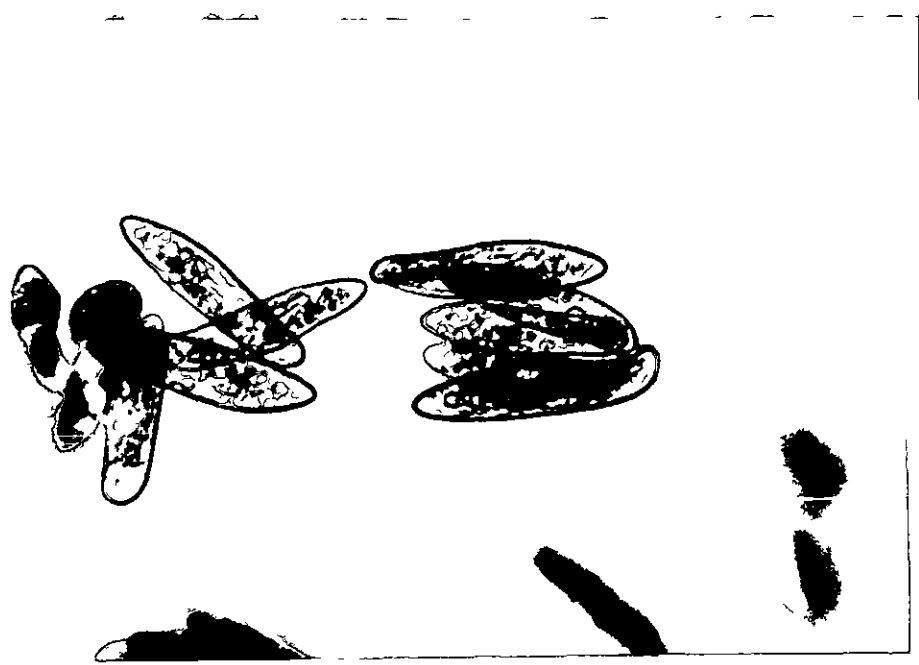
ตาราง ๘. แสดงการเกิดกอนจูเกชันของพารามีเซียมกอลเดอเบรียสกี ๑๒ แห่ง
ตั้งแต่ ๑๕ ธันวาคม ๒๕๑๓ - ๓๐ มกราคม ๒๕๑๔.

<u>P. caudatum</u> No.	๑	๒	๓	๔	๕	๖	๗	๘	๙	๑๐	๑๑	๑๒
๑		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๒			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
๓				-	-	-	-	-	-	-	-	-
๔					-	-	-	-	-	-	-	-
๕						-	-	-	-	-	-	-
๖							-	-	-	-	-	-
๗								-	-	-	-	-
๘									+	+	-	-
๙										-	-	-
๑๐											-	-
๑๑												-

