539 47
ย246ก.

THE LIBRARY
COLLEGE OF EDUCATION
BANGKOK. THAILAND

การศึกษาสาหร่ายพวก colonial Volvocales

ปริญญานิพนธ์

ของ

ยุพาภรณ์ หล่อวณิชย์

25 พ.ย. 17

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต
สิงหาคม 2517

B 36308

A STUDY ON THE COLONIAL VOLVOCALES

ABSTRACT

BY

YUPAPORN LAWVANIT

Presented in partial fulfillment of the requirements

for the Master of Education Degree

Sri Nakharinwirot University

August, 1974

คณะกรรมการที่ปรึกษาประจำตัวนิสิตได้พิจารณาปริญญานิพนธ์ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิตของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒได้

ประธาน

กรรมการ

ประกาศคุณูปการ

ปริญญานิพนธ์นี้สำเร็จได้เนื่องจากผู้เขียนได้รับคำแนะนำและความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจาก อาจารย์สมศักดิ์ แสนสุข และอาจารย์ประเสริฐ เกียรติประวัติ ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบคุณคุณเพชร สระทองไล ที่ได้ช่วยเหลือในการถ่ายรูปแบบ off set คุณจรินทร์ ยางจิต ได้ช่วยเหลือในการจัดพิมพ์ และคุณณฤทธิ์ ณ พัทลุง ได้ช่วยเหลือในกิจการทั่วไปด้วยดี.

บุพาภรณ์ หล่อวณิชย์

สารบัญ

บทที่		หน้า
1	บทนำ	1
	คำนำ	1
	ความมุ่งหมายในการศึกษา	3
	ความสำคัญในการศึกษา	3
	ขอบเขตของการศึกษา	4
2	เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาค้นคว้าและทดลอง	5
3	วัสดุและวิธีการ	15
	วัสดุ	15
	วิธีการ	19
	การเก็บตัวอย่างสาหร่ายพวก colonial Volvocales	19
	การแยกและเพาะเลี้ยงสาหร่ายพวก colonial Volvocales ให้บริสุทธิ์	20
	การศึกษาและทดลองตามจุดมุ่งหมาย	23
4	ผลการศึกษาและทดลอง	27
	การศึกษาชนิดของสาหร่ายพวก colonial Volvocales	27
	การศึกษาสัณฐานของสาหร่ายพวก colonial Volvocales	27
	การศึกษาการสืบพันธุ์ของสาหร่ายพวก colonial Volvocales	30
	การศึกษาโภชนาการของสาหร่ายพวก colonial Volvocales	33

บทที่		หน้า
5	สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	37
	สรุปผล	37
	อภิปรายผล	38
	ข้อเสนอแนะ	45
	บรรณานุกรม	46
	ภาคผนวก	49

บัญชีตาราง

ตาราง		หน้า
1	แสดงชนิดของสาหร่ายพวก colonial Volvocales ที่สำรวจพบตามแหล่งน้ำจืดต่าง ๆ	15
2	แสดงผลการทดสอบดินจาก 5 แหล่งที่มีต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายพวก colonial Volvocales	34
3	แสดงผลการทดสอบไทอามีนและอะซิเตทที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายพวก colonial Volvocales	36
4	แสดงการเปรียบเทียบความแตกต่างของแต่ละ genus ของ colonial Volvocales ที่ได้ทำการศึกษา	43

บัญชีรูปภาพ

รูปที่		หน้า
1 – 6	แสดงสัณฐานของ Gonium pectorale	50
7 – 22	แสดงการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศของ Gonium pectorale	50
23 – 26	แสดงสัณฐานของ Pandorina morum - -	51
27 – 39	แสดงการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศของ Pandorina morum	52
40 – 51	แสดงสัณฐานของ Eudorina elegans, Eudorina unicocca, Eudorina illinoisensis	52
52 – 60	แสดงการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศของ Eudorina elegans, Eudorina unicocca, Eudorina illinoisensis	53
61 – 64	แสดงสัณฐานของ Pleodorina californica	54
65 – 76	แสดงการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศของ Pleodorina californica	54
77 – 80	แสดงสัณฐานของ Volvox rousseletii	55
81 – 88	แสดงการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศของ Volvox rousseletii	55
89	แสดงสัณฐานของ Platydorina caudator - -	56
90	แสดงสัณฐานของ Pyrobotrys gracilis	56

บทที่ 1

บทนำ

คำนำ

สาหร่ายพวก colonial Volvocales เป็นสาหร่ายน้ำจืดสีเขียวซึ่งจัดอยู่ใน Division Chlorophyta, Class Chlorophyceae, Order Volvocales Smith[19] อธิบายลักษณะของ colonial Volvocales ว่าเซลที่ประกอบกันเป็นโคโลนี (colony) ซึ่งเรียกว่าวีเกทเททีฟเซล (vegetative cell) มีแฟลกเจลลา (flagella) และสามารถเคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลา บางชนิดเป็นเซลเดียว (unicellular) บางชนิดอยู่รวมกันเป็นกลุ่มซึ่งเรียกว่าโคโลนี เซลมีรูปร่างหลายแบบ เช่น รูปไข่ รูน้ำเต้า หรือรูปกระสวย ทุกพวกมีแฟลกเจลลาอยู่ทางด้านหน้า (anterior) ส่วนมากมี 2 เส้น เซลมีผนังหุ้มที่มีขอบเขตแน่นอน (definite wall) ชั้นที่ติดกับโปรโตพลาสซึม (protoplasm) เป็นสารเซลลูโลส (cellulose layer) และไม่มีสารเพคติน (pectin) ในชั้นนี้ พวกที่เป็นโคโลนีมีสารเป็นเมือกวุ้น (gellatin) ล้อมรอบ ภายในเซลประกอบด้วยโปรโตพลาสซึมมีคอนแทรคไทล์แวคคิวโอล (contractile vacuole) ซึ่งส่วนมากมี 2 อัน มักมีอายสปอต (eye spot) อันเดียวทำหน้าที่รับแสงและอยู่ค่อนไปทางด้านหน้า มีสารคลอโรฟิล (chlorophyll) อยู่ในเม็ดคลอโรพลาสต์ (chloroplast) ซึ่งมีรูปร่างแบบถ้วย (cup-shape) อยู่เป็นกลุ่มตรงกลางเซล มีไพรินอยด์ (pyrenoid) 1 อัน หรือมากกว่า มีนิวเคลียส (nucleus) 1 อัน มีการสืบพันธุ์ทั้งแบบไม่อาศัยเพศและแบบอาศัยเพศ

นักสาหร่ายวิทยาได้จัดสาหร่ายพวก Colonial Volvocales ที่มีสารเป็นเมือกวุ้นหุ้มไว้ใน Family Volvocaceae ได้แก่ Gonium sp., Pandorina sp., Eudorina sp., Platydorina sp., Pleodorina sp. และ Volvox sp. เป็นต้น

และจัดพวกที่ไม่มีสารเป็นเมือกวุ้นหุ้มไว้ใน Family Spondyromoraceae ได้แก่ Spondyromorum sp., Pyrobotrys sp.

Bold (1) ได้กล่าวถึงกำเนิดของสาหร่ายพวก colonial Volvocales ว่ามีแนวโน้มที่จะวิวัฒนาการมาจากสาหร่ายเซลเดียวพวก Chlamydomonas sp. เกิดการแบ่งเซลแล้วยังคงมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันภายหลังแบ่งเซล จึงรวมกันอยู่เป็นโคโลนี และจะเห็นได้ว่าทุกเซลในสาหร่ายพวกนี้มีลักษณะคล้ายกับเซลของ Chlamydomonas sp.

Smith (17, 19) ได้อธิบายว่า Family Volvocaceae เป็นสาหร่ายที่อยู่รวมกันเป็นโคโลนีและเคลื่อนที่ได้ เซลเรียงตัวเป็นแผ่นแบน (disk shape) หรือทรงกลมตรงกลางกลวง (hollow sphere) และเซลเรียงตัวอยู่รอบนอกชั้นเดียว ทุกโคโลนีเป็น coenobia หมายความว่าจำนวนเซลในโคโลนีมีจำนวนจำกัดและมีแบบแผนการเรียงตัวที่แน่นอน เมื่อเข้าสู่ระยะที่จะสืบพันธุ์ได้จะไม่มีการเพิ่มจำนวนเซล โคโลนีมีขั้วที่แน่นอนเมื่อว่ายน้ำจะเห็นด้านหน้าพุ่งไปก่อนเสมอ จำนวนเซลในโคโลนีเป็นทวีคูณของสอง และมีสารเป็นเมือกวุ้นหุ้มโคโลนี บางพวกมีเส้นใยไซโตพลาสซึม (cytoplasmic strand) เชื่อมเซลให้ติดต่อกัน เซลมีรูปร่างกลม รูปไข่ หรือรูปน้ำเต้า (pyriform) มีแฟลกเจลลา 2 เส้น และมีโครงสร้างเหมือน Chlamydomonas sp. ในโคโลนีหนึ่ง ๆ เซลแต่ละเซลมีลักษณะเหมือนกันทั้งขนาดและโครงสร้าง จะแตกต่างกันตรงขั้วเท่านั้น สืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศโดยมีเซลสืบพันธุ์ขนาดใหญ่ เรียกว่าโกนิเดีย (gonidia) ซึ่งจะแบ่งเซลและสร้างออโตโคโลนี (autocolony) สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยการสร้างเชื้อเพศ (gamete) มีการผสมของเชื้อเพศที่มีขนาดเท่ากัน (isogamy) หรือมีการผสมของเชื้อเพศที่มีขนาดแตกต่างกัน (anisogamy) ได้ไซโกท (zygote) ที่มีผนังหนา เมื่อไซโกทงอกจะได้ซูโอสปอร์ (zoospore) 4 เซล ซึ่งอาจอยู่เป็นเซลเดี่ยว ๆ หรือรวมกันเป็นโคโลนี

