

วส 9.47
พ 17 ก
9.2

THE LIBRARY
COLLEGE OF EDUCATION
BANGKOK, THAILAND

การศึกษาสำหรับ Volvox

A Study on Volvox

ปริญาานิพนธ์

ของ

เกรียงไกร กองสวัสดิ์

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต

30 สิงหาคม 2517

* 647

วส 9.47
พ 17 ก
9.2

คณะกรรมการที่ปรึกษาประจำตัวนี้สัดได้พิจารณาปริญญานิพนธ์ฉบับนี้แล้ว
ให้สมควรรับ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาค้นคว้าหลักสูตร ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ได้.

ศาสตราจารย์ ดร. ศิริพร

ประธาน

นางสาว เก่งใจ

กรรมการ

30 สิงหาคม 2517

ประกาศกณูปการ

การศึกษารังนี้สำเร็จได้ก็ด้วยที่เนื่องจากผู้เขียนได้รับคำแนะนำช่วยเหลืออย่างถึง
จาก อวารยสมศักดิ์ แสนสุข หัวหน้าแผนกชีววิทยา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ประสาธมิตร และ อาจารย์ประเสริฐ เกียรติประวัติ แผนกชีววิทยา
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสาธมิตร ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ด้วย
นอกจากนี้ ขอขอบคุณ คุณเพชร สระทองไล ที่กรุณาช่วยเหลือในการพิมพ์ภาพแบบ
offset คุณรัตนา พุกพูน ซึ่งช่วยเหลือในการพิมพ์ และ คุณสุภาจรี ภัทรपाल
ช่วยเหลือในด้านอื่น ๆ

พรณี คงสวี่

สารบัญ

บทที่		หน้า
1	คำนำ	1
	ความมุ่งหมายในการศึกษา	2
	ความสำคัญของการศึกษา	2
	ขอบเขตของการศึกษา	2
2	เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา	3
3	วัสดุและวิธีการ	12
	วัสดุ	12
	วิธีการ	14
	วิธีเตรียม Soil - Water Culture	16
	วิธีเตรียม Axenic Culture	17
4	ผลการศึกษา	19
	การศึกษาเพื่อแยกสปีชีส์	19
	ลักษณะพื้นฐาน การสืบพันธุ์ และโภชนาการของแต่ละสปีชีส์	19
	<u>Volvox carteri</u>	19
	<u>Volvox gigas</u>	24
	<u>Volvox rousseletii</u>	26
	วิธีการนำสาหร่าย <u>Volvox</u> ไปเป็นอุปกรณ์การสอน	
	และการวิจัย	32

บทที่		หน้า
5	สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	36
	สรุปผล	36
	อภิปรายผล	38
	ข้อเสนอแนะ	42
	บรรณานุกรม	
	ภาคผนวก	

บัญชีตาราง

ตาราง		หน้า
1	แสดงสัญลักษณ์สถานที่ และผู้แยกสำหรับ <u>Volvox</u>	12
2	แสดงชนิดของดินและสถานที่ที่โคคินัน	15
3	แสดงความสมบูรณ์แข็งแรงของ <u>V. carteri f. nagariensis</u> สเตรน BK 6 - 74 ใน Soil - Water Culture 5 ชุค ตรวจในชั่วที่ 3	22
4	แสดงจำนวนโคโคโคนในชั่วที่ 3 ของ <u>V. carteri f. nagariensis</u> สเตรน BK 1-73 ใน Axenic Culture 3 ชุค	23
5	แสดงความสมบูรณ์แข็งแรงของ <u>V. gigas</u> สเตรน BK 4-73 ใน Soil Water Culture 5 ชุค ตรวจในชั่วที่ 3	28
6	แสดงจำนวนโคโคโคนในชั่วที่ 3 ของ <u>V. gigas</u> สเตรน BK 4-73 ใน Axenic Culture 3 ชุค	29
7	แสดงความสมบูรณ์แข็งแรงของ <u>V. rousseletii</u> สเตรน KK 2-73 ใน Soil - Water Culture 5 ชุค ตรวจในชั่วที่ 3	34
8	แสดงจำนวนโคโคโคนในชั่วที่ 3 ของ <u>V. rousseletii</u> สเตรน KK 2-73 ใน Axenic Culture 3 ชุค	35

บัญชีกราฟ

กราฟ	หน้า
1 แสดงช่วงเวลาเฉลี่ยของการเจริญในชั่วที่ 1, 2, 3 ของ <u>V. carteri</u> f. <u>nagariensis</u> สเตรน BK6 - 74 ใน Soil - Water Culture 5 ชุค .	22
2 แสดงช่วงเวลาเฉลี่ยของการเจริญในชั่วที่ 1, 2, 3 ของ <u>V. carteri</u> f. <u>nagariensis</u> สเตรน BK1 - 73 ใน Axenic Culture 3 ชุค	23
3 แสดงช่วงเวลาเฉลี่ยของการเจริญในชั่วที่ 1, 2, 3 ของ <u>V. gigas</u> สเตรน BK4 - 73 ใน Soil Water Culture 5 ชุค	28
4 แสดงช่วงเวลาเฉลี่ยของการเจริญในชั่วที่ 1, 2, 3 ของ <u>V. gigas</u> สเตรน BK4 - 73 ใน Axenic Culture 3 ชุค	29
5 แสดงช่วงเวลาเฉลี่ยของการเจริญในชั่วที่ 1, 2, 3 ของ <u>V. rousseletii</u> สเตรน KK2 - 73 ใน Soil - Water Culture 5 ชุค	34
6 แสดงช่วงเวลาเฉลี่ยของการเจริญในชั่วที่ 1, 2, 3 ของ <u>V. rousseletii</u> สเตรน KK2 - 73 ใน Axenic Culture 3 ชุค	35

คำนำ

สาหร่าย *Volvox* เป็นสาหร่ายน้ำจืดสีเขียวชนิดหนึ่งซึ่งทั้ง Smith (8) และ Bold (1) ต่างก็จัดไว้เป็นพืช (Genus) หนึ่งใน Division Chlorophyta, Class Chlorophyceae, Order Volvocales, Family Volvocaceae ลักษณะสำคัญของสาหร่ายในจีนัสนี้คือ มีเซลล์จำนวนมากมาอยู่รวมกันเป็นโคโลนี (colony) รูปทรงกลมกลางและเคลื่อนไหวได้ เซลล์แต่ละเซลล์มีลักษณะเป็น Chlamydomonad Type (2) กล่าวคือเป็นเซลล์ที่มีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ มีแฟลกเจลลา (flagella) สองเส้นอยู่ทางส่วนหน้าของเซลล์ คลอโรพลาสต์ (Chloroplast) รูปถ้วยหรือเป็นแผ่นบาง เซลล์เหล่านี้จะเรียงตัวเป็นชั้นเดียวอยู่ตามผิวของโคโลนี ตรงกลางโคโลนีจะกลวงและภายในส่วนที่กลวงนี้มีโคโลนีที่เกิดใหม่อยู่จำนวนหนึ่งซึ่งจำนวนและการจัดเรียงตัวแตกต่างกันไปตามสปีชีส์ (Species) และความสมบูรณ์แข็งแรงของโคโลนี โคโลนีนี้มีรูปร่างซึ่งแสดงทิศทางในการเคลื่อนที่อย่างเด่นชัดคือมีส่วนหน้า (anterior) และส่วนท้าย (posterior) ในขณะที่มันเคลื่อนที่นั้น โคโลนีจะหมุนคล้ายการหมุนของตาปูควงโดยเอาส่วนหน้าไปก่อน

สาหร่ายในจีนัสนี้อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำต่าง ๆ เช่น สระ บ่อ คู และแอ่งน้ำเล็ก ๆ จากการศึกษาของ Smith (7) พบว่าในฤดูใบไม้ผลิจะมีสาหร่ายชนิดนี้เจริญขึ้นเป็นจำนวนมากจนทำให้มองเห็นน้ำสีเขียวได้ และเมื่อถึงฤดูร้อนก็จะหายไป สำหรับในประเทศไทยนั้นในต้นฤดูฝนสาหร่ายในจีนัสนี้จะเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ได้จำนวนมากเช่นเดียวกัน และเมื่อถึงปลายฤดูฝนจะหายไป ในตอนต้นของฤดูที่มีการเจริญเติบโตจะมีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (Asexual Reproduction) คือเซลล์บางเซลล์ในโคโลนีมีขนาดโตขึ้นแล้วแบ่งตัวสร้างโคโลนีใหม่ได้ ส่วนการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (Sexual Reproduction) มักเกิดในตอนปลายของฤดูที่มีการเจริญเติบโต ซึ่งจะมีโคโลนีที่แสดงเพศสร้างเซลล์สืบพันธุ์คือไข่ (egg) สำหรับใน

โคโลนีเพชเมียบ และสร้างสเปิร์มในโคโลนีเพชยู หลังจากที่ใช้สมกับสเปิร์มแล้วจะได้ไซโกทที่มีผนังหนาหุ้ม เมื่อโคโลนีที่สร้างไซโกทแตกสลายไปแล้ว ไซโกทก็จะออกไปเจริญเป็นโคโลนีใหม่ต่อไป

สำหรับ Volvox เป็นพืชชั้นต่ำชนิดหนึ่งที่ใช้ในการศึกษาเกี่ยวกับการเจริญเปลี่ยนแปลงในสิ่งมีชีวิต เพราะว่าโคโลนีมีเซลล์เพียงสองชนิดเท่านั้น สำหรับชนิดที่พบในประเทศต่างๆ นั้นได้มีผู้แยกไปศึกษาในแขนงต่าง ๆ ของวิชาชีววิทยาหลายแขนงด้วยกัน ซึ่งรวมทั้งอนุกรมวิธานวิทยา สัณฐานวิทยา และสรีรวิทยา แต่สำหรับในประเทศไทยยังมิได้มีผู้ศึกษาในเรื่องเหล่านี้

ความมุ่งหมายในการศึกษา

1. ศึกษาสำหรับ Volvox เพื่อแยกสปีชีส์
2. ศึกษาและเปรียบเทียบลักษณะสัณฐาน การสืบพันธุ์ และโภชนาการของสำหรับ Volvox แต่ละสปีชีส์ในห้องปฏิบัติการ
3. ศึกษาวิธีการนำสำหรับ Volvox ไปเป็นอุปกรณ์การสอนและการวิจัย

ความสำคัญของการศึกษา

1. ผลของการศึกษาสำหรับ Volvox ครั้งนี้มีประโยชน์ต่อการวิจัยเกี่ยวกับสำหรับชนิดนี้ในโอกาสต่อไป
2. เทคนิคและวิธีการที่ใช้ในการศึกษาเป็นประโยชน์ต่อการเรียนการสอนวิชาชีววิทยาในระดับมัธยมศึกษาและอุดมศึกษา

ขอบเขตของการศึกษา

การศึกษานี้ศึกษาเฉพาะสำหรับ Volvox ที่สำรวจพบตามแหล่งน้ำจืดในประเทศไทย และสามารถแยกมาเลี้ยงให้บริสุทธิ์ได้

เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

Smith (6) ได้กล่าวถึงความเป็นมาของการศึกษาสาหร่าย Volvox ว่าในราวปี ค.ศ. 1700 Leewenhock ได้เห็น Volvox เป็นคนแรกจากกล้องจุลทรรศน์ที่เขาประดิษฐ์ขึ้นแล้วเรียก Volvox ว่าเป็น "animalcules" ชนิดหนึ่ง ส่วนชื่อ Volvox นั้น Linnous ได้เป็นผู้ตั้งขึ้นเมื่อ ค.ศ. 1758 และได้อธิบายลักษณะของสาหร่ายชนิดนี้ไว้โดยถือเอา V. globator เป็นบรรทัดฐาน ลักษณะของ V. globator ที่ Linnous กล่าวไว้นั้นเป็นลักษณะพื้น ๆ ทั่วไปของ Volvox ดังนั้นคำอธิบายดังกล่าวจึงอาจจะนำมาใช้อธิบายลักษณะของ Volvox ได้ทุกสปีชีส์ ในการจัดอนุกรมวิธานของสาหร่ายในจีนัสนี้ไ้มีผู้จัดหลายแบบและเปลี่ยนแปลงกันมาหลายครั้ง ในที่สุดการจัดตามแบบของ Printz ก็ได้เป็นที่ยอมรับกันมากกว่าของผู้อื่น กล่าวคือ Printz ได้ลดจำนวนจีนัสที่ Shaw (1716 - 1822) ได้จัด Volvox (ตามความหมายในปัจจุบัน) ไว้เป็นหกจีนัสคือ Besseyosphaera, Campbelliosphaera, Merrillosphaera, Copelandosphaera, Janetosphaera และ Volvox สาหร่ายที่สังกัดอยู่ในห้าจีนัสแรกมีลักษณะใกล้เคียงกับสาหร่ายที่สังกัดอยู่ในจีนัสสุดท้าย สำหรับในจีนัสสุดท้ายนี้ Shaw ถือว่าเป็น Volvox ที่แท้จริงเพียงจีนัสเดียวเท่านั้น Printz (1927) ได้เสนอให้สาหร่ายทั้งหกจีนัสตามแบบที่ Shaw จัดขึ้นไว้ข้างต้นนั้นมีฐานะเป็น Volvox เพียงจีนัสเดียวโดยยุบทั้งหกจีนัสมาตั้งเป็นเซกชัน (Section) สังกัดอยู่ในจีนัส Volvox นั่นเอง การยุบจีนัสเหล่านั้น Printz ได้ลดจำนวนลงสองจีนัสซึ่ง Smith ก็เห็นพ้องควายกับการยุบดังกล่าวนี้คือ ประการแรกที่ Shaw ได้จัด Campbelliosphaera ไว้โดยถือลักษณะเด่นที่โคโลนีเกิดใหม่จะกลับข้างในออก (inversion) ซึ่งตามความจริงแล้วการกลับข้างในออกเป็นลักษณะประจำของ Volvox ในทุกชนิด ประการที่สองนั้น Shaw ได้จัด Besseyosphaera โดยถือลักษณะที่มีเซลล์จำนวนมากและโกนิดีย (gonidia) เจริญในระยะหลังของการเจริญเติบโต ซึ่งลักษณะนี้จะนำมาเป็นเกณฑ์เพื่อแยกเป็นเซกชันใหม่ไม่ได้ เพราะว่าในเซกชันอื่น ๆ ก็มีลักษณะนี้ เมื่อ

Pritz ได้ยบสองจีนส์นี้แล้วก็จัดจีนส์ที่เหลือเป็นเชกชั้นต่าง ๆ และเพิ่มขึ้นอีกหนึ่งเชกชั้น รวมทั้งหกเป็นสี่เชกชั้นสังกัดอยู่ในจีนส์ Volvox แต่ละเชกชั้นมีลักษณะเฉพาะและมีสปิชีส์สังกัดอยู่ดังนี้

เชกชั้น 1 Merrillosphaera มีลักษณะเฉพาะคือเซลล์มีรูปร่างกลมเมื่อมองจากด้านข้าง ไม่มีสายของไซโทพลาสซึมเชื่อมต่อกันระหว่างเซลล์ (cytoplasmic strand) มีวุ้นหุ้มเซลล์แต่ละเซลล์ โกลีเดียมีขนาดใหญ่คือมีเส้นผ่าศูนย์กลางยาวเกิน 30μ และโกลีเดียเริ่มเจริญขึ้นในระยะต้นของการเจริญของเอ็มบริโอ (embryo) สปิชีส์ที่สังกัดอยู่ในเชกชั้นนี้ได้แก่ V. spermatosphaera Power, V. carteri Stein, V. obversus (Shaw) Printz, V. tertius Meger, V. gigas Pocock, V. powersii (Shaw) Printz และ V. africanus West.

เชกชั้น 2 Janetosphaera มีลักษณะเฉพาะคือ เซลล์มีรูปร่างกลมเมื่อมองจากด้านข้าง มีสายของไซโทพลาสซึมเชื่อมต่อกันระหว่างเซลล์ซึ่งสายนี้มีขนาดใกล้เคียงกันกับขนาดของแฟลกเจลลา วุ้นที่หุ้มรอบเซลล์เชื่อมติดต่อกันเป็นเนื้อเดียวกัน ภายในโคโลนีมีวุ้นอยู่ตรงกลาง และมีสายยื่นออกมาเป็นรัศมี โกลีเดียมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ $15 - 20\mu$ สปิชีส์ที่สังกัดอยู่ในเชกชั้นนี้ได้แก่ V. aureus Ehrenberg และอีกสปิชีส์หนึ่งคือ V. pocockiae ซึ่งจากการศึกษาของ Starr (11) พบว่าสังกัดอยู่ในเชกชั้นนี้ด้วย

เชกชั้น 3 Copelandosphaera มีลักษณะเฉพาะคือ เซลล์มีรูปร่างกลมเมื่อมองจากด้านข้าง มีสายของไซโทพลาสซึมเชื่อมต่อกันระหว่างเซลล์ สายนี้มีขนาดเล็กกว่าขนาดของแฟลกเจลลา มีวุ้นหุ้มเซลล์แต่ละเซลล์แยกกันเป็นสัดส่วน ภายในโคโลนีไม่มีวุ้น โกลีเดียมีขนาดกลาง สปิชีส์ที่สังกัดอยู่ในเชกชั้นนี้ได้แก่ V. dissipatrix (Shaw) Printz

เชกชั้น 4 Euvolvox มีลักษณะเฉพาะคือ เซลล์มีส่วนของไซโทพลาสซึมยื่นออกมาเป็นรัศมีคล้ายดาวเมื่อมองจากด้านข้าง มีสายของไซโทพลาสซึมที่ขนาดค่อนข้างใหญ่ มีวุ้นหุ้มเซลล์แต่ละเซลล์แยกกันเป็นสัดส่วน ภายในโคโลนีมีวุ้นบรรจุอยู่เต็ม โกลีเดียมีขนาดค่อนข้างเล็กคือเส้นผ่าศูนย์กลางน้อยกว่า 15μ โกลีเดียเจริญขึ้นในระยะหลังของการเจริญของโคโลนี ไซโทพลาสซึมของเซลล์ตายลงซึ่งมีอยู่เพียงเชกชั้นเดียว สปิชีส์ที่สังกัดอยู่ในเชกชั้นนี้ได้แก่