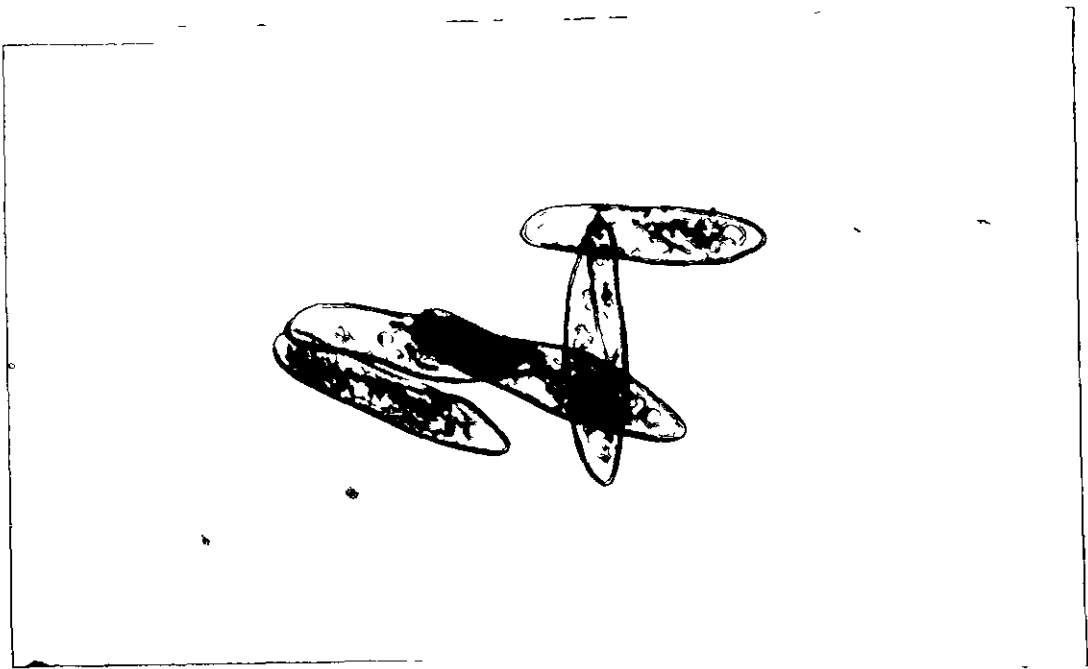
นำ P. caudatum ตามแนวตั้งไปรวมกับ P. caudatum ตามแนวนอนในแถวเดียวกัน
+ เกิดกอนจูเกชัน
- ไม่เกิดกอนจูเกชัน



รูปที่ ๑๐ การฟักตัวแบบคอบูเกนของพารามีเซียมกอดเคตุนบริสุทธิ์ No.8
กับ No.9 เกิดการจับกลุ่ม (Clumping) ภายหลังจาก
รวมกัน ๒ นาที (ประมาณ ๕๕ x)



รูปที่ ๑๑ การตีพิมพ์เชื้อแบบกอนจูเก็นของพาราไมเวียมกอดเคตุมบริสุทธิ No.8
กับ No.10 เกิดการจับกลุ่มภายหลังจากรวมกัน ๒ นาที
(ประมาณ ๔๕ x)



รูปที่ ๑๒ การฉีกตัวแบบก่อนจุกของพารามีเซียมกอลิฟอร์เนีย (No.8
กับ No.9) ทดจากรูปที่ ๑๐ หลังจากการจับกุมแล้วประมาณ
๔ นาที พบว่า นางกุกเริ่มจับและแยกออกจากกูดุม (ประมาณ ๔๕ x)