Smith (19) ได้อธิบายลักษณะของ Family Spondylomoraceae ว่าเป็น colonial Valvocales ที่ไม่มีสารที่เป็นเมือกวุ้นหุ้ม เซลเรียงตัวซ้อนกันเป็นชั้น ๆ ละ 4 เซล โดยชั้นหนึ่งสลับกับชั้นถัดไป แกนยาวของเซลไม่เรียงตามแนว

รัศมีอย่างพวก Volvocaceae แต่เซลเรียงขนานตามแกนยาว ลักษณะที่แตกต่างกับ Volvocaceae อีกประการหนึ่งคือ ในการแบ่งตัวเพื่อสร้างโคโลนีลูก (daughter colony) ไม่มีการจัดเรียงตัวของเซลแบบเรียงกันเป็นแผ่นแบน เซลมีรูปร่างคล้ายหัวผักกาดสั้น ๆ (napiform) มีแฟลกเจลลา 2 หรือ 4 เส้นอยู่ทางด้านหน้า มีคอนแทรคไทล์แวคคิวโอล 2 อัน อยู่ตรงฐานของแฟลกเจลลา อายสปอตอาจอยู่ทางด้านหน้าหรือด้านท้ายคลอโรพลาสต์มักรวมกันเป็นกลุ่มหรือรูปถ้วย ส่วนมากไม่มีไพรีนอยด์ สืบพันธุ์โดยการแบ่งเซลพร้อม ๆ กัน เป็นโคโลนีลูกหรือแบ่งเซลใดเซลหนึ่งเท่านั้น

ลาหร่ายพวก colonial Volvocales พบได้ทั่วไปตามแหล่งน้ำต่าง ๆ เช่น บ่อ สระ ดู แอ่งน้ำ และปลักควาย มักปะปนอยู่กับสาหร่ายชนิดอื่น บางครั้งอาจพบมากในบ่อโคลนหรือปลักควายที่มีสารอินทรีย์มาก ๆ

ความมุ่งหมายในการศึกษา

1. เพื่อศึกษาชนิดของสาหร่ายพวก colonial Volvocales ที่พบในประเทศไทย

2. เพื่อศึกษาสัณฐาน การสืบพันธุ์ และโภชนาการของสาหร่ายพวก colonial Volvocales ในห้องปฏิบัติการ

3. เพื่อศึกษาการนำสาหร่ายพวก colonial Volvocales ไปใช้เป็นอุปกรณ์ในการสอนและวิจัย

ความสำคัญในการศึกษา

1. ทำให้ทราบวิธีการและเทคนิคในการแยกและเลี้ยงสาหร่ายพวก colonial Volvocales ให้บริสุทธิ์

2. ทำให้ทราบชนิดของสาหร่ายพวก colonial Volvocales ที่พบในประเทศไทย

3. ทำให้ทราบสัณฐาน การสืบพันธุ์ และโภชนาการของสาหร่ายพวก colonial Volvocales

4. วิธีการ เทคนิค และผลจากการศึกษาทดลองครั้งนี้อาจจะนำไปใช้เป็นแนวทางในการศึกษาค้นคว้าและวิจัยเกี่ยวกับสาหร่ายชนิดอื่นต่อไป อีกทั้งอาจจะนำสาหร่ายพวกนี้ไปใช้เป็นอุปกรณ์ในการสอนได้เป็นอย่างดี

ขอบเขตของการศึกษา

การศึกษาทดลองนี้จะทำเฉพาะสาหร่ายพวก colonial Volvocales ที่สำรวจพบตามแหล่งน้ำจืดในประเทศไทย ซึ่งนำมาแยกและเพาะเลี้ยงให้บริสุทธิ์ในห้องปฏิบัติการ

บทที่ 2

เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาค้นคว้าและทดลอง

การศึกษาค้นคว้าและทดลองเกี่ยวกับ Gonium มีดังนี้

Smith[19] อธิบายลักษณะของ Gonium ว่าเป็นโคโลนีประกอบด้วยเซลจำนวน 4, 16 หรือ 32 เซล จัดเรียงตัวเป็นแผ่นแบน ๆ เซลทั้งหมดฝังอยู่ในสารที่เป็นเมือกวุ้น และยึดติดกันด้วยสารที่เป็นเมือกวุ้นที่เหนียว สำหรับโคโลนีที่มี 16 เซล จะมีเซลเรียงอยู่รอบนอก 12 เซล ด้านละ 3 เซล ตรงกลางมี 4 เซล แต่ละเซลเชื่อมติดต่อกันด้วยเส้นใยไซโตพลาสซึมที่บางมาก เซลมีแฟลกเจลลา 2 เส้นอยู่ทางด้านหน้า มีคอนแทรคไทล์แวคคิวโอลที่ฐานของแฟลกเจลลา มีอายสปอต 1 อันอยู่ปลายสุดของด้านหน้า คลอโรพลาสต์เป็นรูปถ้วย มีไพรีนอยด์ 1 อัน

Smith[19] กล่าวถึงการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศของ Gonium ว่าทุกเซลในโคโลนีจะสร้างโคโลนีลูก สำหรับโคโลนีที่มี 16 เซลนั้นถ้าเกิดแตกโดยบังเอิญ มันสามารถสร้างโคโลนีขึ้นใหม่ทันที โคโลนีลูกแต่ละกลุ่มมีเยื่อหุ้มของมันเองขณะที่มันแยกออกจากเยื่อหุ้มของโคโลนีพ่อแม่ (parent colony) เซลที่ถูกแยกออกมาจะกลายเป็นอะคิเนท (akinete) หรือเจริญเป็นพาลเมลลาเสตจ (palmella stage) สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยการสร้างเชื้อเพศ ในโคโลนีหนึ่งมีเพศเดียว (heterothallic) มีการผสมของเชื้อเพศที่มีขนาดเท่ากัน (isogamy) ได้ไซโกทซึ่งมีแฟลกเจลลา 4 เส้น เคลื่อนที่ได้ รูปร่างจะกลมขึ้นแล้วสร้างผนังเซลหนาและเรียบ หลังจากไซโกทงอกแล้วจะสร้างซูโอสปอร์ 4 ตัว อยู่รวมกันเป็นโคโลนี บางครั้งซูโอสปอร์จะแยกออกจากกันไปอยู่เดี่ยว ๆ

Stein[21] ได้ศึกษาโคโลนีที่สืบพันธุ์แบบใช้เพศ (Sexual population) ของ Gonium pectorale จากการสำรวจ Gonium pectorale 33 โคโลนี พบว่ามีการสืบพันธุ์แบบใช้เพศในโคโลนีที่แยกมาเลี้ยงจากที่ต่าง ๆ กัน (Sexual population) พบเพียงโคโลนีเดียวที่มี 2 เพศ อยู่ภายในโคโลนีเดียวกัน (homothallic) โคโลนีที่แยกมาเลี้ยงจากที่ต่าง ๆ กัน สามารถผสมพันธุ์กันได้

นอกจากนี้เขาได้ศึกษาถึงปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการผสมพันธุ์ ได้แก่สภาพทางภูมิศาสตร์ของบริเวณที่เก็บสาหร่าย เส้นทางที่มันเคลื่อนที่ไปเองตามกระแสน้ำหรือถูกกระแสน้ำพัดพาไป การเคลื่อนย้ายโดยอาศัยสิ่งอื่นพาไป และการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ซึ่งเลี้ยงใน pH, อุณหภูมิและอาหารต่าง ๆ

Stein[22] ได้ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิที่มีต่อโคโลนีที่สืบพันธุ์โดยใช้เพศ (sexual population) ของ Gonium pectorale พบว่าการผสมพันธุ์ระหว่างโคโลนีหนึ่งกับอีกโคโลนี (interpopulation cross) และการผสมภายในโคโลนีเดียวกัน (interpopulation cross) เกิดที่อุณหภูมิ 10, 15, 20 และ 25 องศาเซนติเกรด เมื่อศึกษา 34 โคโลนีพบว่าหนึ่งในสามได้รับอิทธิพลจากอุณหภูมิ แสดงว่าอุณหภูมิเป็นปัจจัยอย่างหนึ่งต่อการสืบพันธุ์แบบใช้เพศของโคโลนีที่แยกมาเลี้ยงจากที่ต่าง ๆ (sexual isolation)

Saito[14] ได้ศึกษาการเจริญเติบโตของ Gonium multicoccum ในอาหารที่สังเคราะห์ขึ้น (synthetic media) โดยศึกษาความต้องการด้านโภชนาการอย่างละเอียด จากการทดลองพบว่าอะซิเตท (acetate) เป็นสารที่ทำให้การเจริญเติบโตมีประสิทธิภาพมากที่สุดทั้งในที่มีแสงสว่างต่อเนื่องกันและในที่มืด อาจใช้ไพรูเวท (pyruvate) หรือแลคเตท (lactate) แทนอะซิเตทได้ในที่มีแสงสว่างต่อเนื่องกัน แต่ใช้แทนไม่ได้ในที่มืด ส่วนน้ำตาลใช้แทนอะซิเตทไม่ได้เลย การเติมไทอามีน (thiamine) ลงไปช่วยให้การเลี้ยงเจริญได้ดีที่สุด การเติมวิตามินบี$_{12}$ ลงไปในอาหารช่วยลดระยะการปรับตัว (lag phase) ในตอนแรกของการเจริญเติบโตให้สั้นลง แต่ผลิตผลขั้นสุดท้ายไม่เปลี่ยนแปลง เกลือไนเตรท (NO_3^-) แอมโมเนีย (NH_3) และยูเรีย (Urea) มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตเท่ากัน เกลือไนไตรท (NO_2^-) อาร์จินีน (arginine) กลูตามีน (glutamine) และกรดยูริค (Uric acid) ช่วยให้การเจริญเติบโตสม่ำเสมอ