V. globator Linnaeus; emend Ehrenberg, V. capensis Rich and Pocock,

V. merrilli Shaw, V. barberi Shaw, V. amboensis Rich and Pocock,

V. perglobator Powers, V. prolificus Iyengar, V. rousseletii West.

Smith (6) ได้ศึกษาลักษณะพื้นฐานของโคโลนีและเซลล์พวกรูปร่างของโคโลนีที่ศึกษาทางกล้องจุลทรรศน์พบว่าเกือบทุกสปีชีส์จะมีโคโลนีที่ไม่แสดงเพศรูปกลมรี (ellips) แต่อาจมีความยาวและความกว้างแตกต่างกันไป ซึ่งบางสปีชีส์จะต่างกันเล็กน้อยทำให้มีรูปร่างเกือบกลม (globose) ส่วนรูปร่างของโคโลนีที่แสดงเพศในเกือบทุกสปีชีส์ยกเว้นบางสปีชีส์ในเซกชัน Merrillosphaera จะมีรูปร่างเช่นเดียวกับโคโลนีที่ไม่แสดงเพศ สำหรับสปีชีส์ที่แตกต่างออกไปนั้นเช่น V. gigas มีโคโลนีที่ไม่แสดงเพศรูปร่างกลมรี แต่โคโลนีเพศผู้รูปไข่ (ovoid) ในเรื่องขนาดของโคโลนีนั้น โคโลนีที่ไม่แสดงเพศขนาดใหญ่ที่สุดจะแตกต่างกันไปตามสปีชีส์และความสมบูรณ์แข็งแรง โคโลนีที่แสดงเพศปรกติจะมีขนาดเล็กกว่าโคโลนีที่ไม่แสดงเพศ ในสปีชีส์ที่แยกเพศซึ่งสังกัดอยู่ในเซกชัน Merrillosphaera มีโคโลนีเพศผู้ที่ขนาดเล็กมากอย่างเห็นได้ชัด เมื่อเทียบกับโคโลนีเพศเมียและโคโลนีที่ไม่แสดงเพศ ในเรื่องจำนวนเซลล์นั้นแม้ว่าในการแยกสปีชีส์จะไม่ใช้จำนวนเซลล์เป็นเกณฑ์ก็ตาม แต่ก็ใช่ว่าลักษณะเฉพาะของสปีชีส์ในเซกชันใดบ้าง เซกชัน Merrillosphaera มีจำนวนเซลล์ประมาณ 5,000 เซลล์ และในเซกชัน Euvolvox จะมีจำนวนเซลล์อย่างต่ำ 10,000 เซลล์ สำหรับจำนวนเซลล์ในโคโลนีที่แสดงเพศของสปีชีส์ที่รวมเพศและโคโลนีเพศเมียของสปีชีส์ที่แยกเพศจะมีจำนวนใกล้เคียงกับโคโลนีที่ไม่แสดงเพศ โคโลนีเพศผู้ในสปีชีส์ที่แยกเพศในเซกชัน Euvolvox มีจำนวนเซลล์เท่ากับโคโลนีเพศเมียและโคโลนีที่ไม่แสดงเพศ

จากการศึกษาเรื่องเซลล์ที่ประกอบกันเป็นโคโลนี Smith (6) พบว่าเซลล์มีรูปร่างต่างกันไปตามรูปร่างคล้ายผลฝรั่ง (Pyreiform) ซึ่งเป็นรูปร่างของเซลล์ในเซกชัน Euvolvox ส่วนในเซกชันอื่น ๆ มีเซลล์รูปร่างเกือบกลม กลมรี และรูปไข่ เมื่อมองจากทางด้านข้างแล้วเซลล์ของสาหร่ายในเซกชัน Euvolvox จะมีขอบเซลล์เป็นรัศมียื่นออกมาคล้ายดาว ส่วนในเซกชันอื่น ๆ จะมีขอบเซลล์กลม สำหรับลักษณะโครงสร้างของเซลล์นั้นเป็นเซลล์ส่วนใหญ่ในโคโลนีนั้น Smith (8) พบว่าแต่ละเซลล์มีแฟลกเจลลา 2 เส้น ค่อนข้างโค้ง แวกคิวโอล

(Contractile vacuolo 2 อันซึ่งอยู่ในบริเวณฐานของแฟลกเจลลา หรืออาจมี 2 - 3 อันกระจายอยู่ในบริเวณส่วนหน้าของเซลล์ มีคลอโรพลาสต์รูปถ้วย (cup shaped) หรือเป็นแผ่น (laminate) อยู่ทางส่วนท้ายของเซลล์ ไพเรโนอิด (pyrenoid) 1 อัน นิวเคลียส (nucleus) อยู่ตรงกลางเซลล์และมีใยประสาทติดต่อกับแฟลกเจลลา อายสปอต (eyespot) 1 อันอยู่ทางส่วนหน้าของเซลล์ อีกประการหนึ่งสายของไซโทพลาสซึมที่เชื่อมต่อระหว่างเซลล์ก็เป็นลักษณะสำคัญที่ใช้ในการแยกสปีชีส์ได้ด้วย สำหรับ *Volvox* ทุกสปีชีส์ในสกุล *Merrillospheera* ไม่มีสายของไซโทพลาสซึม ส่วนสปีชีส์อื่น ๆ นั้นมี เซลล์เหล่านี้แต่ละเซลล์มีวงแหวน เซลล์ที่อยู่ติดต่อกันนั้นจะเชื่อมกันสนิท และเนืกรเซลล์เหล่านั้นเอาไว้

ลักษณะพื้นฐานของโคโลนีและเซลล์ใน *V. carteri* ที่ Smith (6) ศึกษาไว้ มีดังนี้คือ มีขนาดของโคโลนีค้ำที่ผ่านอิมเมอร์ 420 - 540 μ ค้ำที่ผ่านหัว 480 - 600 μ รูปร่างเกือบกลม จำนวนเซลล์ 2100 - 6100 เซลล์ โคโลนีที่แสดงเพศก็มีรูปร่างเกือบกลม เซลล์มีรูปร่างเกือบกลม ไม่มีสายของไซโทพลาสซึมเชื่อมต่อกันระหว่างเซลล์

ลักษณะพื้นฐานของโคโลนีและเซลล์ใน *V. gigas* ที่ Smith (6) ศึกษาไว้มีดังนี้คือ ขนาดของโคโลนีค้ำที่ผ่านอิมเมอร์ 1615 - 2,800 μ ค้ำที่ผ่านหัว 1700 - 3135 μ รูปร่างกลมรี จำนวนเซลล์ 1000 - 3000 เซลล์ โคโลนีเพศเมียมีรูปร่างเกือบกลม ขนาดและจำนวนเซลล์ใกล้เคียงกันกับโคโลนีไม่แสดงเพศ โคโลนีเพศผู้มีขนาดค้ำที่ผ่านอิมเมอร์ 732 - 1141 μ ค้ำที่ผ่านหัว 794 - 1292 μ รูปร่างเป็นรูปไข่ จำนวนเซลล์มากถึง 1000 เซลล์ เซลล์มีรูปร่างกลมรี ไม่มีสายของไซโทพลาสซึมเชื่อมต่อกันระหว่างเซลล์

ลักษณะพื้นฐานของโคโลนีและเซลล์ใน *V. rousseletii* มีดังนี้คือขนาดของค้ำที่ผ่านอิมเมอร์ 690 - 2058 μ ค้ำที่ผ่านหัว 754 - 2180 μ (6) และจากการศึกษาของ McCracken และ Starr (4) พบว่าโคโลนีมีรูปร่างเป็นรูปไข่มีจำนวนเซลล์ 20,000 - 30,000 เซลล์ซึ่งแบ่งเป็น 2 ชนิดคือเซลล์ส่วนใหญ่ประกอบเป็นโคโลนีและเซลล์ส่วนน้อยเป็นเซลล์สืบพันธุ์ โคโลนีที่แสดงเพศก็มีขนาด รูปร่าง และจำนวนเซลล์ใกล้เคียงกันกับโคโลนีที่ไม่แสดงเพศ สามารถแยกออกจากกันได้โดยอาศัยเซลล์สืบพันธุ์เท่านั้น ส่วนขนาดของโคโลนีจะเพิ่มขึ้นมากตั้งแต่ระยะที่ออกจากโคโลนีเดิมจนกระทั่งเจริญเติบโตเต็มที่ ซึ่งการเพิ่ม

ขนาดนี้เนื่องมาจากการเพิ่มของวุ้นที่หุ้มเซลล์เป็นส่วนใหญ่ โคลนีที่เกิดขึ้นใหม่และยังเจริญเติบโต ไม่เต็มที่แล้วเซลล์จะอยู่ใกล้กัน เมื่อโคลนีมีขนาดโตขึ้นเซลล์จะอยู่ห่างกันเนื่องจากมีวุ้นหุ้มเซลล์หนาขึ้นและมีสายของไฮโทพลาสซึมขนาดใหญ่โผล่อยู่ระหว่างเซลล์ เมื่อมองจากด้านข้างจะเห็นเซลล์มีรูปร่างคล้ายดาว ในขณะที่เซลล์อยู่ห่างกันออกมาสายของไฮโทพลาสซึมจะมีขนาดเล็กกลง ในโคลนีที่เจริญเติบโตเต็มที่นั้น สายของไฮโทพลาสซึมจะมีขนาดใหญ่ตรงบริเวณที่ติดกับตัวเซลล์เท่านั้น

การสืบพันธุ์ของสาหร่าย *Volvox* มีทั้งแบบไม่อาศัยเพศและแบบอาศัยเพศสลับกันไป Smith (8) พบว่าปรกติแล้วสาหร่าย *Volvox* ที่พบตามแหล่งน้ำจืดต่าง ๆ จะสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศครั้งหนึ่งแล้วจะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศอีกหลายครั้ง โกลนีไม่แสดงเพศที่เจริญเติบโตเต็มที่จะมีเซลล์ทำหน้าที่สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ หรือที่เรียกว่าโกนิดี (gonidia) จำนวนโกนิดีจะมีแตกต่างกันไปในแต่ละสปีชีส์ และเป็นลักษณะสำคัญอย่างหนึ่งที่ช่วยแยกสปีชีส์ในบางสปีชีส์ (6) เช่น *V. gigas* และ *V. powersi* จะมีจำนวนมากซึ่งปรกติจะมี 30 - 60 เซลล์ การจัดเรียงตัวของโกนิดีเหล่านี้ส่วนใหญ่จะอยู่บริเวณส่วนท้ายของโคลนี และเรียงตัวเป็นระเบียบแตกต่างกันไปตามสปีชีส์ (6) เช่น *V. carteri* โกนิดีจะเรียงตัวเป็น 2 แถว แถวหนึ่งอยู่ในแนวคอร อีกแถวหนึ่งอยู่กึ่งกลางระหว่างแนวอีควาเตอร์กับส่วนท้ายของโคลนีและเซลล์ในแต่ละแถวจะเรียงสลับกัน ส่วนขนาดของโกนิดีนั้นในเชกชั้น *Merrillosphaera* มีเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 30μ ส่วนเชกชั้น *Euvolvox* มีเส้นผ่าศูนย์กลางน้อยกว่า 15μ ในอีก 2 เชกชั้นมีขนาดปานกลาง

การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศหรือการเจริญของโกนิดีเพื่อสร้างโคลนีที่ไม่แสดงเพศนั้น Smith (8) พบว่าอายุสเปกและแฟลกเจลลาของเซลล์หายไป ในคลอโรพลาสตมีไพรีนอยล์มากขึ้น และเซลล์มีขนาดโตขึ้นกว่าเซลล์ทั่ว ๆ ไปในโคลนีประมาณ 10 เท่า โกนิดีแต่ละเซลล์อยู่ในถุงอันเป็นวุ้นยื่นเข้าไปในโคลนี

Fritsch (2) ได้กล่าวถึงการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศว่าโกนิดีแบ่งตัวหลายครั้งจนได้โคลนีใหม่ที่มีเซลล์ทุกชนิดอันเป็นองค์ประกอบของโคลนีได้ครบถ้วน และได้กล่าวถึงผลการศึกษาของ Schiller (2) ซึ่งพบว่าโกนิดีจะแบ่งเซลล์ตามยาว ระยะเวลาแรกของการแบ่ง

เซลล์จะตรงกันกับด้านหัว - ท้ายของโคโลนีเสมออันเป็นการแบ่งเซลล์ตามยาวที่เกี่ยวข้องเนื่องกันกับโคโลนีเดิม การแบ่งเซลล์ครั้งที่ 2 จะแบ่งตามยาวที่อยู่ในแนวตั้งฉากกับระนาบเดิม จากการแบ่งทั้ง 2 ครั้งจะได้เซลล์ทั้งหมด 4 เซลล์ ต่อไปเซลล์ทั้ง 4 เซลล์ก็แบ่งตัวตามยาวได้เซลล์จำนวน 8 เซลล์ซึ่งเรียงกันเป็นแนวนอนโดยเว้าทางด้านหนึ่งซึ่งเรียกระยะนี้ว่า *plakea - stage* ในระยะนี้เซลล์จำนวน 4 เซลล์จะเรียงอยู่ตรงกลางส่วนอีก 4 เซลล์เรียงอยู่ที่ผิว การแบ่งเซลล์ครั้งต่อไปจะโคเซลล์ที่เรียงตัวเป็นแนวนอนมากขึ้น ทางส่วนหัวของเซลล์จะหันเข้าสู่อานที่เว้าหรือคานที่เป็นศูนย์กลางของทรงกลม ต่อมากลุ่มเซลล์นี้จะกลับข้างในออก จากการศึกษาของ Pocock (2) พบว่ากระบวนการกลับข้างในออกนั้นเริ่มควยส่วนที่อยู่ตรงข้ามกับช่องว่างของกลุ่มเซลล์หรือผิวที่อยู่ใกล้กับขอบในของโคโลนีเดิม เริ่มพับไปทางคานหัวทำให้บริเวณส่วนกลางของโคโลนีค่อยๆ เล็กน้อย ขณะที่มีการพับช่องว่างจะมีขนาดใหญ่ขึ้น และส่วนท้ายของกลุ่มเซลล์จะเริ่มคั่นออกมาจนช่องว่างนั้น แล้วขอบของกลุ่มเซลล์จะพลิกกลับและเคลื่อนลงที่ละน้อยจนกระทั่งโครงสร้างทั้งหมดกลับข้างในออกหมด ส่วนนอกของเซลล์หันออกทางคานนอกของโคโลนี ช่องว่างเดิมจะค่อย ๆ ปิดจนสนิท โคโลนีที่เกิดใหม่จะเคลื่อนที่อยู่ภายในโคโลนีเดิมระยะหนึ่ง ต่อมาจึงถูกปล่อยออกจากโคโลนีเดิมและโคโลนีเดิมก็จะตายเกือบในทันทีทันใด

Kochert (3) ได้ศึกษาการเจริญเปลี่ยนแปลงของเซลล์สืบพันธุ์ใน *V. carteri* พบว่าโคโลนีที่ไม่แสดงเพศมีโคนีเดีย 8 - 12 เซลล์ซึ่งจะแบ่งตัวสร้างโคโลนีใหม่

Vande Berg และ Starr (12) ได้ศึกษาการสืบพันธุ์ใน *V. gigas* พบว่ามีเซลล์จำนวนมากที่มีขนาดโตขึ้นจะกระจายอยู่ทั่วไปในโคโลนียกเว้นแต่เพียงส่วนหนาสุดเท่านั้น เซลล์เหล่านี้ทำหน้าที่เป็นเซลล์สืบพันธุ์หรือโคนีเดียซึ่งจะมีขนาดไม่เท่ากัน สามารถแยกความแตกต่างของเซลล์เหล่านี้จากเซลล์ทั่วไปในโคโลนีได้ตั้งแต่ระยะก่อนที่โคโลนีจะกลับข้างในออก ในการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโคนีเดียจะแบ่งตัวหลายครั้งจนได้เอ็มบริโอรูปทรงกลมซึ่งต่อไปจะกลับข้างในออกเป็นโคโลนีใหม่

McCracken และ Starr (4) ศึกษาการเจริญของเซลล์สืบพันธุ์ใน *V. rousselletii* พบว่าโคโลนีที่เกิดใหม่จะมีเซลล์อยู่ 3 ขนาดคือขนาดใหญ่มีจำนวนน้อย ขนาดกลางมีจำนวนมากขึ้น และขนาดเล็กมีจำนวนมากที่สุด ในโคโลนีที่ไม่แสดงเพศจะมีเซลล์

ขนาดใหญ่มากกว่าที่เป็นโคนิเคียและแบ่งเซลล์เพื่อสร้างโคโลนีใหม่ ส่วนเซลล์ที่เหลือก็เป็นเซลล์ทั่วไปในโคโลนี

การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของสาหร่าย *Volvox* เป็นแบบ oogamous (9) อันเป็นการสืบพันธุ์ในลักษณะที่มีเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ขนาดเล็ก มีแฟลกเจลลาซึ่งใช้ในการเคลื่อนที่ไต่อย่างว่องไว ส่วนเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียจะมีขนาดใหญ่กว่า ไม่มีแฟลกเจลลา และไม่สามารถเคลื่อนที่

Smith (6) ศึกษาการเจริญของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้พบว่าเซลล์ที่มีขนาดใหญ่คล้ายโคนิเคียแบ่งตัวสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ที่มีรูปร่างยาวเรียว มีแฟลกเจลลา 2 เส้น ในการแบ่งตัวนั้นแบ่งตามลำดับเช่นเดียวกับการแบ่งตัวของโคนิเคียในการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ ต่อมากลุ่มเซลล์ที่แบ่งได้จะกลับข้างในออกเพื่อให้เซลล์อยู่รวมกันเป็นกลุ่มซึ่งมีรูปร่างคล้ายจานหรือเป็นทรงกลมที่มีด้านหนึ่งพับเข้าไป

V. carteri ที่ Koehert (3) ศึกษาพบว่าโคโลนีเพศผู้มีเซลล์ประมาณ 50 เซลล์ซึ่งต่อไปจะแบ่งตัวสร้างกลุ่มสเปอร่มโคกกลุ่มละประมาณ 64 หรือ 128 เซลล์

V. gigas ที่ Vande Berg และ Starr (12) ศึกษาพบว่าเซลล์ที่ทำหน้าที่สร้างสเปอร่มจะแบ่งตัวโคเซลล์จำนวนมากแล้วกลับข้างในออกบางส่วนอันเป็นผลให้กลุ่มสเปอร่มมีรูปร่างคล้ายโคม ส่วนเซลล์ซึ่งต่อไปจะเจริญเป็นเซลล์ทั่วไปของโคโลนีซึ่งอยู่ในบริเวณส่วนท้ายของโคโลนีก็เจริญเป็นเซลล์ที่สร้างสเปอร่มโคคล้ายเหมือนกัน

V. rousselletii ที่ McCracken และ Starr (4) ศึกษาพบว่าในโคโลนีเพศผู้มีเซลล์ขนาดใหญ่และขนาดกลางเจริญเป็นแอนโดรโกโคนิเคีย (androgonidia) ซึ่งจะแบ่งตัวเพื่อสร้างกลุ่มสเปอร่มที่มีรูปร่างเป็นทรงกลมและด้านหนึ่งพับเข้าไป

Fritsch (2) ศึกษาเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียพบว่าเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียจะมีขนาดใหญ่และต่างกับโคนิเคียตรงที่เซลล์จะไม่แบ่งตัว ต่อมาเซลล์นี้จะเปลี่ยนแปลงมีรูปร่างคล้ายชวซึ่งโปรโทพลาสซึมเข้าไปภายในโคโลนีและมีเยื่อหุ้มอย่างแน่นหนาในระยะที่เจริญเติบโตเต็มที่ เซลล์ไม่มีแฟลกเจลลา ส่วนเยื่อหุ้มเซลล์จะอยู่ทางส่วนบนคล้ายจงอยปากซึ่งเกิดขึ้นเมื่อเซลล์เหล่านี้อยู่ที่ผิวของโคโลนี บางทีอาจเป็นเครื่องหมายที่ชี้บอกให้เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้เข้าไปใกล้

McCracken และ Starr (4) ศึกษาการปฏิสนธิใน V. rousseletii พบว่ากลุ่มสปอร์เคลื่อนที่เข้าหาโคโลนีเพศเมียโดยใช้แฟลกเจลลาที่อยู่ทางคานนอกของกลุ่ม สปอร์จะเข้าไปในโคโลนีเพศเมีย โดยผ่านรูที่เกิดจากจุดที่สปอร์มาแตะกับโคโลนีแล้ว สปอร์ก็เข้าไปเคล็ดันที่อยู่โดยรอบไข่อันแล้วจึงผสมกัน .