บทที่ ๕

สรุปผล อภิปรายผล และขอเสนอแนะ

สรุปผล ผลการทดลองสรุปเป็นข้อ ๆ ได้ดังนี้

๑. พารามีเซียมกอลเดียมนำมาเลี้ยงให้บริสุทธิ์ได้ในน้ำคัมฟางที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว โดยใช้อาหารกือบกเทรีที่เพาะเลี้ยงไว้ พารามีเซียมที่นำมาเพาะเลี้ยงทำให้บริสุทธิ์ปราศจากโปรโตซัวชนิดอื่นใดได้โดยวิธีแยกด้วยไม้ปลายแหลม และแยกล้างในน้ำกลั่น ภายใน ๗ ครั้ง
๒. พารามีเซียมกอลเดียมเจริญได้ดีในน้ำคัมฟางที่นิ่งฆ่าเชื้อโดยใช้ความเข้มข้นสูง ๆ - แล้วเพาะบักเทรีหลายชนิดรวมกันเพื่อใช้เป็นอาหารของพารามีเซียม ความเข้มข้นของน้ำคัมฟางสามระดับที่ทำการทดลองพบว่า น้ำคัมฟางที่มีความเข้มข้น ๑.๐ % ทำให้อัตราการเจริญเติบโตดีกว่าน้ำคัมฟางที่มีความเข้มข้น ๐.๕ % และ ๐.๑ % คือ นับจำนวนเฉลี่ยได้สูงที่สุดถึง ๔๐ ตัวต่อน้ำคัมฟาง ๐.๐๔ ซีซี ในสัปดาห์ที่สอง อัตราการเจริญเติบโตดังกล่าวมักจะขึ้น ๆ ลง ๆ ไม่สม่ำเสมอ แต่พารามีเซียมกอลเดียมสามารถมีชีวิตอยู่ได้นานในน้ำคัมฟางที่มีความเข้มข้น ๐.๕ % คือ อยู่ในช่วง ๑๐๔.๖ - ๑๕๐.๓ วัน
๓. พารามีเซียมกอลเดียมที่เลี้ยงบนสไลด์หลุมซึ่งมีปริมาณของอาหารเพียงเล็กน้อยแบ่งตัวได้ก็เป็นปรกติ การแบ่งเริ่มเมื่อพารามีเซียมเจริญเติบโตเต็มที่ นับตั้งแต่เริ่มแบ่งจนกระทั่งเสร็จสิ้นใช้เวลา ๑ - ๒ ชั่วโมง พารามีเซียมที่เกิดจากการแบ่งตัวมีขนาดเท่ากัน ลักษณะค่อนข้างรี และเซลล์ใหม่ทั้งสองจะเจริญเติบโตเต็มที่ใช้เวลา ๒ - ๓ ชั่วโมง
๔. ค่าเฉลี่ยของ generation time ที่ได้จากการเลี้ยงพารามีเซียมกอลเดียม ๓ ชั่วโมง ในน้ำคัมฟางที่มีความเข้มข้นและปริมาณแสงสว่างต่างกันปรากฏว่า
 - (ก) น้ำคัมฟางที่มีความเข้มข้น ๐.๑ % ในที่มีค แสงสว่างตามธรรมชาติ และแสงสว่างจากหลอดไฟฟ้า 2 candles/sq.ft. generation time ที่หาได้มีค่าแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยคือ ๗.๓๖๙, ๖.๙๘๙ และ ๗.๔๐๗ ตามลำดับ
 - (ข) น้ำคัมฟางที่มีความเข้มข้น ๐.๕ % ในที่มีค แสงสว่างตามธรรมชาติ

และแสงสว่างจากหลอดไฟฟ้า 2 candles/sq.ft. generation time ที่หาได้มีค่าแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยคือ ๗.๑๔๗, ๖.๖๖๖ และ ๗.๒๔๖ ตามลำดับ

(ค) น้ำคั้นฟางที่มีความเข้มข้น ๑.๐ % ในที่มีค แสงสว่างตามธรรมชาติ และแสงสว่างจากหลอดไฟฟ้า 2 candles/sq.ft. generation time ที่หาได้มีค่าใกล้เคียงกันมากคือ ๖.๘๖๕, ๖.๗๐๓ และ ๖.๘๘๕ ตามลำดับ

สำหรับพารามีเซียมที่เลี้ยงในน้ำกลั่นส่วนมากตายในระหว่างการทดลอง ส่วนที่เหลือแบ่งตัวชามากและบางตัวก็ไม่แบ่งตัวเลย

๕. การเปรียบเทียบ generation time ของพารามีเซียมคอเคตุมในน้ำคั้นฟางที่มีความเข้มข้น ๐.๑ %, ๐.๕ % และ ๑.๐ % ในที่มีค แสงสว่างตามธรรมชาติ และแสงสว่างจากหลอดไฟฟ้า 2 candles/sq. ft. ปรากฏว่า ระดับความเข้มข้นของน้ำคั้นฟางทั้งสาม และแสงสว่างที่ต่างกันดังกล่าวก่อให้เกิดความแตกต่างของ generation time อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < .๐๕$) ระดับความเข้มข้นของน้ำคั้นฟางทั้งสามและแสงสว่างดังกล่าวแล้วรวมกัน ก็ไม่มีผลทำให้ generation time แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < .๐๕$) เช่นเดียวกัน