การศึกษาค้นคว้าและทดลองเกี่ยวกับ Pandorina มีดังนี้

Smith[19] อธิบายลักษณะของ Pandorina ว่าเป็นโคโลนีที่มีรูปร่างเกือบกลม จนถึงรูปรี มี 4, 8 หรือ 32 เซล เซลเรียงกันเป็นวงและอยู่ชิดกันมาก จนเกิดแรงกดดันซึ่งกันและกัน ทำให้เซลแบน เซลเป็นรูปน้ำเต้าหรืออาจกลม มีแฟลกเจลลา 2 เส้นทางด้านหน้า มีคอนแทรคไทล์แวคคิวโอล 2 อันอยู่ที่ฐานแฟลกเจลลา กลอโรพลาสต์รูปชาม (bowl shape) มีไพรีนอยด์ 1 อัน อายสปอตอาจมีขนาดเดียวกันหรือแตกต่างกัน

Smith[19] กล่าวถึงการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ ว่าเกิดการสร้างโคโลนีลูกขึ้นพร้อม ๆ กันในทุกเซลของโคโลนี ก่อนสืบพันธุ์โคโลนีจะหยุดเคลื่อนที่ จมลงสู่ก้นสระ เยื่อหุ้มโคโลนีจะอิ่มน้ำและบวม แต่ละเซลเมื่อแบ่งแล้วจะจัดเรียงตัวเป็นแผ่นแบน (plakea) ได้โคโลนีเป็นรูปชาม ต่อมาจะกลมขึ้น หลังจากนั้นโคโลนีลูกจะว่ายน้ำหนีออกจากเยื่อหุ้มของโคโลนีพ่อแม่ การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ในโคโลนีหนึ่งมีเพศเดียว (heterothallic) มีการผสมของเชื้อเพศที่มีขนาดไม่เท่ากัน (anisogamy) ต่อมาเชื้อเพศจะว่ายออกจากโคโลนีไปตามลำพัง เชื้อเพศผู้ (male gamete) มีขนาดเล็กกว่าเชื้อเพศเมีย (female gamete) และว่ายน้ำได้เร็วกว่า ไซโกทที่เกิดจากการผสมของเชื้อเพศสองชนิดมีแฟลกเจลลา 4 เส้น เคลื่อนที่ได้ไม่นานนัก มันก็จะทิ้งแฟลกเจลลาแล้วสร้างผนังเซลหนา ไซโกทที่เจริญเต็มที่จะมีผนังเซลเรียบและโปรโตพลาสซึมมีสีแดง เมื่อไซโกทงอกจะได้ซูโอสปอร์ที่มีแฟลกเจลลา 2 เส้น ซูโอสปอร์มารวมกลุ่มกันชั่วระยะหนึ่ง แล้วแฟลกเจลลาจะสลายไป แล้วสร้างเยื่อหุ้มซึ่งเป็นสารที่เป็นเมือกวุ้น จากนั้นจะเริ่มแบ่งตัวจนกระทั่งเป็นโคโลนีใหม่

Palmer และ Starr[12] ได้ศึกษาโภชนาการของ Pandorina morum โดยทั้งสองคนสามารถหาสูตรอาหารที่รู้องค์ประกอบ (Define medium) ให้เหมาะสมสำหรับ Pandorina morum 3 strains ได้สำเร็จ จากการทดสอบพบว่า มันไม่ต้องการวิตามินหรือสารประกอบอินทรีย์อื่นอีก นอกจากที่ระบุไว้ในอาหารเลี้ยงข้างต้น pH ที่เหมาะสมที่สุดของตอนแรกเริ่มอยู่ระหว่าง 7.0 ถึง 8.0 แหล่งอาหารที่ให้

ธาตุคาร์บอน ที่นำมาทดสอบมีหลายชนิด แต่พบว่ามีเพียงไกลโคเลท (glycolate) และอะซิเตท (acetate) เท่านั้น เป็นแหล่งที่ให้ธาตุคาร์บอนที่สามารถกระตุ้นการเจริญ-เติบโตดีที่สุด Mixotrophic growth ของทั้ง 3 strains ถูกกระตุ้นโดยไกลโคเลท ในที่มีแสงสว่าง strain 880 และ N 76 - 6 ถูกกระตุ้นโดยอะซิเตท strain N 76-6 เท่านั้นที่ใช้อะซิเตทเพื่อการเจริญเติบโตแบบ heterotrophic growth ในที่มืด มีการสำรวจ Pandorina morum 30 strains ซึ่งพบกระจายอยู่ทั่วโลก เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตแบบ mixotrophic และ heterotrophic โดยใช้อะซิเตท ผลปรากฏว่าพวกที่หนึ่งอะซิเตทไม่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโต ทั้งในที่มีแสงสว่างหรือที่มืด พวกที่สองอะซิเตทกระตุ้นการเจริญเติบโตในที่มีแสงสว่างเท่านั้น พวกที่สามอะซิเตทกระตุ้นการเจริญ-เติบโต ทั้งในที่มีแสงสว่างและที่มืด

การศึกษาค้นคว้าและการทดลองเกี่ยวกับ Eudorina มีดังนี้

Smith [19] อธิบายลักษณะของ Eudorina ว่าโคโลนีเป็นรูปไข่มี 16, 32 หรือ 64 เซล เรียงตัวกันเป็นชั้น ๆ ตามขวางของโคโลนี เซลรูปร่างกลมและมีขนาดเท่ากัน มีแฟลกเจลลา 2 เส้น แต่ละเส้นยาว 2 - 4 เท่าของเส้นผ่าศูนย์กลางของเซล มีคอนแทรคไทล์แวคคิวโอล 2 อัน อยู่ที่ฐานของแฟลกเจลลา มีอายสปอต มีคลอโรพลาสต์รูปถ้วย มีไพรินอยด์ 1 อัน หรือมากกว่า สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแบ่งเซลเป็นออกโตโคโลนีแล้วเปลี่ยนเป็นแผ่นแบน หลังจากนั้นจะกลายเป็นโคโลนีลูก บางทีเซลในโคโลนีอาจเป็นหมัน สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ โดยการผสมของเชื้อเพศที่มีขนาดไม่เท่ากัน มีทั้งโคโลนีที่มีเพศเดียวหรือสองเพศในโคโลนีเดียวกัน

Goldstein [3] ได้ศึกษาการจำแนกชนิด (Speciation) และพฤติกรรมการผสมพันธุ์ (mating behavior) ใน Eudorina โดยศึกษาเปรียบเทียบสัณฐานของ Eudorina จำนวน 73 clones ซึ่งแยกมาจาก 44 natural populationการเจริญเติบโตนั้น อยู่ภายใต้สิ่งแวดล้อมที่ถูกควบคุม มีการสำรวจความสามารถในการผสมพันธุ์ของ Eudorina ซึ่งในโคโลนีหนึ่งมีเพศเดียวจำนวน 22 คู่ ซึ่งเป็นตัวแทนของ 4 species

และ 1 variety พบว่า species ที่มีการจัดเรียงตัวของไซโกท แตกต่างกัน มักจะไม่ผสมพันธุ์ใน species เดียวกัน พวกที่ผสมพันธุ์ข้าม species มียีนอยู่หนึ่งคู่ควบคุมการถ่ายทอดแบบการผสมพันธุ์ (mating type) และการถ่ายทอดของยีนเกิดขึ้นระหว่างสเตรน ซึ่งได้มาจากที่ต่าง ๆ กัน เขาได้แสดงวิธีจำแนก species ของ Eudorina จำนวน 9 species ได้แก่ E. elegans, E. unicocca, E. cylindrica E. conradii, E. illinoisensis, E. californica, E. interconnexa, E. echidna

Lunts[9] ได้ศึกษาช่วงเวลา (periodicity) ของการแบ่งตัวใน Eudorina elegans ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ปัจจัยขั้นพื้นฐานที่กำหนดการแบ่งตัวเป็นระยะสม่ำเสมอของ Eudorina elegans มิใช่การสะสมของสารประกอบอินทรีย์ซึ่งได้จากการสังเคราะห์แสง แต่เป็นการเปลี่ยนแปลงช่วงเวลาของกลางวันและกลางคืนมากกว่า ต้องมีการเปลี่ยนแปลงช่วงเวลาดังกล่าว 5 ครั้ง มันจึงจะเกิดการแบ่งตัว แม้ว่ามันจะต้องตาย ภายหลังจากการแบ่งตัวแล้วก็ตาม ทั้งนี้เนื่องมาจากการสังเคราะห์แสงมีระยะเวลาสั้นเช่น 40 ชั่วโมง หรือต่ำกว่านั้น จะผลิตสารประกอบอินทรีย์ให้ลูกไม่เพียงพอ

Goldstein[4] ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโคโลนี (colony differentiation) ใน Eudorina เขาพบแบบแผนใหม่ของการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโคโลนีกลุ่มหนึ่ง (clone) ซึ่งเจริญเติบโตมาจากโคโลนีเดียวกัน โดยการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ ซึ่งโดยปกติแล้ว Eudorina elegans ไม่มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโคโลนี แบบแผนใหม่นี้เซลที่ประกอบกันเป็นโคโลนี (Somatic cell) และเซลที่สามารถสืบพันธุ์ได้ (Generative cell) เรียงตัวบนด้านที่ตรงข้ามกันตามแกนของโคโลนี เซลที่ประกอบกันเป็นโคโลนีจะค่อย ๆ ตายไปเมื่อโคโลนีเจริญเต็มที่ เขาได้ศึกษาเปรียบเทียบกับ Eudorina ชนิดอื่น ๆ เช่น Eudorina illinoisensis, Eudorina californica ซึ่งรู้แบบแผนของการเปลี่ยนแปลงแล้ว