Smith (6) ศึกษาไซโกทพบว่าขณะที่ไซโกทยังอยู่ในโคโลนีมันจะสร้างผนังชั้น อกันจึงจะถูกปลดปล่อยออกจากโคโลนีเต็มแล้วจึงลงสู่กันสรระ ผนังที่หุ้มไซโกทมี 3 ชั้น ชั้นนอกหนา เรียกเอ็กโซสปอร์ (exospore) ชั้นกลางบางกว่าเรียกเมโซสปอร์ (mesospore) ส่วนชั้นในบางมากเรียกเอนโดสปอร์ (endospore) ผนังทั้ง 3 ชั้นนี้บางก็แยกกันบ้างก็ รวมกัน สำหรับผนังชั้นนอกของแต่ละสปีชีส์มีลักษณะที่แตกต่างกันไป อาจจะเรียบ ขรุขระ หรือมีส่วนยื่นคล้ายหนาม

McCracken และ Starr (4) พบว่าใน V. rousseletii มีไซโกทที่ ผนังชั้นนอกมีสีส้มและมีส่วนยื่นคล้ายหนาม ส่วนไซโกทที่ไม่ได้รับการผสมก็จะสลายไป บางโอกาส ไซโกทที่ไม่ได้รับการผสมนี้จะเปลี่ยนเป็นเซลล์ที่มีความต้านทานต่อสิ่งแวดล้อมอันไม่เหมาะสมได้ หรือที่เรียกว่า พาร์ทีโนสปอร์ (parthenospore)

ในการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศนี้ระบบในการชักนำให้โคโลนีที่ไม่แสดงเพศ สร้าง โคโลนีที่แสดงเพศขึ้น โคมัยศึกษาเรื่องนี้ในสปีชีส์ต่าง ๆ หลายสปีชีส์ได้แก่

Kochert (3) ศึกษาใน V. carteri พบว่าในของเหลวที่โคโลนีเพศผู้อาศัย อยู่มีสารที่ชักนำให้โคโลนีไม่แสดงเพศสร้างโคโลนีเพศเมียขึ้น

Vande Berg และ Starr (12) ศึกษาใน V. gigas พบว่าเมื่อ โคโลนีไม่แสดงเพศที่เป็นสเตรน (strain) ของเพศเมื่อเจริญอยู่ในของเหลวที่โคโลนีเพศผู้ เคยอาศัยมาจนก็จะเกิดโคโลนีเพศเมียขึ้น แสดงว่ามีสารที่เป็นตัวชักนำอยู่ในอาหารนั้น การ ชักนำนี้ที่เกิดในเพศผู้ควย สารที่เป็นตัวชักนำนี้พบเฉพาะในสเตรนของเพศผู้ซึ่งไปทำให้เซลล์สืบพันธุ์ ในโคโลนีที่ไม่แสดงเพศของทั้ง 2 สเตรนเปลี่ยนแปลงไป ปรกคิเซลล์สืบพันธุ์จะเจริญเป็นโกนิกิเคีย แต่เมื่อได้รับสารที่เป็นตัวชักนำแล้วก็จะสร้างกลุ่มสปอร์และไข่อันในโคโลนีของสเตรนเพศผู้และ สเตรนเพศเมียตามลำดับ และเซลล์สืบพันธุ์นี้จะคงเจริญอยู่ในสารที่เป็นตัวชักนำอยู่ตลอดเวลา

McCracken และ Starr (4) ศึกษาใน *V. rousseletii* พบว่าเมื่อโคโลนี เพศผู้ปล่อยกลุ่มสปอร์ออกมาจะปล่อยสารนี้ออกมาด้วย สารนี้จะไปเปลี่ยนแปลงแผนของการเจริญเปลี่ยนแปลงของเซลล์พันธุ์ ทำให้เซลล์ต้องเจริญตามเซลล์พันธุ์ในโคโลนีอยู่ในอำนาจของการชักนำในช่วงเวลาจำกัดคือ เริ่มตั้งแต่เวลาที่โคโลนีกำลังจะออกจากโคโลนีเดิมไปจนกระทั่งถึงระยะหนึ่งหลังจากออกไปแล้ว คุณสมบัติของสารที่เป็นตัวชักนำนี้อาจเป็นโปรตีน (protein) หรือโพลีเปปไทด์ (polypeptide)

Pringsheim (9) ได้กล่าวถึงโภชนาการของสาหร่ายไว้ในเรื่องการทำ Soil-Water Culture ว่าดินที่เป็นดินร่วนและมีฮิวมัส (humus) อันเหมาะสมต่อการเพาะปลูกนั้นเป็นดินที่เหมาะสมในการทำ Soil - Water Culture เลี้ยงสาหร่ายด้วย

Pringsheim (5) ได้ศึกษาการเลี้ยง *Volvox* จากยุโรป 3 สปีชีส์ พบว่าทั้ง 3 สปีชีส์นั้นต้องการวิตามิน B₁₂ เช่นเดียวกับ *V. globator* ด้วย และถ้ามีอะซิเตต (acetate) บ้างเล็กน้อยก็จะเจริญเติบโตได้ดียิ่งขึ้น.

วัสดุและวิธีการ

วัสดุ

วัสดุที่ใช้คือสกรูยี่ห้อ Volvox ที่ได้จากแหล่งน้ำจืดในประเทศไทยและสามารถแยกมาเลี้ยงให้บริสุทธิ์ได้ รวมทั้งสิ้น 14 ตัวอย่าง ดังตาราง 1

ตาราง 1 แสดงสัญลักษณ์ สถานที่ และผู้แยกสกรูยี่ห้อ Volvox

สัญลักษณ์	สถานที่	ผู้แยก
BK1-73	สระน้ำหน้าอาคารเรียน โรงเรียนเตรียมอุดม- ศึกษา เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร	พรรณี คงสวี่
BK2-73	คูน้ำริมถนนใกล้คลองแสนแสบตอนหน้าวัดเทพศิลา ตำบลเทพศิลา เขตบางกะปิ กรุงเทพมหานคร	ประเสริฐ เกียรติประวัตติ
BK3-73	คูน้ำริมถนนหน้ามหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ตำบลลาดยาว เขตบางเขน กรุงเทพมหานคร	พรรณี คงสวี่
BK4-73	ร่องน้ำในสวนหน้าวัดสุทธินิศา อากาศ ตำบลสามวา- ตะวันออก เขตมีนบุรี กรุงเทพมหานคร	พรรณี คงสวี่
BK5-74	สระน้ำในบริเวณโรงพยาบาลรถไฟ ตำบล มักกะสัน เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร	พรรณี คงสวี่
BK6-74	สระน้ำในบริเวณมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ พระนคร ตำบลอนุสาวรีย์หลักสี่ เขตบางเขน กรุงเทพมหานคร	พรรณี คงสวี่

ตาราง 1 (ต่อ)

สัญลักษณ์	สถานที่	ผู้แยก
BK7-74	ร่อนน้ำในสวน หมู่ที่ 10 ตำบลลี้ลึงชัน เขตลี้ลึงชัน กรุงเทพมหานคร	พรรณี คงสวี่
BK8-74	ร่อนน้ำในสวน หมู่ที่ 6 ตำบลศาลาธรรมสพน์ เขตลี้ลึงชัน กรุงเทพมหานคร	พรรณี คงสวี่
KK1-73	คูน้ำในเขตเทศบาลเมืองบ้านไผ่ อำเภอบ้านไผ่ จังหวัดขอนแก่น	พรรณี คงสวี่
KK2-73	คูน้ำริมถนนสายขอนแก่น - บ้านไผ่ ตำบล บ้านศรีสำราญ อำเภอมือ จังหวัดขอนแก่น	พรรณี คงสวี่
FB1-73	คูน้ำริมถนนเพชรเกษม ตรงข้ามสระพัง ตำบลสระพัง อำเภอเขาย้อย จังหวัดเพชรบุรี	พรรณี คงสวี่
PT1-74	ร่อนน้ำในสวนอุตสาหกรรม ตำบลบางยี่ไถ อำเภอชะอำ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์	พรรณี คงสวี่
SK1-73	หนองหานบริเวณที่ติดกับสระพังทอง เขตเทศบาล เมืองสกลนคร อำเภอเมือง จังหวัดสกลนคร	พรรณี คงสวี่
SRL-73	คูน้ำริมถนนหน้าโรงเรียนการช่างสิงห์บุรี เขตเทศบาลเมืองสิงห์บุรี อำเภอเมือง จังหวัดสิงห์บุรี	พรรณี คงสวี่

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างสาหร่ายมาตรวจหาสาหร่าย Volvox โดยใช้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (stereo - microscope) หรือตรวจหาได้โดยตาเปล่าถ้าโคโลนีมีขนาดใหญ่และมีอยู่หนาแน่น
2. แยกสาหร่าย Volvox ที่ตรวจพบมาทำให้บริสุทธิ์ตามวิธีการของ Fringsheim(9) การแยกที่จะกล่าวต่อไปนี้เป็น การแยกโดยใช้ Aseptic Technique ดังนั้นเครื่องใช้ทุกชนิด จะต้องผ่านการกำจัดเชื้อมาแล้วทั้งสิ้น วิธีการแยกใช้ปิเปต (Pasteur Pipette) ที่มีปลายขนาดเล็กถูกสาหร่ายมาใส่ลงในสไลด์หลุม (Spotting slide) ซึ่งมีน้ำกลั่น การดูดนี้เลือกเฉพาะโคโลนีที่เจริญเติบโตเต็มที่พร้อมที่จะปล่อยโคโลนีที่เกิดใหม่ได้ สาหร่าย Volvox ที่ได้นี้โดยวิธีย้ายโคโลนีไปยังหลุมต่อไปประมาณห้าหลุม การย้ายแต่ละหลุมต้องเปลี่ยนปิเปตทุกครั้ง เมื่อล้างโคโลนีเหล่านั้นแล้วก็ทำให้โคโลนีเดิมแตกออกโดยใช้ปิเปตที่มีปลายขนาดเล็กยิ่งขึ้นถูก แล้วย้ายโคโลนีที่เกิดใหม่ซึ่งออกมาจากโคโลนีเดิมเหล่านั้นไปล้างอีกประมาณสิบครั้ง ถ้าโคโลนีที่พบยังไม่เจริญเต็มที่ก็ย้ายมาเลี้ยงไว้ใน moist chamber จนกระทั่งเจริญเติบโตเต็มที่แล้วจึงล้างด้วยวิธีการเดิม
3. เลี้ยงใน Soil - Water Culture ในหลอดทดลองหลอดละหนึ่งโคโลนี แล้วเก็บไว้ในห้องที่มีความเข้มของแสง 16 ฟุต-กาลังเทียน ตลอด 24 ชั่วโมง อุณหภูมิของอากาศภายในห้อง 33° ซ. เมื่อสาหร่ายเจริญโตขยายพันธุ์แล้วซึ่งเป็นเวลาประมาณหนึ่งสัปดาห์จึงย้ายเพียงหนึ่งโคโลนีไปเลี้ยงยังหลอดต่อไป และเลี้ยงใน Soil - Water Culture ในขวดด้วยเพื่อทำ Stock Culture
4. ศึกษาลักษณะต่าง ๆ ของสาหร่ายทั้ง 14 ตัวอย่าง เพื่อแยกสปีชีส์ตามวิธีการของ Smith (6)
5. เลี้ยงแต่ละสปีชีส์ใน Axenic Culture ซึ่งเป็น Culture ที่ไม่มีแบคทีเรีย เลี้ยงในบริเวณที่มีความเข้มของแสง 80 ฟุต-กาลังเทียน ตลอด 24 ชั่วโมง อุณหภูมิของอากาศภายในห้อง 33° ซ.

6. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของโคโลนีและเซลล์แต่ละสปีชีส์ การศึกษาในบางลักษณะ เช่น สายของไฮโดรพลาสมที่เชื่อมต่อระหว่างเซลล์และวุ้นที่หุ้มเซลล์ต้องย้อมด้วยสารละลาย Methylene Blue จาก Stock Solution ที่เข้มข้น 0.25 % การนับจำนวนเซลล์ในโคโลนีใช้วิธีการของ Cohn (6) ซึ่งจะนับจำนวนเซลล์ในพื้นที่หนึ่งตารางไมครอนแล้วจึงคำนวณจำนวนเซลล์ทั้งหมดในโคโลนีจากพื้นที่ผิวของโคโลนี อนึ่ง การนับจำนวนเซลล์ครั้งแรกนั้นทำในบริเวณอีเควเทอร์ของโคโลนี

7. ศึกษาการสืบพันธุ์ในแต่ละสปีชีส์ สำหรับการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ มีวิธีเร่งให้เกิดโคโลนีที่แสดงเพศโดยการเพิ่มกาซคาร์บอนไดออกไซด์

8. ศึกษาโภชนาการในแต่ละสปีชีส์ซึ่งเลี้ยงใน Culture สองชนิด

8.1 Soil - Water Culture ซึ่งเตรียมจากดินชนิดต่าง ๆ จำนวนห้าชุด ดังตาราง 2 แล้วเลือกตัวอย่างมาสปีชีส์ละหนึ่งโคลน (Clone) โดยเลือกโคโลนีที่เกิดขึ้นมาเลี้ยงใน Soil - Water Culture ทั้งห้าชุดนี้ชุดละสามหลอด ๆ ละหนึ่งโคโลนี แล้วสังเกตช่วงเวลาการเจริญในชั่ว (generation) ที่ 1, 2, 3 และความสมบูรณ์แข็งแรงของโคโลนีในชั่วที่ 3 ทดลองเช่นนี้ 3 ครั้ง

ตาราง 2 แสดงชนิดของดินและสถานที่ที่ได้ดินนั้น

ชุดที่	ชนิดของดิน	สถานที่
1	ดินร่วน	หน้าโรงเรียนมัธยมสาธิต มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร เขตพระโขนง กรุงเทพมหานคร
2	ดินร่วน	ริมถนนในบริเวณมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางแสน อำเภอมือเมือง จังหวัดชลบุรี
3	ดินร่วน	ริมถนนในบริเวณมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ มหาสารคาม อำเภอมือเมือง จังหวัดมหาสารคาม

ตาราง 2 (ต่อ)

ชุดที่	ชนิดของดิน	สถานที่
4	ดินผสม	สโมสรปฐพีวิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตบางเขน กรุงเทพมหานคร
5	ปุ๋ยเทศบาล 9 - 0 - 1	สำนักปุ๋ยเทศบาล กรุงเทพมหานคร

8.2 เลือกตัวอย่างมาในลักษณะเดียวกันกับข้อแรกแล้วเลี้ยงใน Axenic Culture 3 ชุด ชุดแรกเป็นตัวแทนควบคุม (control) ชุดที่ 2 เติมไทอามีน (thiamine) เข้มข้น 0.01 % 1 มิลลิลิตรต่อ Axenic Culture 1 ลิตร ชุดที่ 3 เติมโซเกียมอะซิเตต (Sodium Acetate) เข้มข้น 0.01 % 1 มิลลิลิตร ต่อ Axenic Culture 1 ลิตร เลี้ยงสาหร่ายใน Culture เหล่านี้ชุดละสามหลอด ๆ ละหนึ่งโคโลนี แล้วสังเกตช่วงเวลาการเจริญในชั่วที่ 1, 2, 3 และนับจำนวนโคโลนีในชั่วที่ 3 ทดลองเช่นนี้ 3 ครั้ง

วิธีการเตรียม Soil - Water Culture

เตรียมตามวิธีของ Pringsheim (9) ซึ่งเตรียมได้ดังนี้

1. ใส่แคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) ลงในหลอดทดลองขนาด 18 x 150 มิลลิเมตร และชวคนมฟอโรโมสเล็กน้อย (ใช้ปากคีบจับ)
 2. ใส่ดินร่วนลงในหลอดทดลองประมาณครึ่งช้อนชา และชวคนมประมาณสองช้อนชา
 3. เติมน้ำฝนลงในหลอดจนถึงระดับที่เหลืออีกประมาณห้าเซนติเมตรจะถึงปากหลอด
- ส่วนชวคนมก็ทำในลักษณะเดียวกันแล้วปิดฝา

4. นึ่งหลอดทดลองและขวดเหล่านี้อย่างไรโดยใช้น้ำซึ่งมีอุณหภูมิที่จุดเดือด ความกดดันของอากาศปรกติ ใช้เวลานึ่งครึ่งละสองชั่วโมง วันละหนึ่งครั้งและทำติดต่อกันสองวัน

วิธีการเตรียม Axenic Culture

เตรียมตามวิธีของ Provassoli และ Pinter (10) ซึ่งเตรียมได้ดังนี้
ใน Culture 1 ลิตร เติมสารต่อไปนี้ลงในน้ำฝน 981 มิลลิลิตร

มิลลิลิตร	Stock Solution	กรัม/100 มิลลิลิตร
1	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	11.8
1	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	4.0
1	$\text{Na}_2\text{glycerophosphate}$	5.0
1	KCl	5.0
10	Glycylglycine	5.0
1	Biotin	25.0×10^{-6}
1	B_{12}	15.0×10^{-6}
3	PIV Metal Solution	

สำหรับ PIV Metal Solution เตรียมได้โดยการเติม $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ 0.750 กรัม ลงในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เมื่อละลายหมดแล้วจึงเติมสารต่อไปนี้

Stock Solution	กรัม
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.097
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.041
ZnCl_2	0.005
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.002
Na_2MnO_4	0.004

ปรับสารละลายให้มี pH 7 โดยเติม NaOH หรือ HCl ที่เข้มข้นอย่างละ 1 N.
 สำหรับ Volvox ในบางสเตรนจ์เคมไฮทามีน 1 มิลลิกรัมต่อสารละลาย 1 ลิตร
 นำสารละลายใส่หลอดทดลองแล้วนั่งถ้วยความร้อนจากไอน้ำที่มีอุณหภูมิ 121° ซ. ภายใต้
 ความกดดัน 15 - 20 ปอนด์ต่อ 1 ตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที

ผลการศึกษา

การศึกษาเพื่อแยกสปีชีส์

จากการศึกษาสาย่าย Volvox ทั้ง 14 ตัวอย่างแล้วแยกตามคู่มือวิเคราะห์สปีชีส์ของ Smith (6) บทวิจัยของ Vonde Berg (12) และบทวิจัยของ Mc Cracken และ Starr (4) แยกได้สามสปีชีส์

1. Volvox carteri พบสองแบบ (form) คือ

1.1 Volvox carteri f. weissmannia (รูปที่ 1) ได้แก่ PB1-73 และ SK1-73

1.2 Volvox carteri f. nagariensis (รูปที่ 2) ได้แก่ BK1-73, BK2-73, BK3-73, BK4-73, BK6-74, BK8-74 และ SR1-73

2. Volvox gigas (รูปที่ 14) ได้แก่ BK4-73 เพียง 1 โคลน (clone)

3. Volvox rousselletii (รูปที่ 33) ได้แก่ BK5-74, BK7-74, KK1-73, KK2-73 และ PT1-74

ลักษณะสัณฐาน การสืบพันธุ์ และโภชนาการของแต่ละสปีชีส์

1. Volvox carteri

1.1 ลักษณะสัณฐานของโคโลนีและเซลล์ โคโลนีที่ไม่แสดงเพศมีรูปร่างเกือบกลม (รูปที่ 1, 2) ขนาดของโคโลนีมีเส้นผ่าศูนย์กลางแนวอีควาเตอร์ $940 - 1140 \mu$ และเส้นผ่าศูนย์กลางคันทันที่ผ่านขั้ว $950 - 1200 \mu$ มีจำนวนเซลล์ซึ่งนับตามวิธีการของ Cohn (6) ประมาณ 5,500 - 6,100 เซลล์ เรียงตัวเป็นชั้นเดียวอยู่ที่ผิวของโคโลนี ภายในโคโลนีกลวงมีโคโลนีที่เกิดใหม่ (daughter colony) เคลื่อนไหวอยู่ภายใต้ผิวของโคโลนีเดิม