๖. ออโทแกมมีเกิดขึ้นในพารามีเซียมคอเคตุม เฉพาะกับพารามีเซียม No.3, No.4, No.9 และ No. 12 จากทั้งหมด ๑๒ แห่ง

๗. พารามีเซียมคอเคตุมบริสุทธิ์ที่ได้นำทั้ง ๑๒ แห่ง มีค่า strain กันเพียงบางแห่ง เมื่อนำมารวมกันจะเกิดคอนจูเกชันเฉพาะกับพารามีเซียมคอเคตุม No.8 รวมกับ No. 9 และ No. 8 รวมกับ No. 10 เท่านั้น

อภิปรายผล

เราอาจทดลองเลี้ยงพารามีเซียมคอเคตุมได้อย่างบริสุทธิ์ในห้องปฏิบัติการโดยไม่จำกัดเวลา การหาพารามีเซียมคอเคตุมที่นำมาใช้ในการศึกษาค้นคว้าได้ไม่ยากนัก เทคนิคและวิธีการแยกพารามีเซียมให้บริสุทธิ์ปราศจากโปรโตซัวชนิดอื่น โดยแยกด้วยไม้ปลายแหลม และทำให้

เจริญในน้ำกลั่นหลาย ๆ ครั้งเป็นวิธีการที่ได้ผลดี พารามีเซียมที่แยกโดยวิธีนี้ไม่สูญเสียความแข็งแรงแต่อย่างใด วิธีการเช่นนี้สามารถจะคัดแปลงนำไปใช้กับโปรโตซัวชนิดอื่นได้เป็นอย่างดี น้ำคัมพางที่นิ่งช้าเร็วโดยใช้ความดันสูง ๆ ซึ่งเพาะบักเตรีหลายชนิดรวมกันเหมาะสำหรับการเจริญเติบโตของพารามีเซียมกอลเคตม พารามีเซียมที่นำมาเพาะเลี้ยงจะเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว และสามารถมีชีวิตอยู่ในน้ำคัมพางได้เป็นเวลาหลายเดือน สะดวกแก่การเก็บรักษา พารามีเซียมไว้ใช้ศึกษาในห้องเรียนห้องปฏิบัติการ โดยไม่จำเป็นต้องถ่ายไปยังอาหารใหม่ อยู่เสมอ อาหารที่นิ่งช้าเร็วแล้วเก็บรักษาไว้ใช้ได้เป็นเวลาหลายเดือนโดยไม่เสีย เมื่อจะใช้ จึงนำเอาบักเตรีที่เป็นอาหารของพารามีเซียมมาเพาะ

จากผลการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของพารามีเซียมกอลเคตมบริสุทธิ์ ในน้ำคัมพางที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กันปรากฏว่า น้ำคัมพางที่มีความเข้มข้น ๑.๐ % ทำให้อัตราการเจริญเติบโตของพารามีเซียมสูงที่สุดในระหว่างสัปดาห์ที่ ๒ - ๓ อัตราการเจริญเติบโตน้อยไม่สม่ำเสมอที่น้ำคัมพาง ๑.๐ % ทำให้อัตราการเจริญเติบโตของพารามีเซียมสูงที่สุด คงจะเป็นเพราะความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของอาหารกับการเจริญเติบโตของบักเตรีมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของพารามีเซียม คือ ในการทดลองครั้งนี้ความเข้มข้นของน้ำคัมพาง ๑.๐ % ทำให้บักเตรีเจริญเติบโตได้ดีที่สุด เมื่อมีบักเตรีเป็นอาหารอย่างอุดมสมบูรณ์ ดังนั้นพารามีเซียมจึงแบ่งตัวได้ดีที่สุดด้วย