การศึกษาค้นคว้าและทดลองเกี่ยวกับ Platydorina มีดังนี้

Smith[19] อธิบายลักษณะของ Platydorina ว่าโคโลนีเป็นรูปเกือกม้า

แบนปลายสุดทางด้านหน้าค่อนข้างกลม ปลายสุดทางด้านท้ายมี conical projection ยื่นออกมา 3 – 5 อัน โคโลนีประกอบด้วย 16 หรือ 32 เซล เซลเรียงเป็นชั้นเดียว โคโลนีที่มี 16 เซล 10 เซล เรียงอยู่ที่ขอบ และ 6 เซลอยู่ภายใน ส่วนโคโลนีที่มี 32 เซล 12 เซล เรียงอยู่ที่ขอบและ 20 เซลอยู่ภายใน เซลที่ขอบมีแกนตามยาวขนานกับระนาบของโคโลนี เซลที่อยู่ภายในมีแกนตามยาวตั้งฉากกับโคโลนี การจัดเรียงของเซลจึงสลับกัน เซลรูปร่างกลมรีหรือรูปน้ำเต้า มีแฟลกเจลลา 2 เส้น มี คอนแทรคไทล์–แวคคิวโอล 2 อัน มีอายสปอต 1 อัน คลอโรพลาสต์รูปถ้วย มีไพรีนอยด์ 1 อัน และมีนิวเคลียส 1 อัน อยู่ภายในคลอโรพลาสต์ทุกเซลในโคโลนีมีขนาดเท่ากัน สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแบ่งเซลของทุก ๆ เซลในโคโลนี เพื่อสร้างออโตโคโลนี เมื่อเซลแบ่งมากขึ้นจะมีการจัดเรียงตัวเป็นแผ่นแบนแล้วกลับด้านในออกมาข้างนอก (inversion) โคโลนีมีรูปร่างกลม ต่อมาจะกลายเป็นโคโลนีแบน การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ในโคโลนีมีเพศเดียว มีการผสมของเชื้อเพศที่มีขนาดไม่เท่ากัน เชื้อเพศผู้ถูกสร้างขึ้นโดยการแบ่ง–เซลในโคโลนีเพศผู้ แล้วว่ายน้ำออกไปจนใกล้โคโลนีเพศเมีย ซึ่งมีเซลที่ทำหน้าที่เป็นเชื้อ–เพศเมีย เชื้อเพศเมียจะหลุดออกมาทางรูของเยื่อหุ้มโคโลนี เชื้อเพศผู้จะเข้าไปทางด้านท้ายของเชื้อเพศเมีย ได้ไซโกทที่มีแฟลกเจลลา 2 เส้น ต่อมาจะทิ้งแฟลกเจลลาแล้วสร้าง–ผนังหนาขึ้นหุ้ม

Harris และ Starr[6] ได้ศึกษาวงชีวิตและสรีรวิทยาของการสืบพันธุ์ของ Platydorina caudata ในอาหารที่รู้องค์ประกอบ (axenic culture) พบว่าการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเกิดขึ้นโดยแต่ละเซลแบ่งตัว 4 หรือ 5 ครั้งติดต่อกัน เพื่อสร้างโคโลนีที่มี 16 หรือ 32 เซล เมื่อโคโลนีพลิกด้านในออกมาข้างนอกแล้วจะได้โคโลนีที่มีรูปร่างกลม ต่อมาโคโลนีเปลี่ยนเป็นรูปร่างแบน ทุกสเตรนแยกเพศ (dioecious) และผสมพันธุ์ต่างโคโลนีกัน มีการสร้างมัดของสเปอร์ม (sperm bundle) ในโคโลนีหนึ่ง ขณะที่เซลที่ประกอบกันเป็นโคโลนี (vegetative cell) ของอีกโคโลนีหนึ่งทำหน้าที่เป็นไข่ ถ้าไม่มีการผสมกันระหว่างสเปอร์มกับไข่ เซลเพศเมียจะแบ่งตัวเพื่อสร้างโคโลนีลูก ถ้ามีการผสมจะได้ไซโกทแล้วงอกเป็นเซลที่มีแฟลกเจลลา 2 เส้น ซึ่งห่อหุ้มด้วยถุงที่เป็นผนังบาง ๆ

เซลจะแบ่งตัวเรื่อย ๆ เช่นเกี่ยวกับการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เมื่อถุงพลิกด้านในกลับออกมาด้านนอกจะปล่อยโกโลนีเล็ก ๆ ออกมามีรูปร่างแบนและว่ายน้ำได้รวดเร็ว จากการทดลองพบว่าขบวนการสร้างเซลสืบพันธุ์ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของไนโตรเจน สเปอร์มจะเข้าผสมกับไข่ภายหลังจากที่ไนโตรเจนได้หมดไปแล้ว การผสมของสเปอร์มที่สมบูรณ์ ยังไม่เคยพบที่ pH 8.0 หรือสูงกว่านี้ พบว่าแสงสว่างเป็นสิ่งที่จำเป็นต่อการผสมพันธุ์

Harris[7] ได้ศึกษาโภชนาการของ Platydorina caudata Kofoid โดยนำวิตามิน β-aminobenzoic acid, thiamine, biotin, nicotinamide และ B 12 ไปทดสอบว่าสามารถกระตุ้นความเจริญเติบโตของ Platydorina caudata ได้มากน้อยเพียงใด ผลการทดลองพบว่า B 12 เท่านั้นที่กระตุ้นการเจริญเติบโต ยูเรียและโซเดียมไนเตรทช่วยเร่งการเจริญเติบโตได้มาก ส่วนโซเดียมไนเตรท แอมโมเนียมไนเตรท และกรดคาสมิโน (casimino acid) ช่วยเร่งการเจริญเติบโตได้ดีพอใช้ Platydorina caudata ต้องการคาร์บอน เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตแบบไม่ใช้ออกซิเจน เขาศึกษาสารประกอบคาร์บอน 25 ชนิด พบว่าไอโซซิเตรท (isocitrate) ช่วยในการเจริญเติบโตแบบไม่ใช้ออกซิเจนในที่มีแสงสว่างเท่ากับการเจริญเติบโตแบบใช้ออกซิเจน การเจริญเติบโตทั้งสองแบบนี้ไม่เกิดในที่มืด แม้ว่าจะใส่สารประกอบคาร์บอนชนิดใดก็ตาม การเจริญเติบโตดีมากที่ pH 7 บางสเตรนพบว่าการเพิ่ม pH ให้สูงขึ้นอาจจะทำให้มีการเจริญเติบโตดีกว่า pH 7 หลายเท่า การเจริญเติบโตจะเร็วขึ้นถ้าเพิ่มอุณหภูมิ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการกระทำดังกล่าว ทำให้เกิดการเพิ่มความเข้มของแสงก็อาจเป็นได้

Harris[8] ได้ศึกษาสารยับยั้งตัวเอง (autoinhibitory substance) ซึ่งสร้างขึ้นโดย Platydorina caudata Kofoid สารนี้ยับยั้งการเจริญเติบโตของตัวเอง พบในน้ำที่กรอง (culture filtrate) ได้จากอาหารที่เคยเลี้ยง Platydorina caudata มาและสาหร่ายดังกล่าวตายไปหมดแล้ว สารดังกล่าวได้นำมาตรวจหาคุณสมบัติหลายประการ รวมทั้งพบว่าทริพซิน (trypsin) สามารถทำลายคุณสมบัติในการยับยั้งของสารดังกล่าวได้

การศึกษาค้นคว้าและทดลองเกี่ยวกับ Pleodorina มีดังนี้

Smith[19] อธิบายลักษณะของ Pleodorina ว่าเป็นโคโลนีที่มีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ ประกอบด้วย 32, 64 หรือ 128 เซล โคโลนีที่ยังอ่อนไม่สามารถแยกว่าเซลใดเป็นเซลที่ประกอบกันเป็นโคโลนี (vegetative cell) หรือเซลที่สามารถสืบพันธุ์ได้ (reproductive cell) แต่โคโลนีที่แก่แล้วเซลที่สามารถสืบพันธุ์ได้จะมีเส้นผ่าศูนย์กลางเป็น 2 หรือ 3 เท่า ของเซลที่ประกอบเป็นโคโลนี และมีไพรีนอยด์มากขึ้นอีก 1 อัน เซลรูปร่างกลมหรือรูปไข่ มีอายสปอตอยู่ตรงฐานของแฟลกเจลลา มีคอนแทรค-ไทลแวคคิวโอล 2 อัน คลอโรพลาสต์รูปถ้วย ผนังเซลบาง ถ้าเป็นเซลที่ประกอบกันเป็นโคโลนีจะมีไพรีนอยด์เพียงอันเดียว ถ้าเป็นโกนิเดีย มักไม่มีแฟลกเจลลาและอายสปอต คลอโรพลาสต์รวมกันเป็นก้อนมีไพรีนอยด์มาก สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการแบ่งเซลเป็นจำนวนมากพร้อม ๆ กัน โกนิเดียทั้งหมดแบ่งเป็นออโตโคโลนี ซึ่งมีการจัดเรียงตัวเป็นแผ่นแบนและมีการพลิกด้านในออกมาด้านนอก

การศึกษาค้นคว้าและทดลองเกี่ยวกับ Volvox มีดังนี้

Smith[19] ได้อธิบายลักษณะของ Volvox ว่าเป็นโคโลนี ซึ่งประกอบด้วยเซลจำนวนมากใน 1 โคโลนีมีเซลอย่างน้อยประมาณ 500 เซล หรืออย่างมากประมาณ 50,000 เซล Volvox มีจำนวนเซลในโคโลนีมากกว่าสาหร่ายพวก colonial Volvocales อื่น ๆ รูปร่างของโคโลนี เป็นรูปกลมหรือรูปไข่ เซลเป็นรูปไข่มีแฟลกเจลลา 2 เส้น เซลเรียงกันอยู่ที่ผิวตรงกลางกลวง แต่ละเซลถูกล้อมรอบด้วยสารที่เป็นเมือกวุ้น และสารที่ล้อมรอบเซลนี้อาจเชื่อมหรือแยกขาดจากกันจากเซลอื่น ภายในโคโลนีมีสารที่เป็นเมือกวุ้นเหลว ๆ บรรจุอยู่ บาง species แต่ละเซลจะเชื่อมติดต่อกันด้วยเส้นใยไซโตพลาสซึม เซลทางด้านหน้าของโคโลนีมักมีขนาดใหญ่กว่าเซลทางด้านท้าย ในโคโลนีที่เกิดขึ้นใหม่ขนาดของเซลจะเท่ากัน เมื่อโคโลนีมีอายุมากขึ้น เซลทางด้านท้ายของโคโลนีจะเปลี่ยนแปลง (differentiation) ทั้งโครงสร้างและหน้าที่ไปเป็นเซลสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เรียกว่าโกนิเดีย เซลทั้งหมดของโคโลนีหนึ่ง ๆ ไม่สามารถสร้างโคโลนีลูกได้-หมดทุกเซล แต่ละเซลมีแฟลกเจลลา 2 เส้น บางทีอาจมีคอนแทรคไทลแวคคิวโอลถึง 5 อัน