(mother colony) จำนวน 8 – 12 โคโลนี จัดเรียงตัวเป็นสองแถว แถวที่หนึ่งมีจำนวนสี่เซลล์ จัดเรียงตัวอยู่ในแนวอิกเวเตอร์ อีกแถวหนึ่งอยู่ถัดไปทางส่วนท้ายของโคโลนี สำหรับ *V. carteri* f. *nagaricensis* นั้น แถวที่สองมักเรียงไม่มีระเบียบ

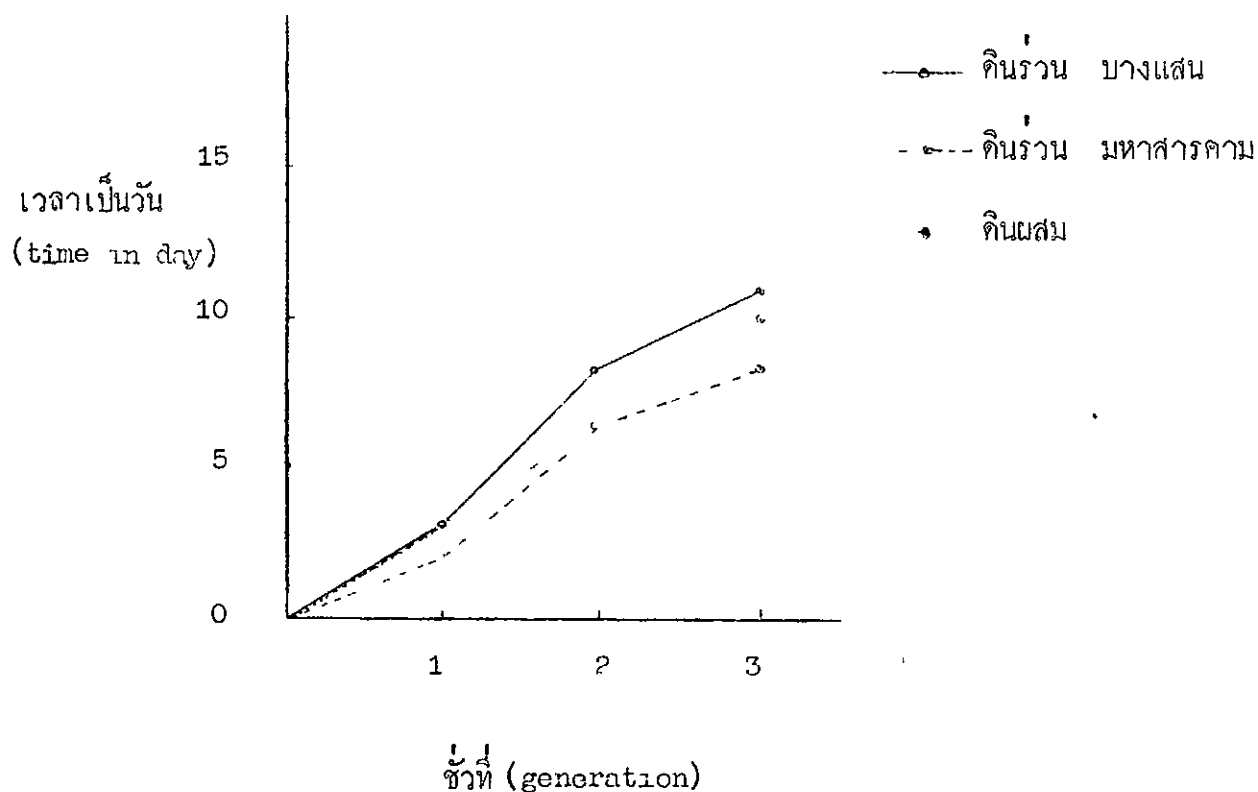
เซลล์ที่ประกอบเป็นโคโลนีแต่ละเซลล์มีรูปร่างกลมรี ถ้ามองจากด้านข้างจะมีรูปร่างกลม มีแฟลกเจลลาสองเส้น คลอโรพลาสต์รูปถ้วย ไฟรีนอยด์หลายอันกระจายอยู่ในคลอโรพลาสต์อายุสplotอยู่ทางส่วนหน้าของเซลล์ สำหรับเซลล์ในบริเวณส่วนหน้าของโคโลนีจะมีอายุสplotขนาดใหญ่ ส่วนเซลล์ในบริเวณส่วนท้ายของโคโลนีมีอายุสplotขนาดเล็กกว่าอย่างเห็นได้ชัด เซลล์แต่ละเซลล์มีวุ้นหุ้มซึ่งหนาไม่เท่ากัน โคโลนีที่เจริญเติบโตเต็มที่นั้นเซลล์ที่อยู่ในบริเวณส่วนหน้าจะมีวุ้นหุ้มหนากว่าเซลล์ในบริเวณส่วนท้าย เซลล์ในบริเวณอิกเวเตอร์ซึ่งมีวุ้นหุ้มหนาปานกลางนั้นจะหนาประมาณสองถึงสามเท่าของตัวเซลล์ เซลล์ที่อยู่ใกล้ชิดกันจะเบียดกันทำให้วุ้นที่หุ้มเซลล์เป็นรูปหกเหลี่ยม (รูปที่ 3) โคโลนีที่ยังไม่เจริญเติบโตเต็มที่เซลล์จะอยู่ใกล้ชิดกันมากกว่าเมื่อเจริญเติบโตเต็มที่แล้ว โคโลนีที่เจริญเติบโตเต็มที่และมีขนาดโตขึ้นนั้นเป็นเพราะวุ้นที่หุ้มเซลล์หนาขึ้นเป็นส่วนใหญ่ (รูปที่ 4) ระหว่างเซลล์ไม่มีสายของไซโทพลาสซึมเชื่อมต่อกัน

1.2 การเจริญของโคโลนีที่ไม่แสดงเพศ โคโลนีที่เกิดขึ้นซึ่งยังไม่ออกจากโคโลนีเดิมมีเซลล์อยู่สองชนิด คือ เซลล์ทั่วไปในโคโลนี (vegetative cell) ซึ่งมีขนาดเล็กและมีจำนวนมาก อีกชนิดหนึ่งมีขนาดใหญ่และมีจำนวนประมาณ 8 – 15 เซลล์ อันเป็นเซลล์ที่จะแบ่งตัวสร้างโคโลนีใหม่ได้หรือที่เรียกว่าโกนิกเคีย เป็นเซลล์ที่ไม่มีแฟลกเจลลาและอายุสplot คลอโรพลาสต์แผ่นขนาดใหญ่ โกนิกเคียมักจัดเรียงตัวเป็นสองแถว แถวที่หนึ่งมีเซลล์ประมาณสี่เซลล์ จัดเรียงตัวอยู่ในแนวอิกเวเตอร์ แถวที่สองอยู่ทางส่วนท้ายของโคโลนี ในบางโคโลนีจะเรียงไม่เป็นระเบียบนัก มีบางเซลล์กระจายอยู่ทางส่วนท้ายของโคโลนี เซลล์เหล่านี้จะเริ่มขยายตัวก่อนที่โคโลนีที่เกิดขึ้นจะออกจากโคโลนีเดิม และเมื่อออกไปแล้วโกนิกเคียขยายตัวใหญ่ขึ้นจนกระทั่งมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ $90 - 110 \mu$ มีสีเข้มกว่าเดิม แวคิวโอล (vacuole) มีขนาดใหญ่อย่างเห็นได้ชัด และไฟรีนอยด์มีจำนวนมากขึ้น (รูปที่ 5) แล้วจึงเริ่มแบ่งตัวเป็นสองเซลล์ (รูปที่ 6) การแบ่งครั้งที่สองจะแบ่งในแนวตั้งฉากกับแนวแรกได้สี่เซลล์ (รูปที่ 7)

การแบ่งครั้งที่สามได้แยกเซลล์ซึ่งมีอยู่สี่เซลล์ จัดเซลล์โดยเอาค่านหัวของเซลล์มาอยู่ใกล้ชิดกัน ส่วนอีกสี่เซลล์จะเรียงสลับอยู่รอบนอก ทั้งแปดเซลล์นี้จะเรียงตัวเป็นแนวนโค้งอยู่ในถุงที่ยื่นลงไปจากผิวเล็กน้อย (รูปที่ 8) การแบ่งเซลล์ในระยะ 16 - 32 เซลล์จะแบ่งเซลล์ได้ขนาดไม่เท่ากัน ในระยะต่อไปเซลล์บางเซลล์ที่อยู่ทางส่วนท้ายของกลุ่มและมีขนาดใหญ่จะหยุดแบ่งเซลล์ และเป็นเซลล์ที่ต่อไปจะเจริญเป็นโกนินเคีย (รูปที่ 9) เซลล์แบ่งตัวต่อไปจนเป็นแนวนโค้งมากขึ้นจนกระทั่งเกือบเป็นทรงกลม ก็มีแฟลกเจลลาเกิดขึ้นตรงส่วนหัวของเซลล์ซึ่งหันเข้าสู่จุดศูนย์กลางของทรงกลม เมื่อเซลล์แบ่งตัว 12 - 13 ครั้งก็หยุดแบ่งตัว โค้ดกลุ่มเซลล์ทรงกลมกลวงมีรูเปิดอยู่ทางด้านหนึ่ง (รูปที่ 10) ซึ่งมีจำนวนเซลล์ประมาณ 4,000 - 8,000 เซลล์ ต่อมากลุ่มเซลล์รูปทรงกลมกลวงนี้จะกลับข้างในออก โดยที่กลุ่มเซลล์ทางส่วนท้ายคั่นผ่านรูเปิดซึ่งอยู่ทางส่วนหน้าออกมาทีละน้อย จนกระทั่งรูเปิดไปอยู่ทางส่วนท้าย (รูปที่ 11, 12, 13) รูเปิดนี้จะค่อย ๆ ปิดในภายหลัง โคโลนีที่เกิดขึ้นนี้มีรูปร่างกลมเคลื่อนที่อยู่ภายในถุงของโคโลนีเดิม จนกระทั่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 240 μ จึงออกไปส่วนโคโลนีเดิมก็แตกสลายไป การเจริญของโคโลนีที่เกิดขึ้นนี้ทุกโคโลนีเจริญพร้อมกันหรืออยู่ในระยะเดียวกัน โคโลนีที่เกิดขึ้นใหม่และมีขนาดใหญ่ขึ้นนั้นส่วนใหญ่แล้วเป็นเพราะวันที่หุ้มเซลล์หนาขึ้นแล้วทำให้เซลล์อยู่ทางกันมากขึ้น

โคโลนีที่แสดงเพศในสปีชีส์นี้ไม่เจริญ

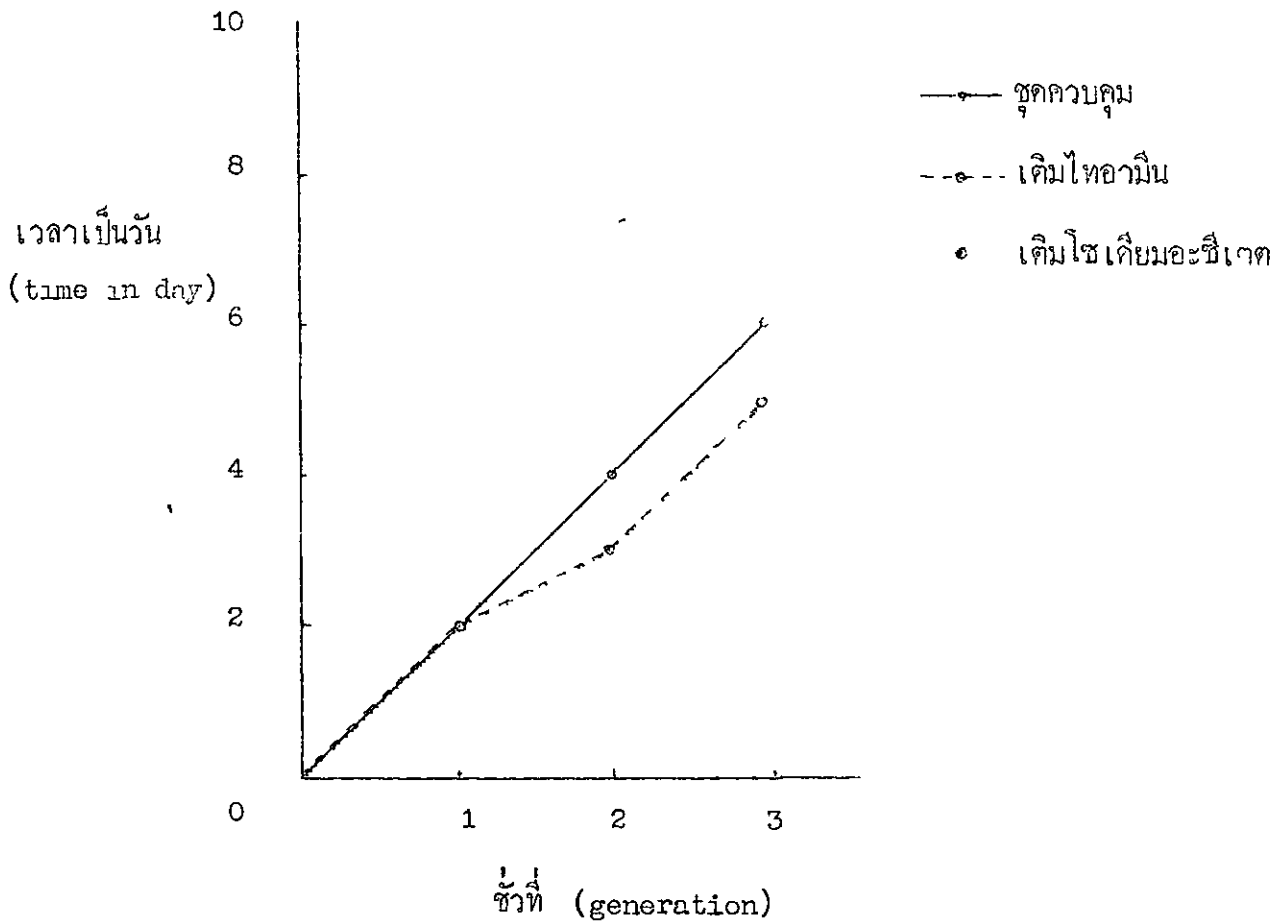
1.3 โภชนาการ ผลจากการทดลองเลี้ยงใน Soil - Water Culture น้ำซุคซึ่งเตรียมจากดินชนิดต่าง ๆ คือ ซุคที่หนึ่ง ซุคที่สองและซุคที่สามเป็นดินร่วนในบริเวณมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร บางแสน และมหาสารคาม ตามลำดับ ซุคที่สี่เป็นดินผสมจากสโม่สปรูฟวิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และซุคที่ห้าเป็นปุ๋ยเทศบาล 9 - 0 - 1 จากสำนักงานปุ๋ยเทศบาล กรุงเทพมหานคร ปรากฏดังกราฟ 1 และตาราง 3 ผลจากการทดลองเลี้ยงใน Axenic Culture สามซุค คือ ซุคแรกเป็นซุคควบคุมซึ่งมีสารต่าง ๆ อยู่ตามปกติ ซุคที่สองเติมไฮอามีน ซุคที่สามเติมโซเดียมอะซีเตต ปรากฏดังกราฟ 2 และตาราง 4



กราฟ 1 แสดงช่วงเวลาเฉลี่ยของการเจริญในชั่วที่ 1, 2, 3 ของ V. carteri f. nagariensis สเตรน BK6-74 ใน Soil - Water Culture 5 ชุด (ชุดที่ 1 และชุดที่ 5 ไม่เจริญ)

ตาราง 3 แสดงความสมบูรณ์แข็งแรงของ V. carteri f. nagariensis สเตรน BK6-74 ใน Soil - Water Culture 5 ชุด (ชุดที่ 1 และชุดที่ 5 ไม่เจริญ) ตรวจในชั่วที่ 3

ความสมบูรณ์แข็งแรงของโคโลนี	คินร่วน ม.ทว. ประสานมิตร	คินร่วน ม.ทว. บางแสน	คินร่วน ม.ทว. มหาสารคาม	คินผสม ม.เกษตรฯ	* ปุ๋ยเทศบาล 9 - 0 - 1
รูปร่างของโคโลนีเดิม		ปรกติ	ปรกติ	ปรกติ	
รูปร่างของโคโลนีที่เกิดขึ้นใหม่		บวมสลาย	ปรกติ	บวมสลาย	
จำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นใหม่		7 - 8	8 - 11	4 - 11	



กราฟ 2 แสดงช่วงเวลาเฉลี่ยของการเจริญในชั่วที่ 1, 2, 3 ของ *V. carteri* f. *nagariensis* สเตรน BK1-73 ใน Axenic Culture 3 ชุด

ตาราง 4 แสดงจำนวนโคโลนีในชั่วที่ 3 ของ *V. carteri* f. *nagariensis* สเตรน BK1-73 ใน Axenic Culture 3 ชุด

ชุดควบคุม	เค็มไทอามีน	เค็มโซเดียมอะซีเตต
806	749	678

2. Volvox gigas

2.1 ลักษณะสัณฐานของโคโลนีแคะเซลล์ โคโลนีที่ไม่แสดงเพศมีรูปร่างเกือบกลม (รูปที่ 14) ขนาดของโคโลนีมีเส้นผ่าศูนย์กลางแนวอีควาเตอร์ 650 - 900 μ เส้นผ่าศูนย์กลางด้านที่ผ่านขั้ว 700 - 930 μ มีจำนวนเซลล์ซึ่งนับตามวิธีการของ Cohn (6) ประมาณ 3,000 - 3,500 เซลล์เรียงตัวเป็นชั้นเดียวอยู่ที่ผิวของโคโลนี ภายในโคโลนีคางมีโคโลนีที่เกิดใหม่เคลื่อนไหวยูภายในผิวของโคโลนีเดิมจำนวน 13 - 25 โคโลนีเรียงตัวอยู่ทั่วไปยกเว้นส่วนหนาสุดของโคโลนี

เซลล์ที่ประกอบเป็นโคโลนีแคะเซลล์มีรูปร่างกลมรี ถ้ามองจากด้านข้างจะมีรูปร่างกลมมีแฟลกเจลลาสองเส้น คลอโรพลาสต์รูปถ้วย ไพรีนอยด์หลายอันกระจายอยู่ในคลอโรพลาสต์อายุสเปกตอยู่ทางส่วนหนาของเซลล์ อายุสเปกตของเซลล์ในบริเวณส่วนหนาของโคโลนีจะมีขนาดใหญ่กว่าอายุสเปกตของเซลล์ที่อยู่ในบริเวณส่วนท้ายของโคโลนีอย่างเห็นได้ชัด เซลล์แคะเซลล์มีจำนวนซึ่งหนาไม่เท่ากัน ในโคโลนีที่เจริญเติบโตเต็มที่แล้วเซลล์ที่อยู่ในบริเวณส่วนหนาจะมีจำนวนหนากว่าเซลล์ที่อยู่ในบริเวณส่วนท้าย เซลล์ในบริเวณอีควาเตอร์ซึ่งมีจำนวนหนาน้อยกว่านั้นจะหนาประมาณหนึ่งถึงสองเท่าของตัวเซลล์ (รูปที่ 15) เซลล์ที่อยู่ใกล้ขั้วกันจะเบียดกันทำให้รูปร่างของเซลล์เป็นรูปหกเหลี่ยม (รูปที่ 16) โคโลนีที่ยังไม่เจริญเติบโตเต็มที่ที่อยู่ใกล้ขั้วกันมากกว่าเมื่อเจริญเติบโตเต็มที่แล้ว โคโลนีที่เจริญเติบโตเต็มที่และบีบขนาดโคโลนีนั้นเป็นเพราะรูปร่างเซลล์หนาขึ้นเป็นส่วนใหญ่ (รูปที่ 17) ระหว่างเซลล์ไม่มีสายของไซโทพลาสซึมเชื่อมต่อกัน