การที่อัตราการเจริญเติบโตขึ้นสูงในระยะเริ่มแรกคือในระหว่างสัปดาห์ที่ ๒ - ๓ นั้น คงจะเป็นเพราะพารามีเซียมในระยะเริ่มแรกยังมีความหนาแน่นน้อย การสะสมของเสียมีน้อย สภาพของสิ่งแวดล้อมเหมาะสม เช่นมีออกซิเจนเพียงพอ p^H ของอาหารยังไม่มีเปลี่ยนแปลง

๑
Anos W. Peters, "Chemical studies on the cell and its medium part I, Method for the study of liquid culture media," Ameri. Jour. Physio. 17:443 - 477, 1970. (citing "The growth of Paramecium in pure culture of bacteria," The Journal of Experimental Zoology 22:421 - 454, February, 1971. by Geo T. Hargitt and Walter W. Fray).

๒
R.P. Hall, Protozoology, p. 476.

แต่ในตอนหลังสภาพแวดล้อมเหล่านี้เปลี่ยนแปลงไป จึงทำให้อัตราการเจริญเติบโตลดน้อยลง
 ควบ อัตราการเจริญเติบโตที่มากน้อยไม่สม่ำเสมอ นั้นคงเนื่องมาจากอุณหภูมิไม่สม่ำเสมอ
 การทดลองครั้งนี้ผู้ศึกษาไม่ได้ควบคุมอุณหภูมิ อุณหภูมิของห้องทดลองเปลี่ยนแปลงอยู่เสมอ เพราะ
 การทดลองตามเกี่ยวกับในระหว่างฤดูฝนกับฤดูแล้ง ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่า อุณหภูมิมีผลต่ออัตรา
 การเจริญเติบโตของพารามีเซียมคอเคคัมที่ทดลอง หรือ อาจจะเป็นเพราะอาหารที่ใช้เลี้ยง
 พารามีเซียมมีแบคทีเรียหลายชนิดรวมกัน แบคทีเรียบางชนิดเจริญได้ดีในระยะเริ่มแรกจากนั้นก็เริ่ม
 ลดลง^๒ ขณะที่เริ่มลดลงนั้นก็ยังมีแบคทีเรียชนิดใหม่เจริญขึ้นมาอีก การเจริญของแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ
 มักจะเกิดขึ้นต่อเนื่องกันไปเป็นระยะ ๆ ด้วยเหตุนี้จึงอาจจะเป็นไปได้ว่า อัตราการเจริญ
 เติบโตของพารามีเซียมที่มากน้อยไม่สม่ำเสมอ นั้นมีส่วนสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย
 ที่ใช้เป็นอาหารด้วย,

ผลจากการศึกษาการสืบพันธุ์แบบไบนารีฟิชชันของพารามีเซียมคอเคคัมบนสไลด์หลอดที่มี
 ปริมาณของอาหารเพียงเล็กน้อย อาจกล่าวได้ว่าพารามีเซียมแบ่งตัวได้ดี อาหารที่ให้เพียง
 ครั้งเดียว มันสามารถแบ่งได้หลายชั่ว ตามที่สังเกตในการทดลอง generation time
 ที่หาได้ค่อนข้างเร็ว (ระยะเวลาสั้น) ภายในเวลา ๒๔ ชั่วโมง แบ่งแบบไบนารีฟิชชันได้
 ๓ - ๔ ชั่ว

การทดลองเปรียบเทียบ generation time ของพารามีเซียมคอเคคัมในน้ำคัม
 ฟางที่มีความเข้มข้นและปริมาณแสงสว่างต่างกัน ผลที่ได้ปรากฏว่าระดับความเข้มข้นของน้ำคัมฟาง
 ทั้งสามและแสงสว่างคงกล่าวแล้วต่างก็ไม่ทำให้ generation time ต่างกันอย่างมี

^๑ Woodruff L.L., and Bartsell G.L., "The reproduction of Paramecium in a 'constant' culture medium of beef extract," The Journal of Experimental Zoology 11:135 - 142, July, 1911 c.