อยู่ทางด้านหน้า คลอโรพลาสต์เป็นแผ่นรูปถ้วยมีไพรีนอยด์ 1 อัน นิวเกลียสอยู่ตรงกลางเซล และมีเส้นใยติดต่อกับแฟลกเจลลา เพื่อส่งความรู้สึก มีอายสปอต 1 อัน ทางด้านหน้า

Smith(19) ได้กล่าวถึงการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศว่า เมื่อสร้างโกนิเดียแล้วจะเรียงกันอยู่ในวุ้น รูปร่างเป็นถุงกลม ๆ บุมเข้าไปส่วนในของโคโลนี โกนิเดียมักมีเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 10 เท่าของเซลที่ประกอบกันเป็นโคโลนี แต่ละโกนิเดียจะแบ่งเซลต่อไป การจัดเรียงตัวเป็นแผ่นแบนในระหว่างการเจริญเติบโต โคโลนีลูกแต่ละอันจะฝังอยู่ในสารที่เป็นเมือกวุ้นในโคโลนี ในที่สุดมันจะออกมาทางรูเปิดที่ผนังของถุง การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศเป็นแบบโอโอแกมมี (oogamy) บางสปีชีมีสองเพศในโกโลนีเดียวกัน บางสปีชีโคโอนิหนึ่งมีเพศเดียว แอนเทอโรซอยด์ (antherozoid) เจริญขึ้นโดยการแบ่งเซลที่มีลักษณะคล้ายกับโกโนเดียในโคโลนีเพศผู้ บาง species ทุกเซลสามารถสร้างเชื้อเพศ บาง species มีบางเซลเท่านั้นที่สร้างเชื้อเพศ เชื้อเพศมีรูปร่างคล้ายกระสวย มีแฟลกเจลลา 2 เส้น จำนวนของเชื้อเพศขึ้นอยู่กับสปีชีอาจมีตั้งแต่ 16, 32, 64, 128, 256 หรือ 512 เมื่อแบ่งเซลแล้วเซลจะเรียงกันเป็นแผ่นแบนและโค้งแบบจาน กลุ่มของแอนเทอโรซอยด์จะไม่แตกออกจนกว่าจะไปถึงไข่ การสร้างไข่คล้ายกับการสร้างโกนิเดีย คือบางเซลเท่านั้นที่จะทำหน้าที่เป็นไข่ได้ เมื่อถึงระยะผสมพันธุ์ แอนเทอโรซอยด์จะว่ายน้ำเข้าผสมกับไข่ บางทีไข่อาจเจริญได้โดยไม่ต้องผสมเรียกว่า parthenogenesis หลังจากผสมแล้วไซโกทจะมีผนังหนาเรียบ หรือเป็นแฉก ๆ มีสีแดงหรือสีส้ม ไซโกทจะไม่งอกจนกว่ามันจะหลุดออกมาจากโคโลนี โดยที่โคโลนีเดิมตายหรือเน่า ก่อนงอกนิวเคลียสในไซโกทจะแบ่งแบบไมโอซิส เมื่อผนังไซโกทแตกออกซูโอสปอร์ก็จะหลุดออกมา มักเหลือรอดเพียง $\frac{1}{4}$ มีแฟลกเจลลา 2 เส้น การเจริญเติบโตเป็นโคโลนีเกิดจากการแบ่งเซลคล้ายกับการแบ่งเซลในการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ

Smith(19) ได้อธิบายลักษณะของ Pyrobotrys ว่าโคโลนีมีรูปร่างคล้ายลูกหม่อน หรือพวงองุ่น เซลเรียงสลับกันเป็นชั้น ๆ ละ 4 เซล เซลมีแฟลกเจลลา 2 เส้น คลอโรพลาสต์รูปถ้วย ไม่มีไพรีนอยด์ มีอายสปอตอยู่ทางด้านหน้า สืบพันธุ์แบบ

ไม่อาศัยเพศ โดยสร้างโคโลนีลูก ซึ่งเกิดขึ้นในทุก ๆ เซลของโคโลนี ครั้งแรกเซลจะแบ่งตามยาว การแบ่งครั้งต่อไปไม่มีแบบแผนเฉพาะเจาะจง สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ โดยสร้างเชื้อเพศ มีการผสมระหว่างเชื้อเพศที่มีขนาดเท่ากัน ในโคโลนีหนึ่งมีทั้งสองเพศ แต่การรวมกันของเชื้อเพศต้องมาจากคนละโคโลนี

Goulding และ Merrett[5] ได้ศึกษาการนำอะซิเตทไปใช้เมื่อมีแสงสว่าง (Photoassimilation) โดย Pyrobotrys stellata เขาได้ทดสอบสารประกอบคาร์บอนหลายชนิด ได้แก่ แอลกอฮอล์ กรดอะมิโน กรดอินทรีย์และน้ำตาล ว่ามีผลต่อการเจริญเติบโตอย่างไร ทั้งในที่มืดและที่มีแสงสว่าง สาหร่ายชนิดนี้เจริญเติบโตดีเมื่อมีอะซิเตทและแสงสว่าง สารดังกล่าวส่วนมากจะถูกเปลี่ยนเป็นสารประกอบพวก polysaccharide มากกว่าที่จะปล่อยออกมาเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ในที่มีแสงสว่างน้อย

Merret[11] ได้ศึกษา Carbondioxide fixation ใน Pyrobotrys stellata พบว่าไม่สามารถใช้คาร์บอนไดออกไซด์ได้ดีเพื่อการเจริญเติบโตในที่มีแสงสว่าง จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าเป็นผลเนื่องจากการที่เอนไซม์ ribulose - 1 - 5 diphosphate carboxylase ที่พบในสาหร่ายดังกล่าวมีการทำงานน้อย

บทที่ 3

วัสดุและวิธีการ

วัสดุ

วัสดุได้แก่สาหร่ายพวก colonial Volvocales ซึ่งสำรวจพบตามแหล่งน้ำจืดต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

ตาราง 1 แสดงชนิดของสาหร่ายพวก colonial Volvocales ที่สำรวจพบตามแหล่งน้ำจืดต่าง ๆ

ชนิดสาหร่าย	สถานที่	ผู้แยก	วันเดือนปีที่แยก
Gonium pectorale			
G_1 รย.–เมือง	คูน้ำหน้าสวนศรีเมือง ต.ท่าประดู่ อ.เมือง จ.ระยอง	ยุพาภรณ์ หล่อวณิชย์	4 พค.16
G_2 กท.–พระโขนง	แอ่งน้ำเล็ก ๆ สนามกีฬาราชนาวิบางนา เขตพระ โขนง กรุงเทพมหานคร	"	1 มิย.16
G_3 ลพ.–เมือง	บ้านโฮ้ง ใกล้สำนักงานที่ดิน อ.เมือง จ.ลำพูน	"	4 มิย.16
G_4 ลพ.–แม่ทา	ต.ท่าปลาดุก อ.แม่ทา จ.ลำพูน	"	9 มิย.16
G_5 กท.–พญาไท	สระน้ำข้างทางรถไฟ แขวงทุ่งพญาไท เขตพญาไท กรุงเทพมหานคร	"	11 มิย.16
G_6 ปท.–รังสิต	ตลาดรังสิต อ.รังสิต จ.ปทุมธานี	"	4 กค.17
G_7 สข.–เมือง	สระน้ำข้างหอพักชมพู วิทยาลัยครูสงขลา ต.เขารูปช้าง อ.เมือง จ.สงขลา	"	4 กค.17

ตาราง 1 (ต่อ)

ชนิดสาหร่าย	สถานที่	ผู้แยก	วันเดือนปีที่แยก
Pandorina morum			
P_1 กท.- พระโขนง1	แอ่งน้ำเล็ก ๆ สนามกีฬาราชนาวี บางนา เขตพระโขนง กรุงเทพมหานคร	ยุพาภรณ์ หล่อวณิชย์	1 มิย.16
P_2 กท.- พระโขนง2	สระน้ำทางเข้า ร.ร.ประถมสาธิต มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (ประสานมิตร) เขตพระโขนง กรุงเทพมหานคร	"	25 มิย.16
P_3 กท.- พญาไท 1	สระน้ำในกรมวิทยาศาสตร์ ถนน- พระราม 6 แขวงทุ่งพญาไท เขตพญาไท กรุงเทพมหานคร	"	18 มิย.16
P_4 กท.- บางเขน1	สระน้ำหน้ากองทะเบียนกรมตำรวจ ถนนพหลโยธิน เขตบางเขน กรุงเทพมหานคร	"	26 มิย.16
P_5 สบ.- หนองแซง	คูน้ำข้างถนนทางแยกไปนางรอง ต.หินกอง อ.หนองแซง จ.สระบุรี	"	2 กค.16
P_6 กท.- บางเขน 2	สระน้ำในหมู่บ้านทหารผ่านศึกเกาหลี ถนนซุปเปอร์ไฮเวย์ เขตบางเขน กรุงเทพมหานคร	"	13 กค.16
P_7 กท.- บางกะปิ 1	คูน้ำซอยทางเข้าโรงเรียนเฉลิมศาสน์ เขตบางกะปิ กรุงเทพมหานคร	"	13 กค.16
P_8 ขก.- ศรีสำราญ	คูน้ำข้างถนน บ้านศรีสำราญ จ.ขอนแก่น	"	15 สค.16

ตาราง 1 (ต่อ)