2.2 การเจริญของโคโลนีที่ไม่แสดงเพศ โคโลนีที่เกิดใหม่ซึ่งยังไม่ออกจากโคโลนีเดิมมีเซลล์สองชนิด คือ เซลล์ทั่วไปในโคโลนีซึ่งมีขนาดเล็กและมีจำนวนมาก อีกชนิดหนึ่งมีขนาดใหญ่มีจำนวน 10 - 30 เซลล์ อันเป็นเซลล์ที่เรียกว่าโกนีเดีย เป็นเซลล์ที่ไม่มีแฟลกเจลลาและอายุสเปกต คลอโรพลาสต์เป็นแผ่นขนาดใหญ่ เซลล์เหล่านี้เรียงตัวอยู่ทั่วไปในโคโลนียกเว้นส่วนหนาสุด เริ่มขยายตัวมีขนาดแตกต่างกันไปก่อนที่โคโลนีที่เกิดใหม่จะออกจากโคโลนีเดิม และเมื่อออกไปแล้วโกนีเดียขยายตัวใหญ่ขึ้นจนกระทั่งมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 50 - 70 μ มีสีเขียวเข้ม แก้วทวอค์มีขนาดใหญ่อย่างเห็นได้ชัดและไพรีนอยด์มีจำนวนมากขึ้น (รูปที่ 18) แล้วเริ่มแบ่งตัวเป็นสองเซลล์ (รูปที่ 19) การแบ่งครั้งที่สองแบ่งในแนวตั้งฉากกันแนวแรกได้สี่เซลล์ (รูปที่ 20) การแบ่งครั้งที่สามได้แปดเซลล์ซึ่งมีอยู่สี่เซลล์จัดตัวโดยเอาด้านหัวของเซลล์

มาอยู่ใกล้ชิดกัน อีกสี่เซลล์จะเรียงสลับอยู่รอบนอก ทั้งแปดเซลล์นี้จะเรียงตัวเป็นแผ่นโค้งอยู่ใน
 ถูที่ยื่นลงไปจากผิวเล็กน้อย (รูปที่ 21) การแบ่งเซลล์ในระยะ 32 – 64 เซลล์จะแบ่งได้ขนาด
 ไม่เท่ากัน และในระยะต่อไปเซลล์ที่มีขนาดใหญ่จะหยุดแบ่งซึ่งต่อไปจะเจริญเป็นโกนิกีย
 (รูปที่ 22) เซลล์แบ่งตัวต่อไปและเรียงตัวเป็นแผ่นโค้งมากขึ้นจนกระทั่งเกือบเป็นทรงกลม ก็มี
 แฟลกเจลลาเกิดขึ้นตรงส่วนหัวของเซลล์ซึ่งหันเข้าสู่จุดศูนย์กลางของทรงกลม เมื่อเซลล์แบ่งตัวได้
 11 – 12 ครั้ง ก็หยุดแบ่งได้กลุ่มเซลล์รูปทรงกลมมีรูเปิดอยู่ทางด้านหนึ่ง (รูปที่ 23) ซึ่งปัจจุบัน
 เซลล์ประมาณ 3,000 – 4,000 เซลล์ ต่อมากลุ่มเซลล์รูปทรงกลมนี้จะกลับข้างในออกโดยที่กลุ่มเซลล์
 ทางส่วนท้ายคั่นผ่านรูเปิดซึ่งอยู่ทางส่วนหน้าออกมาทีละน้อยจนกระทั่งรูเปิดไปอยู่ทางส่วนท้าย
 (รูปที่ 24, 25) รูเปิดนี้จะปิดในภายหลัง โคโลนีที่เกิดขึ้นใหม่มีรูปร่างกลมเคลื่อนที่อยู่
 ในของโคโลนีเดิม จนกระทั่งมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 180 – 200 μ จึงออกไป โคโลนีเดิมก็
 แตกสลายไป การเจริญของโคโลนีที่เกิดขึ้นใหม่นี้ในระยะที่ใกล้เคียงกัน เมื่อโคโลนีที่เกิดขึ้นใหม่
 ออกไปจากโคโลนีเดิมแล้ว วันที่หุ้มเซลล์กันหนาขึ้นทำให้เซลล์อยู่ห่างกันมากขึ้น ขนาดของโคโลนี
 ก็ใหญ่ขึ้น

2.3 การเจริญของโคโลนีที่แสดงเพศ V. gigas ที่ศึกษานี้มีเพียงโคโลนี
 เดียวซึ่งเป็นเพศผู้ โคโลนีเพศผู้จะเกิดขึ้นเมื่อเพิ่มกาซคาร์บอนไดออกไซด์ลงใน *Azencic*
Culture ที่เลี้ยง โคโลนีเพศผู้นี้เกิดจากโกนิกียที่จะเจริญไปเป็นโคโลนีเพศผู้โดยเฉพาะ
 โกนิกียนี้อยู่ในโคโลนีที่ไม่แสดงเพศจะแบ่งตัวระยะสองเซลล์ การแบ่งครั้งที่สองจะแบ่งในแนว
 ตั้งฉากกันแนวแรกได้สี่เซลล์ การแบ่งครั้งที่สามได้แปดเซลล์ซึ่งจัดเรียงตัวเป็นแผ่นโค้งอยู่ใน
 ถูของโคโลนีเดิมที่ยื่นลงไปใต้ผิวเล็กน้อย การแบ่งในระยะ 64 – 128 เซลล์ จะแบ่งได้ขนาด
 ไม่เท่ากัน ซึ่งระยะต่อไปเซลล์ที่มีขนาดใหญ่จะหยุดแบ่งและเจริญเป็นแอนโดรโกนิกียต่อไป เมื่อ
 แบ่งเซลล์ไปได้ 8 – 9 ครั้ง ซึ่งได้เซลล์ประมาณ 200 – 500 เซลล์ เรียงตัวเป็นรูปทรงกลมกลาง
 มีรูเปิดด้านหนึ่ง ต่อมากลุ่มเซลล์กลับด้านในออกได้โคโลนีรูปร่างเกือบกลม เมื่อโคโลนีเพศผู้
 ออกไปจากโคโลนีเดิมแล้วมีขนาดใหญ่ขึ้นเล็กน้อย ขนาดของโคโลนีที่มีกลุ่มสเปิร์มเจริญเติบโตเต็มที่
 แล้วนั้น มีเส้นผ่าศูนย์กลางในแนวอิกวอเตอร์ประมาณ 280 – 300 μ เส้นผ่าศูนย์กลางที่ผ่าน

ชั่ว 290 – 320 μ โคโลนีเพ็คแต่ละโคโลนีมีกลุ่มสปอร์ 10 – 50 กลุ่ม กระจายอยู่ทั่วไปในโคโลนี (รูปที่ 26)

การเจริญของกลุ่มสปอร์เกิดจากการแบ่งตัวของแอนโครโกนิกเคีย (รูปที่ 27) ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีลักษณะเดียวกับโกนิกเคีย เซลล์จะแบ่งตัวในลักษณะเดียวกับการสร้างโคโลนี (รูปที่ 28, 29, 30) เมื่อโคเซลล์ที่เรียงตัวเป็นรูปโค้งแล้วจะกลับด้านหนึ่งออกไ้กลุ่มสปอร์ที่โค้งเป็นรูปถ้วย (รูปที่ 31) มีสปอร์ขนาดเล็ก รูปร่างยาวเรียวและมีแฟลกเจลลูลายาว (รูปที่ 32) สปอร์ทุกกลุ่มในโคโลนีเริ่มเจริญตั้งแต่อยู่ในโคโลนีเดิมและทุกกลุ่มเจริญอยู่ในระยะเดียวกัน

การชักนำให้เกิดโคโลนีที่แสดงเพศ เกิดจากการนำโคโลนีที่ไม่แสดงเพศมาเลี้ยงใน Culture ที่โคโลนีเพ็คเคยอาศัยอยู่ประมาณสี่วันก็พบว่าโคโลนีเพ็คเกิดขึ้น

2.4 โภชนาการ ผลจากการทดลองเลี้ยงใน Soil - Water Culture ห้าชุด ซึ่งเตรียมจากดินชนิดต่าง ๆ ตามข้อ 1.3 ปรากฏผลดังกราฟ 3 และตาราง 5 ส่วนผลจากการทดลองเลี้ยงใน Axenic Culture สามชุดตามข้อ 1.3 ปรากฏผลดังกราฟ 4 และตาราง 6

3. Volvox rousssetii

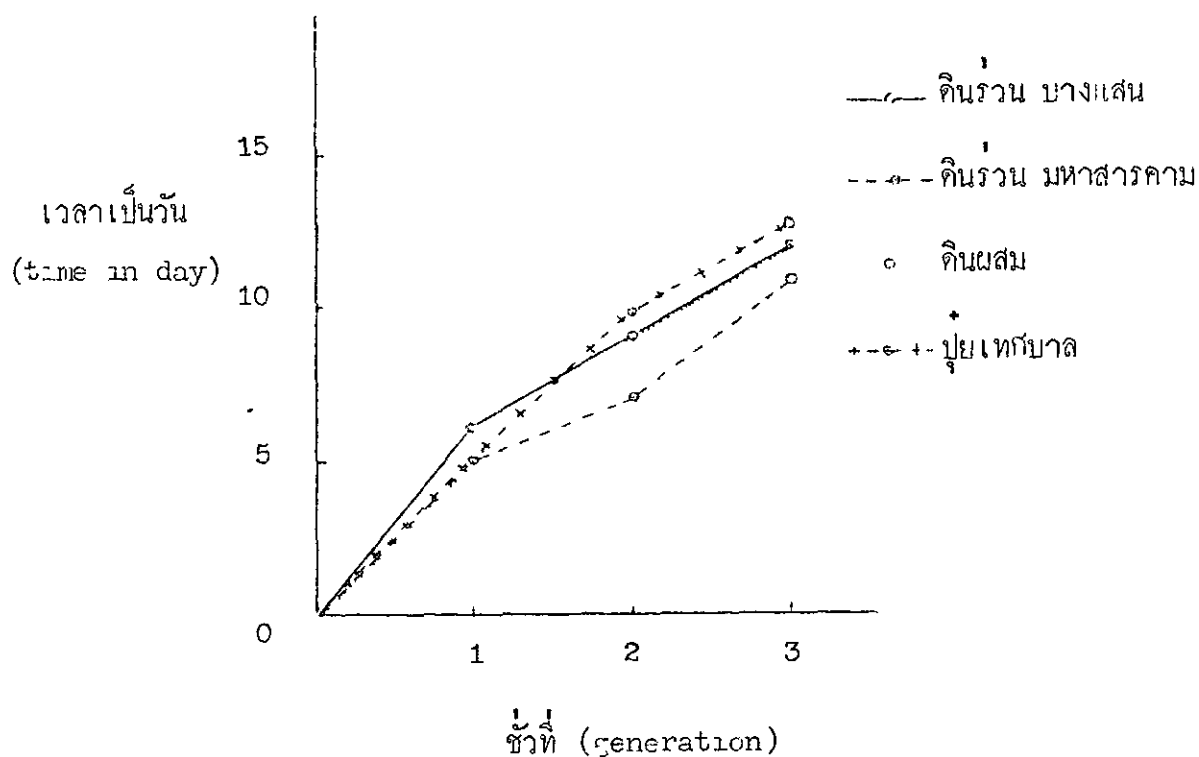
3.1 ลักษณะสัณฐานของโคโลนีและเซลล์ โคโลนีที่ไม่แสดงเพศมีรูปร่างเป็นรูปไข่ส่วนท้ายกว้าง (รูปที่ 33) ขนาดของโคโลนีมีเส้นผ่าศูนย์กลางแนวอิกเวเตอร์ 670 – 730 μ เส้นผ่าศูนย์กลางที่ผ่านชั่ว 690 – 790 μ มีจำนวนเซลล์ซึ่งนับตามวิธีการของ Cohn (6) ประมาณ 6,000 – 9,000 เซลล์ เรียงตัวเป็นชั้นเดี่ยวอยู่ที่ผิวของโคโลนี ภายในโคโลนีกลวงมีโคโลนีที่เกิดใหม่ประมาณ 4 – 15 โคโลนี เรียงตัวเป็นสองแถว แถวหนึ่งอยู่ในแนวอิกเวเตอร์ซึ่งมีประมาณสี่เซลล์ อีกแถวหนึ่งอยู่ทางส่วนท้ายของโคโลนี

เซลล์ที่ประกอบเป็นโคโลนีแต่ละเซลล์มีรูปร่างกลมรี ถ้ามองจากด้านข้างจะเป็นรูปดาว มีแฟลกเจลลูลาสองเส้น คลอโรพลาสต์รูปถ้วย ไพรีนอยด์หลายอันกระจายอยู่ในคลอโรพลาสต์

อาจพบต่ออยู่ทางส่วนหน้าของเซลล์ อายุสplotของเซลล์ในบริเวณส่วนหน้าของโคโลนีมีขนาดใหญ่กว่าอายุสplotของเซลล์ที่อยู่ในบริเวณส่วนท้ายของโคโลนีเล็กน้อย เซลล์แต่ละเซลล์มีวุ้นหุ้มหนาไม่เท่ากัน ในโคโลนีที่เจริญเติบโตเต็มที่แล้วเซลล์ที่อยู่ในบริเวณส่วนหน้าจะมีวุ้นหุ้มหนากว่าเซลล์ที่อยู่ในบริเวณส่วนท้าย เซลล์ในบริเวณอู่เควเตอร์ซึ่งมีวุ้นหุ้มหนาปานกลางนั้นจะหนาประมาณหนึ่งถึงสองเท่าของตัวเซลล์ เซลล์ที่อยู่ใกล้ชิดกันจะเบียดกันทำให้วุ้นที่หุ้มเซลล์เป็นรูปหกเหลี่ยม (รูปที่ 34) โคโลนีที่ยังไม่เจริญเติบโตเต็มที่เซลล์จะอยู่ใกล้ชิดกัน (รูปที่ 35) เมื่อเซลล์มีวุ้นหุ้มหนามากขึ้นเซลล์ก็จะอยู่ห่างกันมากขึ้น (รูปที่ 36) ซึ่งเป็นผลทำให้โคโลนีมีขนาดใหญ่ขึ้น ถ้ามองทางด้านข้างของเซลล์ที่เริ่มอยู่ห่างกันออกมานั้นจะเห็นเซลล์เป็นรูปดาว เพราะมีสายของไซโทพลาสซึมเชื่อมอยู่ระหว่างเซลล์ สายนี้มีขนาดใหญ่กว่าขนาดของแฟลกเจลลัม และสายนี้ส่วนที่อยู่ติดกับตัวเซลล์จะมีขนาดใหญ่ขึ้น (รูปที่ 37)

3.2 การเจริญของโคโลนีที่ไม่แสดงเพศ โคโลนีที่เกิดใหม่มีเซลล์อยู่สามขนาด

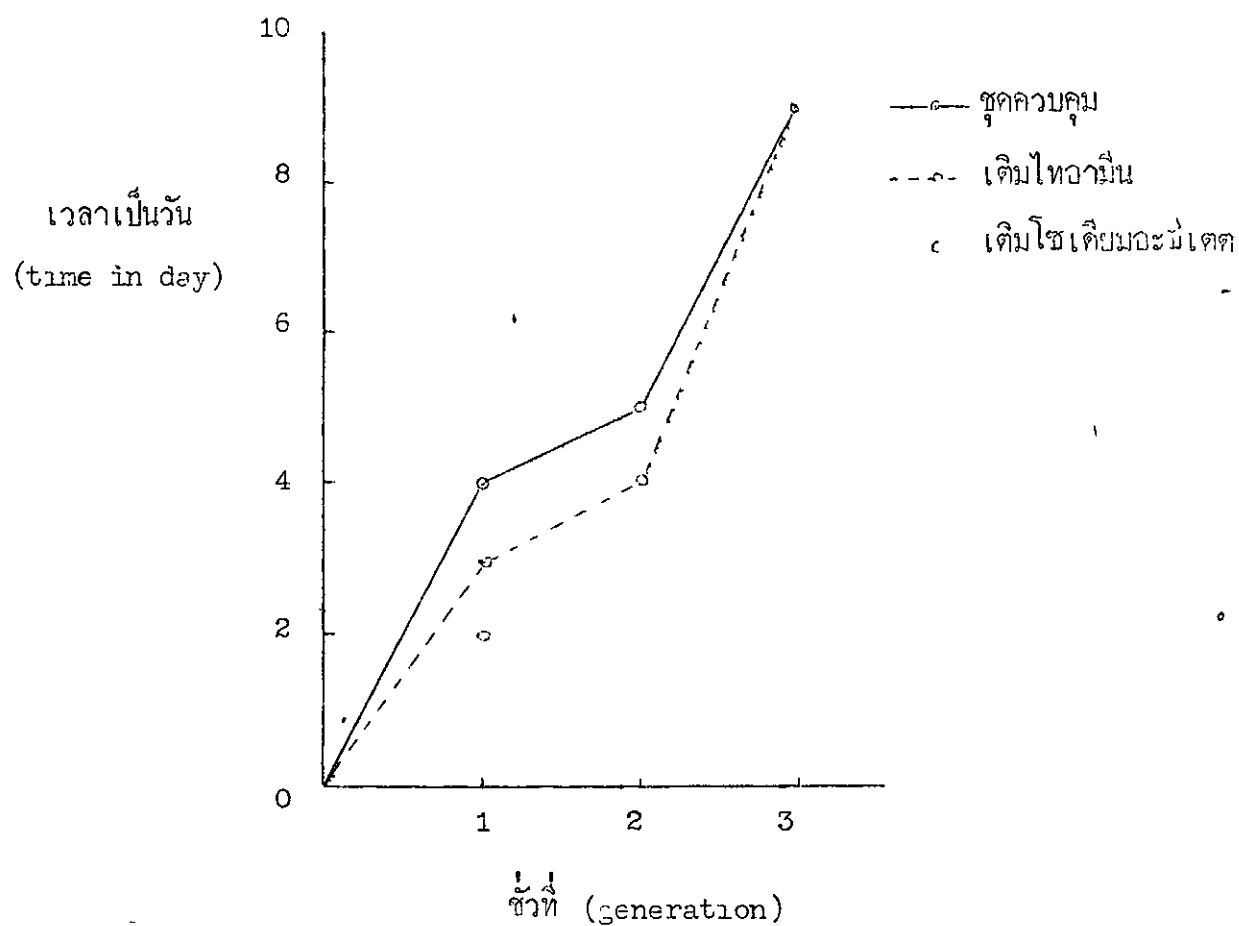
คือ ขนาดเล็กมีจำนวนมาก ขนาดกลางมีจำนวนน้อยลง และขนาดใหญ่มีจำนวน 4 – 15 เซลล์ (รูปที่ 38) โคโลนีที่ไม่แสดงเพศมีเซลล์ขนาดกลางและขนาดเล็กเจริญเป็นเซลล์ทั่วไปในโคโลนี เซลล์ขนาดใหญ่ทำหน้าที่เป็นโกนิกียคือสามารถแบ่งเซลล์สร้างโคโลนีใหม่ได้ เป็นเซลล์ที่ไม่มีแฟลกเจลลัมและอายุสplot คลอโรพลาสต์เป็นแผ่นขนาดใหญ่ โกนิกียมักจัดเรียงตัวเป็นสองแถว แถวหนึ่งอยู่ในแนวอู่เควเตอร์ อีกแถวหนึ่งอยู่ทางส่วนท้ายของโคโลนี เซลล์เหล่านี้เริ่มขยายตัวบ้างเล็กน้อยก่อนที่โคโลนีใหม่จะออกจากโคโลนีเดิม เมื่อออกไปแล้วก็จะขยายตัวมากขึ้นจนมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12 – 15 μ (รูปที่ 39) มีสีเข้มกว่าเดิม แวคคิวโอลมีขนาดใหญ่ขึ้นและไพรินอยด์มีจำนวนมากขึ้น แล้วเริ่มแบ่งตัวเป็นสองเซลล์ (รูปที่ 40) การแบ่งครั้งที่สองแบ่งในแนวตั้งฉากกับแนวแรกได้สี่เซลล์ (รูปที่ 41) การแบ่งครั้งที่สามได้แปดเซลล์ ซึ่งมีอยู่สี่เซลล์ที่จัดตัวโดยเอาด้านหัวของเซลล์มาอยู่ใกล้ชิดกัน อีกสี่เซลล์จะเรียงสลับอยู่รอบนอก ทั้งแปดเซลล์นี้จะเรียงตัวเป็นแผ่นโค้งอยู่ในถุงที่ยื่นลงไปจากผิวเล็กน้อย (รูปที่ 42) การแบ่งเซลล์ในระยะ 16 – 32 เซลล์ จะแบ่งได้ขนาดไม่เท่ากัน และในระยะต่อไปเซลล์ที่มีขนาดใหญ่จะหยุดแบ่งซึ่งต่อไปจะเจริญเป็นโกนิกีย (รูปที่ 43) เซลล์แบ่งตัวต่อไปและเรียงตัวเป็นแผ่นโค้ง