^๒ Geo T. Hargitt, and Walter W. Fray, "The growth of Paramecium in pure culture of bacteria," The Journal of Experimental Zoology 22:421 - 454, February, 1971.

นัยสำคัญทางสถิติ ความเข้มข้นของน้ำคัมฟางทั้งสามและแสงสว่างทั้งสามร่วมกันต่างก็ไม่มีผลต่อ generation time เช่นเดียวกัน ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะ generation time ที่นำมาเปรียบเทียบนั้น ได้มาจากการแบ่งตัวของพารามีเซียมข่อยชั่ว (๓ ชั่ว) จนเกินไป ซึ่งชั่วระยะเวลาสั้น ๆ เช่นนี้คงจะยังไม่ทำให้เห็นความแตกต่างของ generation time ได้อย่างชัดเจน ถ้าเป็นไปตามที่ Giese^๑ ได้ทดลองแล้วก็แสดงให้เห็นว่า แสงไม่มีผลต่ออัตราการแบ่งตัวของพารามีเซียมกอกเคคุมแควบางโค

ผลจากการศึกษาการสืบพันธุ์แบบออโทแกมมีของพารามีเซียมกอกเคคุม ๑๒ แห่งพบว่า ออโทแกมมีมีเกิดขึ้นเฉพาะกับพารามีเซียมกอกเคคุม No.3, No.4, No.9 และ No.12 เท่านั้น ออโทแกมมีที่ตรวจพบเป็นเพียงบางครั้งบางคราว และเป็นเพียงระยะการเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียสเท่านั้น ส่วนการสร้าง cytoplasmic cone ตรวจไม่พบเลย ทั้งนี้คงจะเป็นเพราะระยะเวลาที่ทำการตรวจอยู่ในช่วงระยะเวลาที่ห่างกันมากจนเกินไป หรืออาจจะเป็นไปได้ว่า ออโทแกมมีในพารามีเซียมกอกเคคุมไม่มีการสร้าง cytoplasmic cone เช่นใน P. aurelia^๒ แต่รายละเอียดเกี่ยวกับเรื่องนี้ในพารามีเซียมกอกเคคุมยังไม่เป็นที่ทราบกันแน่นอน Sonneborn^๓ เสนอว่า ออโทแกมมีอาจจะเกิดขึ้นในพารามีเซียมกอกเคคุมบาง variety ถ้าเป็นไปจริงตามข้อเสนอนี้แล้ว พารามีเซียมที่ตรวจพบออโทแกมมี อาจจะเป็นพารามีเซียม variety เดียวกันหรือต่าง variety กัน

ตามที่ Sonneborn^๓ ได้ศึกษากันแล้วเกี่ยวกับ mating types ของ P. aurelia อย่างกว้างขวางพบว่า ถ้า P. aurelia เป็น complementary mating types กันแล้ว เมื่อนำมารวมกันจะเกิดการเกาะกลุ่มกัน (clumping) เป็นจำนวนมาก

^๑ Arthur C. Giese, Research in Protozoology, p. 276.

^๒ T.M. Sonneborn, "Breeding system, reproductive method, and species problems in protozoa," in The species problem, pp. 239 - 240.

^๓ Ibid. pp. 162 - 236.