ชนิดสาหร่าย	สถานที่	ผู้แยก	วันเดือนปีที่แยก
P_9 กท.–บางกะปิ2	สระน้ำหน้าเสาธงโรงเรียนพิบูลย์–อุปถัมภ์ ลาดพร้าว เขตบางกะปิ กรุงเทพมหานคร	ยุพาภรณ์ หล่อวณิชย์	18 มีค.17
P_{10} กท.–พญาไท 2	คูน้ำข้างถนนซุปเปอร์ไฮเวย์ ใกล้ทางแยกสุทธิสาร เขตพญาไท กรุงเทพมหานคร	"	24 มค.17
P_{11} นพ.–เมือง	คูน้ำข้างถนน อ.เมือง จ.นครพนม	"	14 สค.16
P_{12} นย.–องกรักษ์	อ.องครักษ์ จ.นครนายก	"	4 เมย.17
P_{13} กท.–คลิ่งชัน	คูน้ำข้างถนนเข้าโรงเรียนบ้านช่างเหล็ก แขวงฉิมพลี เขตคลิ่งชัน กรุงเทพมหานคร	"	17 เมย.17
<u>Eudorina elegans</u>			
E_3 ชร.–เชียงคำ	บ้านมาง ต.หย่วน อ.เชียงคำ จ.เชียงราย	"	9 มิย.16
E_9 นส.–พยุหคีรี	คูน้ำข้างถนน อ.พยุหคีรี จ.นครสวรรค์	"	30 กค.16
<u>Eudorina unicocca</u>			
E_{10} กท.–คลิ่งชัน	คูน้ำข้างถนนเข้าโรงเรียนบ้านช่างเหล็ก แขวงฉิมพลี เขตคลิ่งชัน กรุงเทพมหานคร	"	17 เมย.17

ตาราง 1 (ต่อ)

ชนิดสาหร่าย	สถานที่	ผู้แยก	วันเดือนปีที่แยก
Eudorina illinosensis			
E_2 ลพ.–แม่ทา	ต.ท่าปลาดุก อ.แม่ทา จ.ลำพูน	ยุพาภรณ์ หล่อวณิชย์	1 มิย.16
E_5 นย.–องครักษ์	อ.องค์รักษ์ จ.นครนายก	"	25 มิย.16
Platydorina caudata			
Pla สข.–เมือง	สระน้ำหน้าบ้านพักอาจารย์ใกล้หอพัก–สีเหลือง วิทยาลัยครูสงขลา ต.เขารูปช้าง อ.เมือง จ.สงขลา	"	4 กค.16
Pleodorina californica			
Ple_1 กท.–มินบุรี	คูน้ำร่องสวน บ้านบึงใหญ่ แขวงแสนแสบ เขตมินบุรี กรุงเทพมหานคร	"	4 พค.16
Ple_2 กท.–ตลิ่งชัน	คูน้ำริมถนนเข้าโรงเรียนบ้านช่างเหล็ก แขวงฉิมพลี เขตตลิ่งชัน กรุงเทพมหานคร	"	17 เมย.17
Volvox rousseletii			
V กท.–ตลิ่งชัน	ใกล้สถานีรถไฟฉิมพลี แขวงฉิมพลี เขตตลิ่งชัน กรุงเทพมหานคร	"	17 เมย.17

ตาราง 1 (ต่อ)

ชนิดสาหร่าย	สถานที่	ผู้แยก	วันเดือนปีที่แยก
Pyrobotrys gracilis			
Py กท.- บางเขน5	ตูน้ำเชิงสะพานลอยซุปเปอร์ไฮเวย์ พหลโยธิน เขตบางเขน กรุงเทพมหานคร	ยุพาภรณ์ หลอวณิชย์	4 กค. 17
Py กท.- ราชบูรณะ	ตูน้ำข้างถนน คาวคะนอง เขตราชบูรณะ กรุงเทพมหานคร	"	4 กค. 17

วิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างสาหร่ายพวก colonial Volvocales

สาหร่ายพวก colonial Volvocales ที่ใช้ศึกษาได้จากการสำรวจแหล่งน้ำจืด เช่น บ่อ สระ คู แอ่งน้ำ และปลักควาย ในจังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย

การเก็บตัวอย่างมี 2 วิธี

1.1 การเก็บตัวอย่างดิน การศึกษาจากตัวอย่างดิน เป็นวิธีการศึกษาสาหร่ายที่ดีที่สุด เพราะสาหร่ายพวกนี้มีระยะหนึ่งของการสืบพันธุ์แบบใช้เพศที่ทนทานต่อสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม โดยมีการสร้างเกราะ (cyst) หรือ resistance spore แล้วตกอยู่บนผิวดิน ฤดูแล้งสปอร์แห้งไม่เหมาะแก่การเจริญเติบโต เมื่อเข้าฤดูฝนสาหร่ายจะงอกออกจากเกราะ ด้วยเหตุนี้จึงนิยมเก็บตัวอย่างดินมาศึกษา ซึ่งมีวิธีการดังนี้

1) เก็บตัวอย่างดินในสระน้ำหรือแหล่งน้ำจืดอื่น ๆ โดยตักผิวดินลึกไม่เกิน 3 นิ้ว

2) นำตัวอย่างดินมาผึ่งลมให้แห้ง ประมาณ 1 สัปดาห์ ไม่ควรผึ่งแดดหรือถูกความร้อนเพราะอาจทำให้สปอร์ของสาหร่ายตายไป

3) ตักดินตัวอย่างประมาณ 1 ช้อนชาใส่ไว้ทางด้านใดด้านหนึ่งของจานแก้วเลี้ยงเชื้อ (petridish) ที่สเตอไรส์แล้ว รินน้ำกลั่นที่สเตอไรส์แล้วลงในจานแก้วเลี้ยงเชื้อด้านที่ไม่มีดิน เพื่อว่าเมื่อสาหร่ายงอกจะได้ว่ายออกมาทางด้านที่ไม่มีดิน ปิดฝาจานแก้วเลี้ยงเชื้อ เขียนสถานที่เก็บตัวอย่างดินและวันเดือนปีที่ทำการทดลอง ทิ้งไว้ประมาณ 48 ถึง 72 ชั่วโมง จึงนำมาตรวจดูด้วยกล้องสเตอรีโอ

1.2 <u>การเก็บตัวอย่างน้ำ</u> โดยตักน้ำจากแหล่งน้ำจืดต่าง ๆ เช่น บ่อ สระ คู แอ่งน้ำ หรือปลักควาย นำมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

2. <u>การแยกและเพาะเลี้ยงสาหร่ายพวก Colonial Volvocales</u> ให้บริสุทธิ์

เมื่อตรวจพบสาหร่ายที่ต้องการแล้วก็แยกออกมาทำให้บริสุทธิ์โดยการล้างหลาย ๆ ครั้งให้สะอาด ด้วยการใช้พาสเตอร์ไปเปท (pasteur pipette) ที่มีปลายเล็กมากซึ่งสเตอไรส์แล้ว ดูดสาหร่ายดังกล่าวที่ตรวจพบมาใส่ในสไลด์หลุมหรือ spot ซึ่งแต่ละหลุมใส่น้ำกลั่นที่สเตอไรส์แล้ว ย้ายสาหร่ายจากหลุมหนึ่งไปยังหลุมต่อไปเรื่อย ๆ จนกระทั่งสะอาดและบริสุทธิ์ แล้วจึงย้ายไปเลี้ยงใน soil - water culture โดยใส่หลอดละ 1 โคโลนี

น้ำกลั่นและอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการแยกสาหร่ายให้บริสุทธิ์และเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ต้องสะอาดและผ่านการฆ่าเชื้อด้วยวิธีสเตอไรส์มาแล้ว เพื่อป้องกันการติดเชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ การย้ายสาหร่ายแต่ละครั้งต้องเปลี่ยนพาสเตอร์ไปเปททุกครั้ง

2.1 <u>การเพาะเลี้ยงใน soil - water culture</u>

soil - water culture เป็นอาหารที่นิยมใช้เลี้ยงสาหร่ายโดยทั่วไป

การเตรียม soil - water culture E.G. Pringsheim[18] ได้อธิบายการเตรียมไว้ ดังนี้

1) ใส่ปุ๋นขาวประมาณเท่าหัวไม้ขีดลงในหลอดทดลอง (test tube) ขนาด 18 + 150 มม. ปริมาตร 30 ซีซี หรือใช้ขวดนมที่มีปริมาตร 200 ซีซี การใส่ปุ๋นขาวเพื่อทำให้อาหารค่อนข้างเป็นด่าง

THE LIBRARY
COLLEGE OF EDUCATION
BANGKOK. THAILAND

2) ใส่ดินร่วนซึ่งเป็นดินสวนที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ย ประมาณ $\frac{1}{2}$ ช้อนชา ลงในหลอดทดลอง หรือใส่ประมาณ 2 ช้อนชาในขวด (ในการทดลองครั้งนี้ใช้ดินปนทรายจากแอ่งน้ำในจังหวัดมหาสารคาม ซึ่งเหมาะแก่การเจริญเติบโตของสาหร่ายพวกนี้ ดังจะได้กล่าวถึงในเรื่องการทดสอบดิน)

3) ใส่น้ำฝนที่สะอาดลงไปในหลอดทดลอง 20 ซีซี หรือในขวด 180 ซีซี ปิดฝา

4) นำไปนึ่งด้วยไอน้ำเพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ นึ่งครั้งละ 2 ชั่วโมง 2 วันติดต่อกัน ทิ้งไว้ประมาณหนึ่งสัปดาห์จึงนำมาใช้เลี้ยงสาหร่าย การฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ไม่ใช้ความดันซึ่งให้ความร้อนสูง เพราะจะทำให้แร่ธาตุในดินสลายตัว