กราฟ 3 แสดงช่วงเวลาเฉลี่ยของการเจริญในชั่วที่ 1, 2, 3 ของ V. gigas สเตรน BKL-73 ใน Soil - Water Culture 5 ชุด (ชุดที่ 1 ไม่เจริญ)

ตาราง 5 แสดงความสมบูรณ์แข็งแรงของ V. gigas สเตรน BKL-73 ใน Soil - Water Culture 5 ชุด (ชุดที่ 1 ไม่เจริญ) ตรวจในชั่วที่ 3

ความสมบูรณ์แข็งแรงของโคโลนี	ดินร่วน ม.ทว. ประสานมิตร	ดินร่วน ม.ทว. บางแสน	ดินร่วน ม.ทว. มหาสารคาม	ดินผสม ม. เกษตรา	ปุ๋ยเทศบาล 9 - 0 - 1
รูปร่างของโคโลนีเดิม		ปรกติ	ปรกติ	ปรกติ	บวมสลาย
รูปร่างของโคโลนีที่เกิดใหม่		บวมสลาย	ปรกติ	บวมสลาย	บวมสลาย
จำนวนโคโลนีที่เกิดใหม่		18-19	20-23	19-22	15-22



กราฟ 4 แสดงช่วงเวลาเฉลี่ยของการเจริญในชั่วที่ 1, 2, 3 ของ V. gigas สเตรน BKL-73 ใน Axenic Culture 3 ชุด

ตาราง 6 แสดงจำนวนโคโลนีในชั่วที่ 3 ของ V. gigas สเตรน BKL-73 ใน Axenic Culture 3 ชุด

ชุดควบคุม	เติมไทอามีน	เติมโซเดียมอะซิเตต
1865	1457	2738

มากขึ้นจนกระทั่งเกือบเป็นทรงกลม จะมีแฟลกเจลลาเกิดขึ้นตรงส่วนหัวของเซลล์หนึ่งเข้าสู่ศูนย์กลางของทรงกลม เมื่อเซลล์แบ่งตัวได้ 12 – 14 ครั้ง ก็หยุดแบ่ง ได้กลุ่มเซลล์ทรงกลมกลวง มีรูเปิดอยู่ทางด้านหนึ่ง กลุ่มเซลล์นี้มีจำนวนเซลล์ประมาณ 6,000 – 9,000 เซลล์ ต่อมากลุ่มเซลล์ทรงกลมกลวงนี้จะกลับข้างในออก โดยที่กลุ่มเซลล์ทางส่วนท้ายกันผ่านรูเปิดซึ่งอยู่ทางส่วนหน้าออกมาที่ละน้อยจนกระทั่งรูเปิดไปอยู่ทางส่วนท้าย (รูปที่ 44, 45, 46, 47, 48) รูเปิดนี้จะปิดในภายหลัง โคลินิที่เกิดใหม่มีรูปร่างเป็นรูปไข่ส่วนท้ายกว้าง เคลื่อนที่อยู่ในถุงของโคลินิเดิมจนกระทั่งมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ $290 - 300 \mu$ แล้วจึงออกไป ส่วนโคลินิเดิมก็แตกสลายไป การเจริญของโคลินิที่เกิดใหม่อยู่ในระยะใกล้เคียงกัน โคลินิที่เกิดใหม่นี้จะมีวันหุ้มเซลล์หนาขึ้น ทำให้เซลล์อยู่ห่างกันมากขึ้นและโคลินินี้มีขนาดใหญ่ขึ้น

3.3 การเจริญของโคลินิที่แสดงเพศ สปีชีส์นี้แยกเพศโคลินิเพศผู้และโคลินิเพศเมียเกิดจากโคลินิที่ต่างกัน สำหรับโคลินิเพศผู้เกิดขึ้นได้เองเมื่อเลี้ยงไว้จนกระทั่งมีจำนวนโคลินิเพิ่มมากขึ้น ซึ่งเป็นระยะเวลาประมาณ 14 – 15 วัน นับตั้งแต่เริ่มเลี้ยง หรือเจริญถึงชั่วที่สี่ถึงชั่วที่ห้า อีกกรณีหนึ่งเกิดขึ้นได้เมื่อเพิ่มก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลงใน Culture ที่เลี้ยง ในโคลินิที่ไม่แสดงเพศมีโกนินเดียที่จะเจริญไปเป็นโคลินิเพศผู้โดยเฉพาะ ซึ่งจะแบ่งเซลล์ในครั้งที่หนึ่งได้สองเซลล์ ครั้งที่สองแบ่งในแนวตั้งฉากกับแนวแรกได้สี่เซลล์ ครั้งที่สามได้แปดเซลล์ ซึ่งจัดเรียงตัวเป็นแผ่นโค้งอยู่ในถุงของโคลินิเดิมซึ่งยื่นลงไปใต้ผิวเล็กน้อย การแบ่งในระยะ 64 – 128 เซลล์ จะแบ่งได้ขนาดไม่เท่ากัน ซึ่งระยะต่อไปเซลล์ขนาดใหญ่และขนาดกลางจะหยุดแบ่งและเจริญเป็นแอนโครโกนินเดียต่อไป เมื่อแบ่งเซลล์ได้ 11 – 12 ครั้ง ซึ่งได้เซลล์ประมาณ 4,000 – 5,000 เซลล์ เรียงตัวเป็นรูปทรงกลมกลวงมีรูเปิดด้านหนึ่งแล้วนั้น กลุ่มเซลล์นี้จะกลับข้างในออกได้ โคลินิรูปไข่ซึ่งเมื่อออกไปจากโคลินิเดิมและมีกลุ่มสเปิร์มเจริญเติบโตเต็มที่แล้วนั้นมีเส้นผ่าศูนย์กลางในแนวอิกวาเตอร์ประมาณ $550 - 560 \mu$ เส้นผ่าศูนย์กลางที่ผ่านขั้ว $570 - 580 \mu$ แต่ละโคลินินี้มีกลุ่มสเปิร์ม 30 – 60 กลุ่ม กระจายอยู่ทั่วไปยกเว้นส่วนหน้าสุด (รูปที่ 49)

เซลล์ขนาดกลางและขนาดใหญ่ในโคลินิเพศผู้จะเจริญเป็นแอนโครโกนินเดีย (รูปที่ 50) ซึ่งจะแบ่งตัวตามระยะต่าง ๆ เช่นเดียวกับการสร้างโคลินิ (รูปที่ 51, 52, 53) จนกระทั่ง

โคกลุ่มเซลล์ที่เรียงตัวเป็นรูปโค้งแล้วจะกลับด้านหนึ่งออก (รูปที่ 54) โคกลุ่มสเปิร์มที่โค้งเป็นรูปถ้วย (รูปที่ 55-56) สเปิร์มแต่ละเซลล์มีขนาดเล็ก รูปร่างยาว มีแฟลกเจลลยาว (รูปที่ 57) การเจริญของสเปิร์มก็เกิดขึ้นไม่รวมกันทุกกลุ่ม ดังนั้นโคโคโนสเปิร์มและโคโคโนจึงมีกลุ่มสเปิร์มที่กำลังเจริญอยู่หลายระยะ (รูปที่ 58)

การเจริญของโคโลนีเพศเมียนี้พบว่าเกิดขึ้นได้เองเมื่อเลี้ยงไว้จนกระทั่งมีจำนวนโคโลนีเพิ่มมากขึ้น ซึ่งเป็นระยะเวลาประมาณ 10 วัน หรือเจริญในช่วงที่สามถึงช่วงที่สี่ อีกกรณีหนึ่งเกิดขึ้นได้เมื่อเพิ่มก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลงใน Culture ที่เลี้ยง ในโคโลนีที่ไม่แสดงเพศมีโกนิกียที่จะเจริญไปเป็นโคโลนีเพศเมียโดยเฉพาะซึ่งจะแบ่งเซลล์ครั้งแรกได้สองเซลล์ ครั้งที่สองแบ่งในแนวตั้งฉากกับแนวแรกได้สี่เซลล์ การแบ่งครั้งที่สามได้แปดเซลล์ เรียงตัวเป็นแผ่นโค้งอยู่ในช่องของโคโลนีเดิมซึ่งย่นลงไปใต้ผิวเล็กน้อย การแบ่งในระยะ 128 - 256 เซลล์ จะแบ่งได้ขนาดไม่เท่ากันจึงจะได้เซลล์ที่ต่อไปเจริญเป็นไข่เกิดขึ้น เมื่อแบ่งเซลล์ได้ 11 - 12 ครั้ง ซึ่งได้เซลล์ประมาณ 3,000 - 4,000 เซลล์ เรียงตัวเป็นรูปทรงกลมกลวงมีรูเปิดด้านหนึ่งแล้ว กลุ่มเซลล์นี้จะกลับข้างในออกได้โคโลนีรูปไข่ เมื่อโคโลนีเพศเมียออกไปจากโคโลนีเดิมใหม่ ๆ มีเซลล์ขนาดอย่างเห็นได้ชัด (รูปที่ 59) เซลล์ขนาดกลางกระจายอยู่ทั่วไปยกเว้นส่วนหน้าสุดของโคโลนี ต่อมาเซลล์ขนาดกลางและขนาดใหญ่เจริญขึ้นเป็นไข่ที่มีรูปร่าง ซึ่งจะมีสีเข้มขึ้นและขนาดใหญ่ขึ้นเล็กน้อย (รูปที่ 60) ไข่มีลักษณะคล้ายโกนิกีย ไม่มีแฟลกเจลลและอายุสมอด (รูปที่ 61) โคโลนีเพศเมียนี้มีเส้นผ่าศูนย์กลางในแนวอิกวอเตอร์ 480 - 500 μ เส้นผ่าศูนย์กลางที่ผ่านหัว 510 - 520 μ

การชักนำให้เกิดโคโลนีที่แสดงเพศนั้นเกิดขึ้นได้เมื่อนำโคโลนีที่ไม่แสดงเพศของสเตรนเพศผู้มาเลี้ยงใน Culture ที่โคโลนีเพศผู้เคยอาศัยอยู่ หลังจากนั้นประมาณสี่ถึงห้าวันพบว่า มีโคโลนีเพศผู้เกิดขึ้น และเมื่อนำโคโลนีที่ไม่แสดงเพศของสเตรนเพศเมียมาเลี้ยงในโคโลนีเพศผู้เคยอาศัยอยู่ ก็มีโคโลนีเพศเมียเกิดขึ้นด้วยในระยะเวลาประมาณสี่ถึงห้าวันเหมือนกัน

3.4 การปฏิสนธิ เมื่อสเปิร์มเจริญเติบโตเต็มที่แล้วก็จะออกจากโคโลนี เพาะไปทั้งกลุ่ม (รูปที่ 62) เมื่อพบโคโลนีเพศเมียก็จะเกาะติดอยู่ (รูปที่ 63) ไข่ที่อยู่ใน โคโลนีเพศเมียนั้นก่อนที่สเปิร์มแต่ละเซลล์จะเข้ามาผสมก็จะเปลี่ยนแปลงก่อน คือ มองเห็น โปรโตพลาสมีลักษณะขรุขระ ส่วนเยื่อหุ้มเซลล์ไม่ปรากฏให้เห็นชัดเจน (รูปที่ 64) ภายใน โปรโตพลาสมีการเปลี่ยนแปลงคล้ายคลึงกับเซลล์ที่จะเปลี่ยนแปลงก่อนการแบ่งเซลล์

3.5 ไซโกท หลังจากไข่ผสมกับสเปิร์มแล้วประมาณ 4 - 5 วัน ก็ สังเกตเห็นไซโกทซึ่งมีรูปร่างกลม ผิวนอกขรุขระคล้ายหนามยื่นออกมา มีสีน้ำตาลแกมเหลือง ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางรวมทั้งหนามด้วยประมาณ 33μ ถ้าไม่รวมหนามด้วยก็มีเส้นผ่าศูนย์กลาง ประมาณ 30μ (รูปที่ 65)

ไข่ที่ไม่ได้รับการผสมบางเซลล์จะมีผนังหนาและเรียบ กลายเป็นพาร์ทีโนสปอร์ซึ่งมีสี เช่นเดียวกับไซโกท รูปร่างกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง $25 - 30 \mu$ (รูปที่ 66) ใน โคโลนีที่สังเกตนั้นไข่ส่วนใหญ่จะไม่ได้มีการผสม จึงเจริญเป็นพาร์ทีโนสปอร์บ้าง และในที่สุด ก็สลายไปบ้าง

3.6 โภชนาการ ผลจากการทดลองเลี้ยงใน Soil - Water Culture หัวชุดซึ่งเตรียมจากดินชนิดต่าง ๆ ตามข้อ 1.3 นั้น ผลปรากฏดังกราฟ 5 และตาราง 7 ส่วนผลจากการทดลองเลี้ยงใน Axenic Culture สามชุดตามข้อ 1.3 ปรากฏดัง กราฟ 6 และตาราง 8

วิธีการนำสาหร่าย Volvox ไปเป็นอุปกรณ์การสอนและการวิจัย

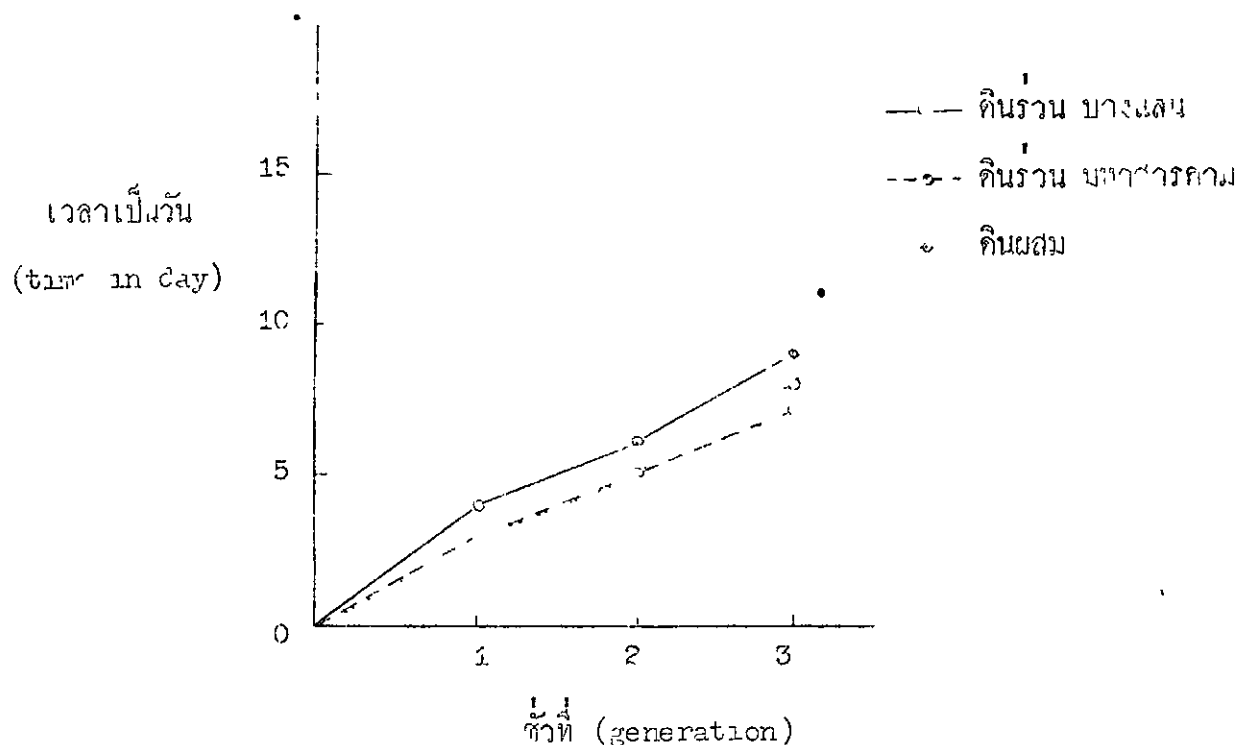
1. การเลี้ยงและรักษาสาหร่าย Volvox ไว้เป็น Stock Culture เตรียม ได้ตามวิธีการในบทที่ 3 ข้อ 3 ซึ่งเลี้ยงใน Soil - Water Culture
2. การเตรียมนำสาหร่าย Volvox เพื่อศึกษาลักษณะสัณฐานของโคโลนีและเซลล์ เตรียมได้ตามวิธีการในบทที่ 3 ข้อ 6

3. การเตรียมสสารหว่าย Volvox เพื่อศึกษาการสืบพันธุ์ การสืบพันธุ์ที่ต้องมีวิธีการเตรียมไว้โดยเฉพาะนั้นก็มีเพียงการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศเท่านั้น ส่วนการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศก็เป็นการศึกษาการเจริญของโคโลนีที่ไม่แสดงเพศได้ สำหรับวิธีการเตรียมให้เกิดโคโลนีที่แสดงเพศเพื่อจะศึกษาการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศนั้น จากผลของการศึกษาค้นคว้ามีสามวิธี

3.1 เลี้ยงสสารหว่าย Volvox ไว้ให้เจริญถึงชั่วที่สี่หรือชั่วที่ทำใน Acetic Culture คือใช้เวลาประมาณ 10 - 15 วัน จะเกิดโคโลนีที่แสดงเพศขึ้น วิธีนี้พบเฉพาะใน V. rousselletii