ส่วนในพารามีเซียมคอเคตุมที่ศึกษาในครั้งนี้ปรากฏว่า เมื่อรวมพารามีเซียมคอเคตุม No.8 กับ No. 9 หรือ No.8 กับ No.10 เข้าด้วยกันแล้ว พารามีเซียมเกิดการเกาะกลุ่มกันทันที หลังจากเกาะกันได้ไม่นานส่วนมากจะแยกตัวออกจากกัน มีเป็นบางคู่ที่เกาะกันเป็นเวลานาน การแยกตัวออกจากกันหลังจากเกาะกันได้ไม่นานคงจะเป็นเพราะสภาพของสิ่งแวดล้อมไม่เหมาะสม ความที่สังเกตพบว่าการเกาะกลุ่มกันจะเกิดเฉพาะบางเวลา และเกิดเฉพาะเวลาที่มีอากาศเย็นเท่านั้น

ถ้าเป็นไปตามข้อสันนิษฐาน (assumption) เช่นใน P. aurelia แล้วก็แสดงว่า พารามีเซียมคอเคตุมที่เกาะกลุ่มกันนั้น เป็น complementary mating types ซึ่งกันและกัน การเกาะกลุ่มกันเกิดเฉพาะกับพารามีเซียมคอเคตุม No. 8 กับ No.9 และ No. 8 กับ No.10 รวมกัน แสดงว่าพารามีเซียม No. 8 กับ No.9 และ No. 8 กับ No. 10 ต่างก็เป็น complementary mating types ซึ่งกันและกัน ถ้าเป็นไปเช่นเดียวกับ P. aurelia และ P. caudatum No. 9 กับ No. 10 ก็ควรจะเป็นพารามีเซียม strain เดียวกัน

ข้อเสนอแนะ

๑. เครื่องมือทุกชนิดที่ใช้ในการแยกพารามีเซียมจะต้องผ่านการฆ่าเชื้อมาแล้วเป็นอย่างดี น้ำต้มฟางที่ใช้เพาะมักแคร์ีสำหรับเป็นอาหารของพารามีเซียมจะต้องนิ่งฆ่าเชื้อโดยใช้เวลาต้มสูง ๆ

๒. การเลี้ยงพารามีเซียมคอเคตุมให้บริสุทธิ์ สำหรับเก็บไว้ใช้ศึกษาในห้องเรียนห้องปฏิบัติการ ควรจะเลี้ยงในน้ำต้มฟางที่มีความเข้มข้น ๑.๐ % เก็บไว้ในห้องธรรมดา และการจะถ่ายพารามีเซียมไปยังอาหารใหม่ทุก ๆ ๒ เดือน การถ่ายไปยังอาหารใหม่ทุกครั้ง เครื่องมือที่ใช้จะต้องผ่านการฆ่าเชื้อมาแล้วเป็นอย่างดี

๓. ควรจะได้มีการศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของพารามีเซียม ในน้ำต้มฟางที่มีระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กันให้มากยิ่งขึ้น และควรจะได้มีการควบคุมอุณหภูมิด้วย

๔. ควรจะได้มีการศึกษาเปรียบเทียบ generation time ของพารามีเซียมชนิดต่าง ๆ generation time ที่ใช้ในการเปรียบเทียบควรจะได้มาจากการแบ่งแบบไบนารีพหุชั้น ๕ ชั่วโมงหรือมากกว่า

๕. ควรจะได้มีการศึกษาการสืบพันธุ์แบบออกโทแกมีของพารามีเซียมคอเคตุมให้กว้างขวางมากยิ่งขึ้น การตรวจสอบควรจะทำในช่วงระยะเวลาที่ใกล้เคียงกัน และทำการศึกษาเป็นระยะเวลานาน ๆ

๖. ควรจะได้มีการศึกษาการสืบพันธุ์แบบคอนจูเกชันของพารามีเซียมคอเคตุม และพารามีเซียมชนิดอื่น ๆ ที่มีอยู่ตามแอ่งน้ำในประเทศไทยให้กว้างขวางมากกว่าที่เป็นอยู่ในขณะนี้ และควรจะได้ศึกษาให้ทราบรายละเอียดถึง mating types ของโปรโตซัวชนิดนี้.

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

สุรวดี วิสุทธิแพทย์, การขยายพันธุ์ของพารามีเซียมแบบ binary fission,
วิทยานิพนธ์ ปริญญาตรี คณะกลีกรรมและสัตวบาล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,
๒๕๐๖, ๒๒ หน้า.