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายพวกนี้ นำสาหร่ายที่ต้องการจะเพาะเลี้ยงซึ่งล้างบริสุทธิ์แล้ว ใส่ลงในหลอด soil - water culture หลอดละ 1 โคโลนี ปิดฝา เขียนชื่อสาหร่าย สถานที่พบ และวันเดือนปีที่เลี้ยงไว้ที่หลอด นำไปเลี้ยงใกล้หลอดไฟในห้องที่ควบคุมแสงสว่างและอุณหภูมิ ความเข้มของแสง 80 – 90 ฟุต–กำลังเทียน โดยได้รับแสงตลอดเวลา อุณหภูมิห้อง 26 – 28 องศาเซนติเกรด อุณหภูมิบริเวณหลอดทดลอง 32 – 33 องศาเซนติเกรด เมื่อสาหร่ายพวกนี้เจริญเติบโตดีแล้วก็ย้าย (transfer) ไปเลี้ยงใน soil - water culture หลอดใหม่ หลอดละ 1 หยด มีการย้ายสาหร่ายประมาณสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ทำการสะสมสาหร่าย (stock culture) โดยย้ายไปเลี้ยงในขวดนม โดยวางห่างจากหลอดไฟ เพื่อให้การเจริญเติบโตช้าลง ซึ่งมีความเข้มของแสง 16 ฟุต–กำลังเทียน

2.2 <u>การเพาะเลี้ยงใน axenic culture</u>

axenic culture เป็นสูตรอาหารที่รู้องค์ประกอบ (defined medium) ซึ่งเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายมากที่สุด และปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ทุกชนิด จึงทำให้สาหร่ายเจริญเติบโตรวดเร็วมาก

การเตรียม axenic culture Starr[15] ได้รวบรวมสูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายชนิดต่าง ๆ Provasoli และ Pintner ได้คิดค้นสูตร–

51889

อาหารที่เป็น axenic culture ซึ่งเหมาะสมที่สุดต่อการเจริญเติบโตของ Volvox และ colonial Volvocales อื่น ๆ สูตรอาหารมีดังนี้

ในการเตรียมอาหาร 1,000 ซีซี

ซีซี	Stock solution	กรัม/100 ซีซี
1	$Ca(NO_3)_2\ 4H_2O$	11.8
1	$MgSO_4\ 7H_2O$	4.0
1	Na_2 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	

นำสารประกอบดังกล่าวข้างต้นผสมลงในน้ำฝน 981 ซีซี โดยใส่ PIV metal solution ลงไปก่อน แล้วจึงใส่สารประกอบอื่น ๆ เขย่าสารละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน

PIV metal solution เตรียมโดยเติม Na_2- EDTA 0.750 กรัม ใส่ในน้ำกลั่น 500 ซีซี เขย่าละลายเป็นเนื้อเดียวกันแล้วเติมสารประกอบต่อไปนี้ลงไป

	กรัม
Na_2MoO_4	0.004
$FeCl_3.6H_2O$	0.097
$MnCl_2.4H_2O$	0.041
$ZnCl_2$	0.005
$CoCl_2.6H_2O$	0.002

ทำให้สารละลายมีค่า pH เท่ากับ 7.0 โดยใส่ 1 N NaOH วัดค่า pH โดยใช้ pH meter เมื่อเตรียม axenic culture เสร็จแล้ว ใช้ไปเปทดูดใส่หลอดทดลอง

โดยแบ่งเป็น 2 ชุด ชุดที่ 1 เป็นชุดทดลองใส่ 11 มล. ชุดที่ 2 เป็นชุด stock ใส่ 18 มล. ปิดฝานำไปสเตอไรล์ด้วยความดัน 15 – 20 ปอนด์/ตร.นิ้ว เป็นเวลานาน 30 นาที

3. การศึกษาและทดลองตามจุดมุ่งหมาย

3.1 การศึกษาชนิดของสาหร่ายพวก colonial Volvocales

เมื่อเก็บตัวอย่างสาหร่ายแล้วนำมาแยกและเพาะเลี้ยงให้บริสุทธิ์ตามวิธีการดังกล่าวข้างต้น ภายหลังสาหร่ายเจริญงอกงามดีและเพิ่มปริมาณมากขึ้น ก็นำมาศึกษาชนิดของสาหร่ายพวก colonial Volvocales โดยศึกษาสัณฐานด้วยกล้องจุลทรรศน์ ทำให้ทราบ genus และ species ของสาหร่ายดังกล่าว

3.2 การศึกษาสัณฐานของสาหร่ายพวก colonial Volvocales

นำสาหร่ายดังกล่าวมาศึกษาสัณฐานโดยศึกษาในด้านรูปร่างลักษณะของโคโลนี การจัดเรียงตัวของเซลในโคโลนี จำนวนเซล ลักษณะของเซล ลักษณะคลอโรพลาสต์ และจำนวนไพรีนอยด์ ฯลฯ การศึกษานี้ใช้กล้องจุลทรรศน์ พร้อมทั้งถ่ายรูปด้วยกล้องถ่ายรูปติดกล้องจุลทรรศน์ Carl Zeiss Model Standard RA ฟิล์มฟูจิ ASA 100

3.3 การศึกษาการสืบพันธุ์ของสาหร่ายพวก colonial Volvocales

นำสาหร่ายพวก colonial Volvocales ที่กำลังเจริญเต็มที่ใน axenic culture มาศึกษาการสืบพันธุ์ทั้งแบบไม่ใช้เพศและแบบใช้เพศ โดยศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ พร้อมทั้งถ่ายรูปด้วยกล้องถ่ายรูปดังกล่าวข้างต้น

ก. การสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ ศึกษาการสร้างโคโลนีลูก (daughter colony)

- การเปลี่ยนแปลงในโคโลนีแม่ขณะสร้างโคโลนีลูก
- ระยะเวลาในการสร้างโคโลนีลูก generation หนึ่งใช้เวลานานเท่าไหร่ 1 โคโลนีแม่สร้างได้กี่โคโลนีลูก การแบ่งเซล
- ลักษณะของโคโลนีลูกที่เกิดใหม่แตกต่างกับโคโลนีเดิมอย่างไร

ในการศึกษาถ่ายรูปไว้ทุกระยะ การถ่ายรูปอาจใช้เทคนิคดังนี้

- ถ้าต้องการให้เห็นวุ้นชัด ใช้วิธีหยด Indian ink หรือ methylene blue 5%
- ถ้าต้องการให้เคลื่อนที่ช้าลง ใช้วิธีใส่น้ำน้อย ๆ หรือปล่อยทิ้งไว้ให้น้ำเกือบแห้ง
- ถ้าต้องการให้หยุดเคลื่อนที่ ใช้วิธีหยด methyl cellulose ลงไป หรือปล่อยทิ้งไว้ในน้ำเกือบแห้ง

ข. <u>การสืบพันธุ์แบบใช้เพศ</u> โดยปรกติการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการมักไม่มีการสร้างเชื้อเพศ จึงต้องนำโคโลนีที่เจริญเต็มที่จาก axenic culture มา treat ซึ่งใช้ 2 วิธี

วิธีที่ 1 (16) ใช้ไปเปทดูดสาหร่ายที่ต้องการศึกษาประมาณ 1 ซีซี ใส่ใน watch glass นำไปวางในจานเลี้ยงเชื้อซึ่งใส่สารละลายโซเดียม – ไบคาร์บอเนต ($NaHCO_3$) 5% ที่เพิ่งเตรียมใหม่ ๆ ประมาณ 20 ซีซี ปิดฝาเขียนชื่อสาหร่ายและวันเวลาที่ทดลอง แล้วนำไปวางใกล้แสงไฟเป็นเวลานาน 18 ชั่วโมง จึงนำมาตรวจดูว่ามีการสร้างเชื้อเพศหรือไม่ การใส่สารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนตเป็นวิธีการเพิ่มปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งมีผลกระตุ้นให้สาหร่ายพวกนี้สร้างเชื้อเพศ

วิธีที่ 2 ใส่น้ำฝนที่สเตอไรล์แล้วประมาณ 50 ซีซี ลงในขวด–ใสปากกว้างขนาด 8 + 18 ซม. นำหลอด axenic culture ที่โคโลนีกำลังเจริญเต็มที่ใส่ลงไปในขวด แล้วใส่ alga seltzer $\frac{1}{2}$ เม็ด ลงไปในน้ำฝนจะเกิดฟองฟู่ของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ใช้พลาสติกใสปิดปากขวดทันทีรัดยางให้แน่น เพื่อไม่ให้ก๊าซผ่าน–ออกนอกขวด เขียนชื่อวันเวลาแล้วนำไปวางใกล้แสงไฟ โดยเอียงขวดประมาณ 15 องศา เพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวของหลอดในการรับก๊าซ เลี้ยงไว้ประมาณ 18 ชั่วโมง จึงเริ่มนำมาตรวจดูว่ามีการสร้างเชื้อเพศหรือไม่

3.4 การศึกษาโภชนาการของสาหร่ายพวก colonial Volvocales

ก. ทดสอบดินจากแหล่งต่าง ๆ การทดสอบดินจากแหล่งต่าง ๆ ที่นำมาใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายพวก colonial Volvocales เพื่อศึกษาว่าดินจากแหล่งใดเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตมากที่สุด จะได้นำดินที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตมากที่สุดไปใช้ทำ soil - water culture ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายต่อไป

ดินที่ใช้ทดสอบนำมาจากแหล่งต่าง ๆ 5 แหล่ง ดังนี้

ดินเบอร์ 1 : ดินจากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (ประสานมิตร) ใต้ต้นไม้ใหญ่ ใกล้ประตูทางเข้าโรงเรียนมัธยมสาธิต เป็นดินร่วนปนดินเหนียว pH 7.75

ดินเบอร์ 2 : ดินผสมจากสโมสรปฐพีวิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน pH 7.6

ดินเบอร์ 3 : ดินในสระน้ำมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (บางแสน) จ.ชลบุรี เป็นดินร่วนในสระซึ่งพบ Volvox pH 7.2

ดินเบอร์ 4 : ดินริมถนนข้างรั้วใกล้บ้านพักอาจารย์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (มหาสารคาม) จ.มหาสารคาม เป็นดินร่วนปนทรายซึ่งพบสาหร่ายพวก Gonium และ Volvox จำนวนมาก pH 7.7