3.2 เพิ่มก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลงใน Culture ที่เลี้ยง ซึ่งมีวิธีทำโดยการเลือกตัวอย่างสสารหว่าย Volvox ในชั่วที่หนึ่ง ซึ่งกำลังเจริญเติบโตเต็มที่พร้อมที่จะปล่อยโคโลนีที่เกิดใหม่ นำหลอดที่เลี้ยงสสารหว่ายเหล่านี้ใส่ในขวดที่มีความจุประมาณ 1930 ลูกบาศก์เซ็นต์เมตร ใส่น้ำไว้ในขวด 150 มิลลิลิตร การวางหลอดนั้นเปิดฝาและวางเอียงประมาณ 45 องศา แล้วเติม Alka Seltzer หนึ่งเม็ด ซึ่งมีโซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO_3) หนัก 1.63 กรัม ปิดฝาขวดให้สนิทแล้ววางไว้ในที่ที่มีแสงสว่างและอุณหภูมิตามบทที่ 3 ข้อ 3 ประมาณสี่ถึงห้าวันจะมีโคโลนีที่แสดงเพศเกิดขึ้น วิธีนี้พบใน V. gigas และ V. rousselletii

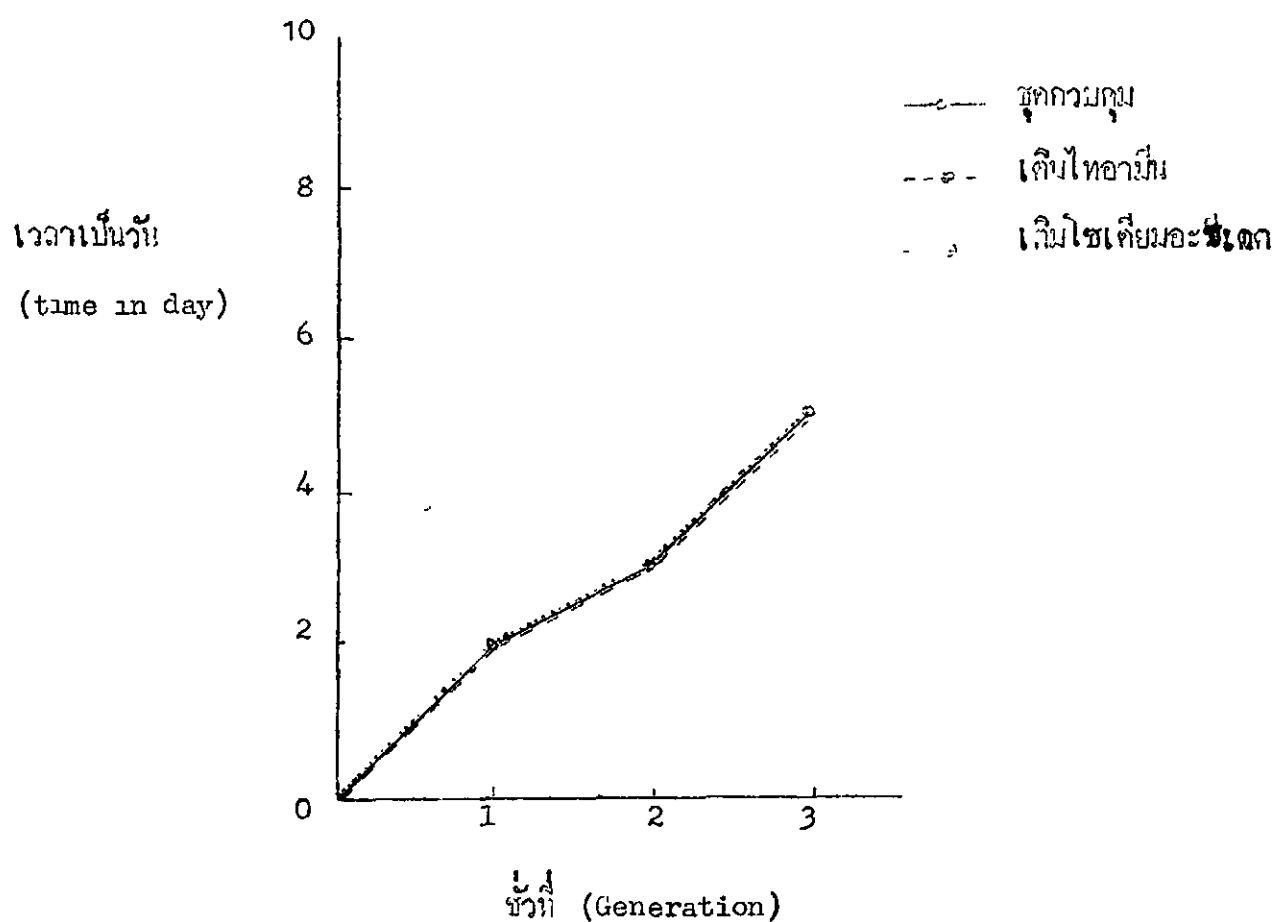
3.3 เลี้ยงโคโลนีที่ไม่แสดงเพศลงใน Culture ที่โคโลนีเพศผู้เคยอาศัยอยู่ ซึ่ง Culture นี้สามารถเก็บไว้ได้โดยการทำให้เย็น



กราฟ 5 แสดงช่วงเวลานับของการเจริญไปชั่วที่ 1, 2, 3 ของ *V. roussetii* สเตรน KK2-73 ใน Soil - Water Culture 5 ชุด (ชุดที่ 1 และชุดที่ 5 ไม่เจริญ)

ตาราง 7 แสดงความสมบูรณ์แข็งแรงของ *V. roussetii* สเตรน KK2-73 ใน Soil - Water Culture 5 ชุด (ชุดที่ 1 และชุดที่ 5 ไม่เจริญ) ตรวจในชั่วที่ 3

ความสมบูรณ์แข็งแรงของโคโลนี	ดินร่วน ม.ทว. ประจักษ์มิตร	ดินร่วน ม.ทว. บางแสง	ดินร่วน ม.ทว. มหาสารคาม	ดินผสม ม. เกษตรา	ปุ๋ยเทศบาล 9 - 0 - 1
รูปร่างของโคโลนีเดิม		บวบสลาย	ปรกติ	บวบสลาย	
รูปร่างของโคโลนีที่เกิดขึ้นใหม่		บวบสลาย	ปรกติ	บวบสลาย	
จำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นใหม่		4 - 9	5 - 9	6 - 10	



กราฟ 6 แสดงช่วงเวลาเฉลี่ยของการเจริญในชั่วที่ 1, 2, 3 ของ V. rousseletii สเตรน KK 2 - 73 ใน Axenic Culture 3 ชุก

ตาราง 8 แสดงจำนวนโคโลนีในชั่วที่ 3 ของ V. rousseletii สเตรน KK 2 - 73 ใน Axenic Culture 3 ชุก

ชุกควบคุม	เติบโตอาหารมัน	เติบโตเยีสอะซีเดก
890	709	689

สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผล

การศึกษาค้นคว้า Volvox สามสปีชีส์คือ V. carteri, V. gigas และ V. rousseletii สองสปีชีส์แรกสังกัดในเขตกั้น Merrillospheera ส่วนสปีชีส์หลังสังกัดอยู่ในเขตกั้น Envolvax

V. carteri พบสองแบบซึ่งต่างกันที่จำนวนโคโลนีที่เกิดใหม่คือ V. carteri f. weissmannia มีโคโลนีที่เกิดใหม่ไม่เกิน 8 โคโลนี V. carteri f. nagariensis มีไ้มากกว่าแปดโคโลนีและไม่เกิน 15 โคโลนี โคโลนีที่ไม่แสดงเพศในสปีชีส์นี้ มีรูปร่างเกือบกลมภายในมีโคโลนีที่เกิดใหม่เรียงตัวอยู่เป็นสองแถว ทั้งแต่ในแนวอ็ควเตอร์ลงไปทางส่วนท้ายของโคโลนี เซลล์ทั่วไปของโคโลนีไม่มีสายของไซโทพลาสซึมเชื่อมต่อกันระหว่างเซลล์

ในโคโลนีที่เกิดใหม่มีเซลล์สองชนิดคือเซลล์ขนาดเล็กซึ่งมีจำนวนมากทำหน้าที่เป็นเซลล์ทั่วไปของโคโลนี เซลล์ขนาดใหญ่มีจำนวนน้อยประมาณ 8 - 12 เซลล์ทำหน้าที่เป็นเซลล์สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ ซึ่งต่อไปเซลล์นี้จะแบ่งตัวหลายครั้งแล้วเริ่มเรียงตัวเป็นแผ่นโค้งตั้งแต่ระยะแปดเซลล์จนกระทั่งได้เซลล์ที่เรียงตัวเป็นรูปทรงกลมกลวงแล้วจึงกลับข้างในออกเป็นโคโลนีที่เกิดใหม่ ในการศึกษาค้นคว้านี้ไม่พบการสร้างโคโลนีที่แสดงเพศในโคโลนีนี้

ผลการศึกษาโภชนาการพบว่า V. carteri เจริญได้รวดเร็วและแข็งแรงที่สุดใน Soil - Water Culture จุกที่เตรียมจากดินในบริเวณมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ มหาสารคาม ส่วนการศึกษาน้ำใน Axenic Culture นั้นเมื่อเติมไฮอามินที่เข้มข้น 0.1 ppm. และโซเดียมอะซีเตตในความเข้มข้นเท่ากันแล้ว ไม่ปรากฏว่า V. carteri จะเจริญเติบโตได้แตกต่างไปจากเดิมอย่างเห็นได้ชัด

V. gigas มีลักษณะพื้นฐานของโคโลนีและเซลล์ลอการณการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ คล้ายคลึงกับ V. carteri มาก ยกเว้นโคโลนีที่เกิดใหม่มีจำนวนมากถึง 25 โคโลนี

เรียงตัวอยู่ทั่วไปยกเว้นส่วนหน้าสุดของโคโลนี ส่วนการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศนั้น โกลิเดียหรือเซลล์สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเมื่อได้รับการกระตุ้นโคออกไซเพิ่มขึ้นก็แบ่งตัวสร้างโคโลนีใหม่แต่เป็นโคโลนีที่ไม่แสดงเพศ เนื่องจากเป็นเพศผู้เซลล์ที่จะทำหน้าที่เป็นแอนโดรโกนิเดียก็จะเกิดขึ้นในภายหลังในระยะ 64 - 128 เซลล์ Culture ที่โคโลนีเพศผู้อาศัยอยู่นี้สามารถชักนำให้โคโลนีที่ไม่แสดงเพศสร้างโคโลนีเพศผู้ขึ้นมาได้

ผลการศึกษาโภชนาการพบว่าเจริญไวกวและแข็งแรงใน Soil - Water ชุดเดียวกันกับ V. carteri สำหรับใน Axenic Culture นั้น V. gigas เจริญเมื่อเติมไนโตรเจนอะมิโนที่เข้มข้น 0.1 ppm. ได้ดีกว่าในชุดควบคุมอย่างเห็นได้ชัด ส่วนการเติมไฮโดรเจนที่เข้มข้นเท่ากันนั้นไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต

V. roussetii มีโคโลนีที่ไม่แสดงเพศรูปไข่ โคโลนีที่เกิดใหม่มีประมาณ 4 - 15 โคโลนี เรียงตัวเป็นสองแถว ตั้งแถวอ้อมเคียวรอบไปทางส่วนท้ายของโคโลนีเซลล์ทั่วไปในโคโลนีมีสายของไฮโดรพลาสมขนาดใหญ่เห็นได้ชัดเชื่อมต่อกันระหว่างเซลล์

ในโคโลนีที่เกิดใหม่มีเซลล์ตามชนิด คือ เซลล์ขนาดเล็กซึ่งมีจำนวนมาก เซลล์ขนาดกลางมีจำนวนน้อยลง และเซลล์ขนาดใหญ่ 4 - 15 เซลล์ ซึ่งต่อไปเซลล์ขนาดใหญ่จะแบ่งตัวในลักษณะเดียวกันกับใน V. carteri เพื่อสร้างโคโลนีที่ไม่แสดงเพศ

ส่วนการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศนั้นพบว่าเมื่อโคโลนีเจริญไปไครยะหนึ่งแล้วนั้น โกลิเดียแบ่งเซลล์สร้างโคโลนีเพศผู้ขึ้น โดยมีเซลล์ที่จะเจริญเป็นแอนโดรโกนิเดียเกิดขึ้นในระยะ 64 - 128 เซลล์ โคโลนีเพศเมียก็เกิดขึ้นในลักษณะเดียวกัน และเซลล์ที่จะเจริญขึ้นเป็นไข่นั้นเกิดขึ้นในระยะ 128 - 256 เซลล์ โคโลนีที่แสดงเพศนี้เกิดขึ้นในสเตรนที่ต่างกัน มีขนาดและรูปร่างใกล้เคียงกันกับโคโลนีที่ไม่แสดงเพศ การเจริญของกลุ่มสเปิร์มในโคโลนีเพศผู้นั้นเกิดจากแอนโดรโกนิเดียแบ่งเซลล์ กลุ่มเซลล์ที่แบ่งได้นี้จะกลีบข้างหนึ่งออกไปกลุ่มสเปิร์มรูปถ้วย เซลล์ที่เจริญไปไข่มิได้แบ่งเซลล์เพียงแต่ขยายขนาดและโปรโตพลาสเปลี่ยนแปลงเท่านั้น สเปิร์มเข้าไปผสมกับไขในโคโลนีเพศเมียได้ไฮโดรพลาสมเปลี่ยนรูปร่างกลม ผิวนอกขรุขระ สีน้ำตาลอมเหลือง

ไซท์ที่ไม่ได้รับการผสมส่วนใหญ่จะสลายไป มีบางเซลล์เจริญเป็นเห็ดที่โนสเปอร์

อำนาจโคโลนีที่ไม่แสดงเพศจากสเตรนของเพชู้หรือวากสเตรนของเพชเมืมาเลี้ยงใน Culture ที่โคโลนีเพชู้เคยอาศัยอยู่พบว่ามีโคโลนีเพชู้หรือโคโลนีเพชเมืมาเกิดขึ้น

ผลการศึกษาโภชนาการพบว่าเจริญได้รวดเร็วและแข็งแรงที่สุดใน Soil - Water Culture ซุกเดียวกันกับ V. carteri ส่วนใน Axenic Culture นั้น ไทอาซีนและโซเดียมอะซีเตตที่เข้มข้นยาละ 0.1 ppm. ที่เติมลงไปนั้นไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของ V. roussetii

อภิปรายผล

ลักษณะสัณฐานของโคโลนีและเซลล์ของทั้งสามสปีชีส์ส่วนใหญ่พบว่าใกล้เคียงกับผลการศึกษาของ Smith (6), Kochert (3), McCracken และ Starr (4), Vande Berg และ Starr (12) มีบางลักษณะที่แตกต่างกันบ้าง V. carteri และ V. gigas มีโคโลนีที่รูปร่างเกือบกลม แต่จากการศึกษาของ Smith (6) พบว่าเป็นรูปกลมรี และโคโลนีเพชู้ของ V. gigas ที่พบว่ารูปร่างเกือบกลมก็ต่างไปจากผลการศึกษาของ Smith (6) ซึ่งพบว่าเป็นรูปไข่แคระขนาดนั้นพบว่าขนาดเล็กมากซึ่งเหมือนกัน โคโลนีที่ไม่แสดงเพศและโคโลนีที่แสดงเพศของ V. roussetii มีรูปร่างและขนาดใกล้เคียงกันเท่าเทียมกับผลการศึกษาของ McCracken และ Starr (4) สำหรับจำนวนเซลล์ในโคโลนีของ V. carteri และ V. gigas นั้นใกล้เคียงหรือน้อยกว่า 5,000 เซลล์ตามผลการศึกษาของ Smith (6) ใน V. roussetii มีจำนวนเซลล์ในโคโลนีน้อยกว่าผลการศึกษาของผู้ที่ถือไมถึงหนึ่งหมื่นเซลล์ จากผลการศึกษาของ Smith (6) พบว่ามี 14,000 - 44,000 เซลล์ McCracken และ Starr (4) พบว่ามี 20,000 - 30,000 เซลล์ สำหรับเซลล์ในโคโลนีที่เกิดใหม่ของ V. roussetii พบว่ามีสามชนิดและขนาดต่างกันเช่นเดียวกับผลการศึกษาของ McCracken และ Starr (4) จำนวนโคโลนีที่เกิดใหม่ใน V. carteri นั้นใกล้เคียงกับผลการศึกษาของ Kochert (3) ถือ

8 - 12 โกลีใน V. rousseletii ก็เช่นเดียวกัน McCracken และ Starr (4) พบว่าตามปกติมี 8 - 12 โกลีในระหว่างการศึกษารังไข่ 4 - 15 โกลี สำหรับใน V. gigas ที่ศึกษารังไข่พบมาก 13 - 25 โกลีเท่านั้น ส่วนผลการศึกษาของ Smith (6) พบว่ามี 30 - 60 โกลี ความแตกต่างเหล่านี้ อาจเกิดจากปัจจัยที่สำคัญคืออุณหภูมิ แสงสว่าง อาหาร หรือปัจจัยทางพันธุกรรม

การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศพบว่าโกลีที่ไม่แสดงเพศของทั้งสามสปีชีส์เจริญจากเซลล์ขนาดใหญ่หรือโกนีย์เดี่ยวที่เรียงตัวตามแบบแผนของแต่ละสปีชีส์ที่อยู่ใน V. carteri และ V. rousseletii จะเรียงเป็นสองแถวตั้งแต่แนวอิกวาเตอร์ไปทางส่วนท้ายของโกลี ส่วน V. gigas นั้นโกนีย์เดี่ยวจำนวนมากจะกระจายอยู่ทั่วไปในโกลีบนกเว้นส่วนหน้าสุด ทั้งสามสปีชีส์ โกลีเดี่ยวจะเริ่มขยายตัวก่อนที่โกลีที่เกิดใหม่จะออกจากโกลีเดิม สำหรับ V. gigas โกลีเดี่ยวจะเจริญไม่พร้อมกันคือบางเซลล์จะมีขนาดใหญ่กว่าเซลล์ทั่วไปมาก และบางเซลล์มีขนาดกลางซึ่งเป็นเช่นเดียวกับกับผลการศึกษาของ Vande Berg และ Starr (12) ใน V. carteri และ V. rousseletii มีโกนีย์เดี่ยวเจริญไปพร้อม ๆ กันหรือในระยะเดียวกัน ซึ่งเป็นไปในลักษณะเดียวกับกับผลการศึกษาของ Kochert (3), McCracken และ Starr (4) การแบ่งเซลล์ของโกนีย์เดี่ยวในระยะแปลเซลล์นั้นทั้งสามสปีชีส์ได้เซลล์ที่เรียงตัวในลักษณะเดียวกันกับที่ Fritsch (2) ศึกษาไว้คือเซลล์จะเรียงตัวอยู่ตรงกลางโดยหันส่วนหัวเข้าหากัน อีกเซลล์อยู่รอบนอก ส่วนการเจริญในระยะที่ต่อมาจนไปถึงใกล้เคียงกับผลการศึกษาของ Fritsch (2) เช่นเดียวกัน

การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศที่ศึกษาในครั้งนี้นี้ยังมีปัญหาเรื่องการเกิดของโกลีที่แสดงเพศคือ V. carteri และ V. gigas โกลีที่แสดงเพศไม่สามารถเกิดขึ้นได้เองโดยเฉพาะเพศผู้ที่สำคัญอาจเป็นเพราะว่าสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมที่จะให้มันสร้างโกลีที่แสดงเพศ สภาพเหล่านี้ อาจจะได้แก่ความเข้มของแสงและอุณหภูมิเป็นประการสำคัญ ตามที่ McCracken และ Starr (4) ศึกษา V. rousseletii โกลีเลี้ยงในห้องที่มีความเข้มของแสง 350 ฟุต - กำลังเทียน และมีช่วงเวลามืด 16 ชั่วโมง สว่าง 8 ชั่วโมง พบว่าโกลีที่แสดงเพศเกิดขึ้นได้เองโดยที่โกลีเพศผู้เกิดขึ้นเมื่อเลี้ยงไว้ประมาณ 9 - 15 วัน หรือเจริญ

ถึงชั่วที่สามถึงชั่วที่ห้า โคลโลฟีเพกเมียบเกิดขึ้นเมื่อโคลโลฟีในหลอดเริ่มเจริญเติบโตช้าลง สำหรับการศึกษานี้แม้ว่าสภาพแวดล้อมจะต่างกันก็ตาม แต่มีโคลโลฟีที่แสดงเพศเกิดขึ้นได้เอง โคลโลฟีเพกเมียบเกิดขึ้นเมื่อเลี้ยงไว้ประมาณ 14 - 15 วัน หรือเจริญถึงชั่วที่สี่ถึงชั่วที่ห้า โคลโลฟีเพกเมียบเกิดขึ้นเมื่อเลี้ยงไว้ประมาณ 10 วัน หรือเจริญถึงชั่วที่สามถึงชั่วที่สี่ ที่เป็นเหตุนี้อาจเป็นเพราะว่าสปีชีส์สร้างโคลโลฟีที่แสดงเพศได้ง่ายไม่เองมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมมากนักก็ได้

V. gigas นั้นต้องเร่งให้สร้างโคลโลฟีที่แสดงเพศโดยเพิ่มการคาร์บอนไดออกไซด์ลงใน Culture ที่เลี้ยง ส่วน V. carteri นั้นแม้ว่าจะเพิ่มการคาร์บอนไดออกไซด์แล้วก็ยังไม่สร้าง อาจจะเป็นเพราะว่าเพิ่มก๊าซในสัดส่วนที่ไม่เหมาะสมก็ได้ โคลโลฟีเพศผู้ของ V. gigas จะสร้างกลุ่มสเปิร์มขึ้นเมื่อได้รับการคาร์บอนไดออกไซด์ก็สร้างขึ้นในระยะเดียวกันได้กลุ่มสเปิร์มรูปถ้วย คือโค้งไปท้ายทอยเป็นเช่นเดียวกับผลการศึกษาของ Vande Berg และ Starr (12) โคลโลฟีเพศผู้ของ V. rousselletii มีเซลล์ขนาดกลางและขนาดใหญ่เจริญขึ้นเป็นแอนโดรโกนีเกียแล้วแบ่งตัวสร้างกลุ่มสเปิร์มโดยไม่พร้อมกัน ดังนั้นในแต่ละโคลโลฟีจึงพบไคนดาในระยะตั้งแต่ระยะเริ่มต้นจนถึงระยะที่ไคนดาสร้างกลุ่มสเปิร์มแล้ว ซึ่งเกิดขึ้นในทำนองเดียวกันกับผลการศึกษาของ McCracken และ Starr (4) จำนวนกลุ่มสเปิร์มในโคลโลฟีเพศผู้ของ V. gigas มีประมาณ 10 - 50 กลุ่ม ส่วนผลการศึกษาของ Smith (6) พบว่ามีมากกว่า 150 กลุ่ม ซึ่งแตกต่างกันมาก ในโคลโลฟีเพศผู้ของ V. rousselletii พบประมาณ 30 - 60 กลุ่ม แตกต่างจากการศึกษาของ McCracken และ Starr (4) พบว่ามีประมาณ 200 - 300 กลุ่ม จะเห็นได้ว่าแบบแผนของการเจริญของโคลโลฟีที่แสดงเพศก็เช่นไปตามผลการศึกษานี้ ส่วนจะต่างกันตรงที่สร้างกลุ่มสเปิร์มมากน้อยต่างกันนั้นอาจจะเป็นเพราะความสมบูรณ์แข็งแรงมากกว่าเหตุอื่น

โคลโลฟีเพกเมียบมีเวลาขนาดกลางและขนาดใหญ่ที่พบในระยะที่โคลโลฟีเพิ่งออกมาจากโคลโลฟีเดิมใหม่ ๆ นั้นเจริญมาเท่าไร โดยที่มีขนาดใหญ่นั้นเป็นไปตามผลการศึกษาของ McCracken และ Starr (4) ไข่ในระยะที่มีรูปร่างแล้วมีการเปลี่ยนแปลงในโปรโตพลาสโดยที่มีลักษณะคล้ายกับเซลล์ที่อยู่ในภาวะก่อนจะแบ่งตัวและมองเห็นเยื่อหุ้มเซลล์ชัดเจน

ผลการชักนำให้เกิดโคโลนีที่แสดงเพศขึ้นนี้พบทั้งสองสปีชีส์ที่มีโคโลนีเพศผู้เกิดขึ้น ใน V. glaucus เมื่อโคโลนีที่ไม่แสดงเพศของสเตรกเกอญ์อาศัยอยู่ใน Culture ที่โคโลนีเพศผู้เคยอาศัยอยู่แล้วสร้างโคโลนีเพศผู้ขึ้นได้ซึ่งเป็นเช่นเดียวกับผลการศึกษาของ Vande Berg และ Starr (12) ใน V. rousseletii ก็เช่นเดียวกัน Culture ที่โคโลนีเพศผู้เคยอาศัยอยู่สามารถชักนำให้เกิดโคโลนีที่แสดงเพศขึ้นได้ซึ่งเป็นไปตามผลการศึกษาของ McCracken และ Starr (4)

การปฏิสนธิใน V. rousseletii ใกล้เคียงกับรูปร่างกลม ผิวนอกขรุขระคล้ายหนาม ส่วนไข่ที่ไม่ได้รับการผสมบางเซลล์จะเจริญเป็นอาร์โกสปอร์ ผลการศึกษาครั้งนี้แตกต่างไปจากผลการศึกษาของ McCracken และ Starr (4)

ผลการศึกษาโภชนาการพบว่าทั้งสามสปีชีส์เจริญได้ดีใน Soil - Water Culture ที่เตรียมจากดินในบริเวณมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ มหาสารคาม อาจเป็นเพราะว่าดินในบริเวณนั้นมีสารหรือแร่ธาตุที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของทั้งสามสปีชีส์ จากการสำรวจพบว่าดินบริเวณนั้นมีสาหร่ายใน Order Volvocales รวมทั้งสาหร่ายใบเงินสี Volvox นี้ด้วย เจริญได้ดี Soil - Water Culture ที่เตรียมจากดินที่ไม่มีลักษณะเช่นหรือแสดงว่ามีชีวิตมากเกินไป และไม่เป็นดินร่วนที่มีทรายปนมากจนกระทั่งมีชีวมวลน้อย มี pH 7.7 ซึ่งใกล้เคียงกับความเป็นกลาง จัดได้ว่าเป็นดินร่วนหนึ่งที่เหมาะสมในการหา Soil - Water Culture ส่วนดินร่วนที่ได้จากบริเวณอื่นและดินชนิดอื่นเมื่อเตรียมเป็น Soil - Water Culture แล้ว สาหร่ายทั้งสามสปีชีส์เจริญได้บ้างแต่ไม่ดีนัก ผลการทดลองใน Axenic Culture พบว่า ทั้งสามสปีชีส์เจริญได้รวดเร็วกว่าใน Soil-Water Culture และเจริญได้ดีในชุดความเข้มข้นทั้งสามสปีชีส์ ส่วนไทดาไรท์และโซเดียมอะซิเตทที่เติมลงไป พบว่า V. glaucus เจริญในชุดที่เติมโซเดียมอะซิเตทได้มากกว่าชุดความเข้มข้นและชุดเติมไทดาไรท์อย่างเห็นได้ชัด สำหรับ V. carteri และ V. rousseletii นั้น ไม่มีผลของการเจริญเติบโตแตกต่างออกไป

ข้อเสนอแนะ

1. การวัดห้องสำหรับเลี้ยงสาหร่าย Volvox ควรให้ความเข้มของแสงและอุณหภูมิของอากาศภายในห้องใกล้เคียงกับในธรรมชาติมากที่สุด
2. การเร่งให้สร้างโคโลนีที่แสดงเพศควรใช้วิธีที่แตกต่างไปจากนี้บ้าง และวิธีเพิ่มการคาร์บอนไดออกไซด์ก็ควรทำในสัดส่วนที่แตกต่างออกไป
3. ในเรื่องการชักนำให้เกิดโคโลนีที่แสดงเพศนั้นเป็นเรื่องที่น่าสนใจและน่าศึกษาเกี่ยวกับชนิดและโครงสร้างของสารที่เป็นตัวชักนำนั้น ซึ่งสารนี้จะอยู่ใน Culture ที่โคโลนีเพศผู้อาศัยอยู่เท่านั้น.

บรรณานุกรม

REFERENCES

1. Bold, C. Harold, Morphology of Plants, Harper and Row Publishers, New York, 1967, pp. 32 - 34.
2. Fritsch, F.E., The Structure and Reproduction of the Algae Volume I, The Syndics of The Cambridge University Press, 1965, pp. 102 - 117
3. Kochert, Gary, "Differrentiation of reproductive cells in Volvox carteri," J. PROTOZOOLOGY 15(3) : 432 - 452, 1968.
4. McCracken, Micheal D. and Richard C. Starr, "Induction and Development of reproductive cells in the K - 32 strain of Volvox rousseletii," ARCH Protistenk 112(3) : 262 - 282, 1970.
5. Pringsheim, E.G., "Identification and cultivation of European Volvox," ANTONIE VAN LEEWENHOEK J. MICROBIOL SEROL 36(1): 33 - 34, 1970.
6. Smith, Gilbert M., "Comparative study of the species of Volvox," Transactions of American Microscopical Society LXIII(4) : 265-310, October, 1944.
7. Smith, Gilbert M., Cryptogamic Botany, McGraw Hill Book Company, New York, 1955, pp. 38 - 42.
8. Smith, Gilbert M., Fresh Water Algae of the United States, McGraw Hill Book Company, New York, 1950, pp. 104 - 106.
9. Smith, Gilbert M., Manual of Phycology, Ronald Press Company, New York, 1951, pp. 347 - 356.
10. Starr, Richard C., The Culture collection of algae at Indiana University Addition to the Collection July 1960 - July 1971, Reprinted from Journal of Phycology 7(4) : 350 - 362, 1971.
11. Starr, Richard C., "Volvox pocockiae, a new species with dwarf males," J. PHYCOL 6(3) : 234 - 239, 1970.
12. Vande Berg, Warren J. and Richard C. Starr, "Structure, reproduction and differentiation in Volvox gigas and Volvox powersii" ARCH Protistenk 113(3) : 195 - 219, 1971.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.

คู่มือวิเคราะห์ผลปัสสาวะของจิ๊นัส Volvox

แนวทางการศึกษาอวัยวะลักษณะของโคโคโคนีไม่แสดงเพศ เวล และการสืบพันธุ์แบบ
ไม่อาศัยเพศเป็นเกณฑ์

- | | |
|---|-----------------------|
| 1. โคโคโคนีรูปไข่ เซลเป็นรูปดาวเมื่อดมจากด้านซ้าย และมีสายของไซโทพลาสซึม | 3 |
| 1. โคโคโคนีเกือบกลม เซลกลมเมื่อดมจากด้านซ้าย ไม่มีสายของไซโทพลาสซึม | 2 |
| 2. มีเข็มบริโอไมเกิน 20 เรียงตัวอยู่ทางส่วนท้ายของโคโคโคนี | 3 |
| 2. มีเข็มบริโอมากกว่า 20 กระจายอยู่ทั่วไปยกเว้นทางส่วนหน้าสุดของโคโคโคนี และโกนิกียปรากฏให้เห็นได้เป็นระยะเวลานานก่อนออกจากโคโคโคนีเดิม | |
| | <u>V. zigas</u> |
| 3. โกนิกียมักจะเรียงตัวเป็น 2 แถว มีขนาดประมาณ 35 – 50 μ | <u>V. carteri</u> |
| 3. โกนิกียมักจะเรียงตัวเป็น 2 แถว มีขนาดไม่เกิน 15 μ | <u>V. rousseletii</u> |

ภาคผนวก ข.

รูปภาพแสดงหลักฐาน และการสืบพันธุ์ของ Volvox sp.

รูปที่ 1 - 13 แสดงภาพของ V. carteri

- รูปที่ 1 แสดงโคโลนีของ V. carteri f. weissmania × 375
รูปที่ 2 แสดง V. carteri f. nagariensis × 375
รูปที่ 3 แสดงวุ้นที่ลอมรอบเซลล์ ย้อมด้วย Methylene Blue × 125
รูปที่ 4 แสดงเซลล์ในโคโลนีที่เกิดขึ้นใหม่และในโคโลนีเดิม × 320
รูปที่ 5 แสดงโกนิกเคีย × 500
รูปที่ 6 แสดงการสร้างโคโลนีระยะ 2 เซลล์ × 500
รูปที่ 7 แสดงการสร้างโคโลนีระยะ 4 เซลล์ × 320
รูปที่ 8 แสดงการสร้างโคโลนีระยะ 8 เซลล์ × 320
รูปที่ 9 แสดงกลุ่มเซลล์ที่มีเซลล์ซึ่งต่อไปเจริญเป็นโกนิกเคีย × 125
รูปที่ 10 แสดงกลุ่มเซลล์ทรงกลมกลวงมีรูเปิด × 125
รูปที่ 11 แสดงการกลับข้างในออก × 500
รูปที่ 12 แสดงการกลับข้างในออก × 500
รูปที่ 13 แสดงการกลับข้างในออก × 500

รูปที่ 14 - 32 แสดงภาพของ V. gigas

- รูปที่ 14 แสดงโคโลนีของ V. gigas × 375
รูปที่ 15 แสดงเซลล์ในบริเวณอู่เคาเตอร์ของโคโลนี × 500
รูปที่ 16 แสดงวุ้นที่ลอมรอบเซลล์ ย้อมด้วย Methylene Blue × 125
รูปที่ 17 แสดงเซลล์ในโคโลนีที่เกิดขึ้นใหม่และในโคโลนีเดิม × 320
รูปที่ 18 แสดงโกนิกเคีย × 500
รูปที่ 19 แสดงการสร้างโคโลนีระยะ 2 เซลล์ × 500
รูปที่ 20 แสดงการสร้างโคโลนีระยะ 4 เซลล์ × 500

- รูปที่ 21 แสดงการสร้างโคโลนีระยะ 8 เซล $\times$ 500
- รูปที่ 22 แสดงกลุ่มเซลล์ที่มีเซลล์ซึ่งต่อไปเจริญเป็นโกนิกีย $\times$ 500
- รูปที่ 23 แสดงกลุ่มเซลล์ทรงกลมกลวงมีรูเปิด $\times$ 500
- รูปที่ 24 แสดงการกลับข้างในออก $\times$ 320
- รูปที่ 25 แสดงการกลับข้างในออก $\times$ 320
- รูปที่ 26 แสดงโคโลนีพิเศษ $\times$ 125
- รูปที่ 27 แสดงแอสโคโกโกนิกีย $\times$ 500
- รูปที่ 28 แสดงการสร้างสเปอรมาระยะ 2 เซล $\times$ 500
- รูปที่ 29 แสดงการสร้างสเปอรมาระยะ 4 เซล $\times$ 500
- รูปที่ 30 แสดงการสร้างสเปอรมาระยะ 4 - 8 เซล $\times$ 500
- รูปที่ 31 แสดงกลุ่มสเปอรมา $\times$ 500
- รูปที่ 32 แสดงกลุ่มสเปอรมา $\times$ 500

รูปที่ 33 - 66 แสดงภาพของ V. roussetii

- รูปที่ 33 แสดงโคโลนีของ V. roussetii $\times$ 375
- รูปที่ 34 แสดงวุ้นที่คลุมรอบเซลล์ ย้อมด้วย Methylene Blue $\times$ 320
- รูปที่ 35 แสดงเซลล์ในโคโลนีที่เกิดขึ้นใหม่ $\times$ 500
- รูปที่ 36 แสดงเซลล์ในโคโลนีที่เจริญเต็มโตเต็มที่ ย้อมด้วย Methylene Blue $\times$ 500
- รูปที่ 37 แสดงสายของไฮโทพลาสซึม $\times$ 500
- รูปที่ 38 แสดงเซลล์สามขนาดในโคโลนีที่เพิ่งออกจากโคโลนีเดิม $\times$ 125
- รูปที่ 39 แสดงโกนิกีย $\times$ 500
- รูปที่ 40 แสดงการสร้างโคโลนีระยะ 2 เซล $\times$ 500
- รูปที่ 41 แสดงการสร้างโคโลนีระยะ 4 เซล $\times$ 500
- รูปที่ 42 แสดงการสร้างโคโลนีระยะ 8 เซล $\times$ 500
- รูปที่ 43 แสดงกลุ่มเซลล์ที่มีเซลล์ซึ่งต่อไปเจริญเป็นโกนิกีย $\times$ 125

รูปที่ 44	แสดงการกลับข้างในออก	×	320
รูปที่ 45	แสดงการกลับข้างในออก	×	320
รูปที่ 46	แสดงการกลับข้างในออก	×	320
รูปที่ 47	แสดงการกลับข้างในออก	×	320
รูปที่ 48	แสดงการกลับข้างในออก	×	320
รูปที่ 49	แสดงการเรียงตัวของกลุ่มสเปิร์มในโคโลนีเพชฌุ	×	375
รูปที่ 50	แสดงแอนโครโกนีเดี่ยว	×	500
รูปที่ 51	แสดงการสร้างกลุ่มสเปิร์มระยะ 2 เซล	×	500
รูปที่ 52	แสดงการสร้างกลุ่มสเปิร์มระยะ 4 เซล	×	500
รูปที่ 53	แสดงการสร้างกลุ่มสเปิร์มระยะ 8 เซล	×	500
รูปที่ 54	แสดงการกลับด้านหนึ่งออกของกลุ่มสเปิร์ม	×	500
รูปที่ 55	แสดงกลุ่มสเปิร์ม	×	500
รูปที่ 56	แสดงกลุ่มสเปิร์ม	×	125
รูปที่ 57	แสดงลักษณะของสเปิร์ม	×	500
รูปที่ 58	แสดงโคโลนีเพชฌุที่มีกลุ่มสเปิร์มเจริญอยู่หลายระยะ	×	125
รูปที่ 59	แสดงเซลล์ที่จะเจริญเป็นไข่	×	125
รูปที่ 60	แสดงโคโลนีเพชฌุเมีย	×	80
รูปที่ 61	แสดงไข่	×	500
รูปที่ 62	แสดงกลุ่มสเปิร์มออกจากโคโลนีเพชฌุ	×	500
รูปที่ 63	แสดงกลุ่มสเปิร์มเกาะโคโลนีเพชฌุเมีย	×	125
รูปที่ 64	แสดงไข่ในระยะกอนที่สเปิร์มจะเข้าผสม	×	500
รูปที่ 65	แสดงไซโกท	×	500
รูปที่ 66	แสดงพาร์ทีโนสปอร์	×	500