Anderson, Bertil Gottfrid, "A new culture medium for Paramecium,"
Science, 90:448, November, 1939.

Conolly, Dorothy, Reisner, A. H., and Sobey, W.R., "A growth medium
for the mass culture of Paramecium," The Australian Journal
of Science, 24:144 - 145, September, 1961.

Gatenby, J. Bronte, and Beams, H.W., The Microtome's vade-mecum,
The Blakiston Co., Philadelphia, 1950, 753 pp.

Giese, Arthur C., Research in Protozoology, edited by Tze-Tuan Chen,
Pregamon Press Ltd., Oxford, 1967, 4 Vols.

Guyer, Michael F., and Bean, Elizabeth A., Animal micrology, The
University of Chicago Press, Chicago, 1953, 327 pp.

Hall, R.P., Protozoology, Charles E. Tuttle Co., Tokyo, 1961, 682 pp.

Hargitt, Geo T., and Fray, Walter W., "The growth of Paramecium in
pure culture of bacteria," The Journal of Experimental Zoology,
22:421 - 454, February, 1917.

Hegner, Robert W., and Engemann, Joseph G., Invertebrate Zoology,
The Mcmillan Co., London, 1969, 619 pp.

Jahn, Theodore Louis, and Jahn, Frances Floed, How to Know the Protozoa,
WM.C. Brown Co., Iowa, 1949, 234 pp.

Johnson, W.H., and Barker, E.G.S., "The sterile culture of Paramecium
multimicronucleatum," Science, 95:333 - 334, March, 1942.

Kudo, Richard R., Protozoology, Charles C. Thomas, Illinois, 1961,
1174 pp.

Loofer, J.B., "Bacteria - free culture of Paramecium bursaria and
concentration of medium as a factor in growth," The Journal
of Experimental Zoology, 72:387 - 407, February, 1936.

Phelps, Austin, and Fernandez, Bernal, "A simple method for obtaining protozoa in pure culture," Revista de Biologia Tropical, 8:263 - 268, December, 1960.

Phillips, Ruth L., "The growth of Paramecium infusions of known bacteria content," The Journal of Experimental Zoology, 36:135 - 183, August, 1922.

Sonneborn, T.M., "Breeding system, reproductive method, and species problems in protozoa," in The species problem, pp.155 - 324, edited by Ernst Mayr, American Association for the Advancement of Science, Washington D.C., 1957.

Storer, Tracy I., and Usinger, Robert L., General Zoology, McGraw-Hill book Company Inc., New York, 1957, 644 pp.

Winer, B.J., Statistical Principles in Experimental Design, McGraw-Hill book company Inc., New York, 1962, 672 pp.

Woodruff, L.L., and Baitsell, G.L., "The reproduction of Paramecium in a 'constant' culture medium of beef extract," The Journal of Experimental Zoology, 11:135 - 142, July, 1911c.

การผูกพัน

สูตรสถิติที่ใช้คำนวณ

$$(1) = G^2 / npq$$

$$(2) = \sum X^2_{ijk}$$

$$(3) = (\sum A_i^2) / nq$$

$$(4) = (\sum B_j^2) / np$$

$$(5) = [\sum (A_i B_j)^2] / n$$

Summary of variance

Source of variation	SS	df	MS	F
A (ความเข้มของอาหาร)	(3)-(1) = SSa	p - 1	SSa/p-1 = MSa	
B (ปริมาณแสงสว่าง)	(4)-(1) = SSb	q - 1	SSb/q-1 = MSb	
A X B	(5)-(3)-(4)+(1) = SSab	(p-1)(q-1)	SSab/(p-1)(q-1) = MSab	
Error	(2)-(5) = SS _c	pq(n-1)	SS _c /pq(n-1) = MS _c	
Total	(2) - (1)	N - 1		