ดินเบอร์ 5 : ปุ๋ยเทศบาลสูตร 901 pH 7.8

นำดินทั้ง 5 แหล่งมาผึ่งลมให้แห้งแล้วทำให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ นำไปทำ soil - water culture ใส่ในหลอดทดลอง นำสาหร่ายพวก colonial Volvocales ทั้งหมดที่สำรวจพบมาทดสอบดินจาก 5 แหล่ง โดยทดลอง genus ละ 3 clone ๆ ละ 1 หลอด เลือกโคโลนีที่สมบูรณ์ใส่ใน S - W ทั้ง 5 แหล่ง หลอดละ 1 โคโลนี นำไปเลี้ยงใกล้หลอดไฟและควบคุมให้ทุกหลอดอยู่ในสภาวะเดียวกัน ได้แก่ แสง อุณหภูมิ ปริมาณ S - W และขนาดของโคโลนี ภายหลังจากเพาะเลี้ยงได้ 5 วัน เริ่มสังเกตการเจริญเติบโตของสาหร่ายดังกล่าวใน S - W แต่ละหลอดแล้วบันทึกผล ทดลองซ้ำเช่นนี้ 3 ครั้ง เพื่อให้ได้ผลการทดลองที่แน่นอนและเชื่อถือได้

ข. <u>ทดสอบสารประกอบบางชนิดที่มีผลต่อการเจริญเติบโต</u>

การศึกษานี้เพื่อต้องการทราบถึงสารประกอบบางชนิดที่ทำให้สาหร่ายพวก colonial Volvocales เจริญเติบโตดีที่สุด การทดสอบครั้งนี้ใช้สารประกอบ 2 ชนิด คือ thiamine และ sodium acetate โดยแบ่งการทดลองเป็น 3 ชุด

ชุดที่ 1 axenic culture ตามสูตรที่กล่าวมาแล้ว เป็นชุดควบคุม (control)

ชุดที่ 2 เติม **0.1 ppm. thiamine**

ชุดที่ 3 เติม **0.1 ppm. sodium acetate**

เลือกสาหร่ายใน axenic culture ที่สมบูรณ์ไปเลี้ยงในชุดการทดลองทั้ง 3 ชุด โดยเขย่าหลอดเพื่อให้โคโลนีกระจายเท่า ๆ กันในหลอดใช้ไปเปทซึ่งวัดปริมาตรได้ดูดสาหร่ายดังกล่าว ใส่ในหลอดทดลองทั้ง 3 ชุด ที่เตรียมไว้โดยใส่หลอดละ 0.1 มล. ขณะย้ายสาหร่ายไปเลี้ยงในหลอดทดลองทั้ง 3 ชุด ต้องระมัดระวังการติดเชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ ต้องใช้ไปเปทที่สเตอไรล์แล้ว และลนไฟปากหลอด ทดลอง genus ละ 3 clone ๆ ละ 1 หลอด นำไปเลี้ยงเช่นเดียวกับการทดสอบดิน ภายหลังการเพาะเลี้ยงได้ 2 วัน เริ่มสังเกตการเจริญเติบโตของสาหร่ายดังกล่าวในการทดลองทั้ง 3 ชุด แล้วบันทึกผลเช่นเดียวกับการทดสอบดิน ทดลองเช่นนี้ซ้ำ 3 ครั้ง เพื่อให้ได้ผลการทดลองที่แน่นอนและเชื่อถือได้

<u>สถานที่ทดลอง</u>

ห้องปฏิบัติการแผนกชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ มหาวิทยาลัย-ศรีนครินทรวิโรฒ (ประสานมิตร) กรุงเทพมหานคร

<u>ระยะเวลาที่ทดลอง</u>

เริ่มทดลองตั้งแต่วันที่ 4 พฤษภาคม 2516 เสร็จสิ้นการทดลอง วันที่ 30 กันยายน 2517

บทที่ 4

ผลการศึกษาและทดลอง

1. การศึกษาชนิดของสาหร่ายพวก colonial Volvocales

จากการศึกษาโยการสำรวจแหล่งน้ำจืดในจังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย พบสาหร่ายพวก Colonial Volvocales ซึ่งจำแนก (classify) ตามหลักฐานของ Goldstoin [3], Smith[19,20] และ Prescott [13] ตามแหล่งน้ำจืดต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

1. Gonium pectorale : รย.–เมือง, กท.–พระโขนง, ลพ.–เมือง, ลพ.–แม่ทา, กท.–พญาไท 1, ปท.–รังสิต, สข.–เมือง

2. Pandorina morum : กท.–พระโขนง 1, กท.–บางเขน 1, กท.–พระโขนง 2, กท.–พญาไท 2, กท.–พญาไท 3, กท.–บางเขน 2, กท.–บางเขน 3, กท.–บางเขน 4, กท.–บางกะปิ, ขก.–บ้านกรีสำราญ, สบ.–หนองแซง, นย.–องครักษ์, กท.–ตลิ่งชัน

3. Eudorina elegans : ชร.–เชียงคำ, นส.–พยุหคีรี
   Eudorina unicocca : กท.–ตลิ่งชัน
   Eudorina illinoisensis : ลพ.–แม่ทา, นย.–องครักษ์
4. Platydorina caudata : สข.–เมือง
5. Pleodorina californica : กท.–มินบุรี, กท.–ตลิ่งชัน
6. Volvox rousseletii : กท.–ตลิ่งชัน
7. Pyrobotrys gracilis : กท.–บางเขน 5, กท.–ราชบูรณะ

2. การศึกษาสัณฐานของสาหร่ายพวก colonial Volvocales

Gonium pectorale (รูปที่ 1 – 6) โคโลนีประกอบด้วยเซลจำนวน 16 เซล จัดเรียงตัวเป็นแผ่นแบน เซลเรียงอยู่รอบนอก 12 เซล ด้านละ 3 เซล เรียงอยู่ตรงกลาง 4 เซล เซลฝังอยู่ในสารนี้เป็นเมือกวุ้น แต่ละเซลเชื่อมติดต่อกันด้วยเส้นใยไซโตพลาสซึม

ที่บางมาก เซลมีแฟลกเจลลา 2 เส้นอยู่ทางด้านหน้า (รูปที่ 3) G_3 ลพ.–เมือง เห็นแฟลกเจลลาชัดเจนยาวประมาณ 5 เท่าของความยาวของเซล เซลที่เรียงอยู่รอบนอกจะหันแฟลกเจลลาออกด้านนอก ส่วนเซลที่เรียงอยู่ตรงกลางไม่เห็นแฟลกเจลลา มีคอนแทรก–ไทล์แวคคิวโอล 2 อัน อยู่ที่ฐานของแฟลกเจลลา มีลักษณะใสเห็นไม่ค่อยชัด มีอายสปอต 1 อัน สีแดงเห็นชัดเจนอยู่ปลายสุดทางด้านหน้า คลอโรพลาสต์เป็นรูปถ้วย ปรกติมีไพรินอยด์ 1 อัน (รูปที่ 5) แต่ G_2 กท.–พระโขนง และ G_6 ปท.–รังสิต อาจมีไพรินอยด์ 2 – 3 อัน (รูปที่ 6)

Pandorina morum (รูปที่ 23 – 26)

โคโลนีรูปร่างรีค่อนข้างกลม ประกอบด้วยเซลจำนวน 16 เซล จัดเรียงตัวชิดกันมาก จนเกิดแรงกดดันซึ่งกันและกันทำให้เซลแบนและไม่มีช่องว่างระหว่างเซล สาร–เมือกวุ้นที่ห่อหุ้มโคโลนีมีลักษณะหนา เซลเป็นรูปน้ำเต้า มีแฟลกเจลลา 2 เส้น ทางด้านหน้าจะเห็นแฟลกเจลลายื่นออกมารอบ ๆ ผิวของโคโลนี แต่ไม่สามารถถ่ายรูปให้เห็นแฟลกเจลลาได้ คลอโรพลาสต์รูปถ้วย มีไพรินอยด์เห็นชัดเจน 1 อัน (รูปที่ 23, 25) มีอายสปอต 1 อัน สีแดงเห็นชัดเจน เซลทางด้านหน้าของโคโลนีมักมีอายสปอตขนาดใหญ่กว่าเซลอื่น

Eudorina elegans (รูปที่ 40 – 44)

โคโลนีรูปไข่ประกอบด้วยเซลจำนวน 16 หรือ 32 เซล โคโลนีของ E_3 ชร.–เชียงคำ ประกอบด้วย 32 เซล ทั้งหมด ส่วน E_9 นส.–พยุหคีรี พบทั้งโคโลนีที่ประกอบด้วย 16 เซล และ 32 เซล ทุกเซลในโคโลนีมีขนาดเท่ากัน เซลเรียงตัวเกือบชิดกัน ซึ่งต่างกับ Pandorina morum ที่เซลอัดตัวกันแน่นมีคอนแทรคไทล์แวคคิวโอล 2 อัน ที่ฐานของแฟลกเจลลา มีอายสปอต 1 อัน คลอโรพลาสต์รูปถ้วย เซลที่เจริญเต็มที่มีไพรินอยด์จำนวนมาก และกระจายอยู่ทั่วไป (รูปที่ 41)

Eudorina unicocca (รูปที่ 45 – 47)

โคโลนีรูปไข่ประกอบด้วยเซลจำนวน 16 หรือ 32 เซล เซลเรียงตัวเป็นชั้น ๆ ตามขวางของโคโลนีสารเมือกวุ้นที่ห่อหุ้มโคโลนีมีลักษณะหนา ทุกเซลในโคโลนี

มีขนาดเท่ากันหรือเกือบเท่ากัน เซลเรียงตัวห่างกัน เซลรูปร่างกลม มีแฟลกเจลลา 2 เส้น มีคอนแทรคไทล์แวคคิวโอล 2 อัน ที่ฐานของแฟลกเจลลา มีอายสปอต 1 อัน คลอโรพลาสต์รูปถ้วย เซลที่เจริญเต็มที่มีไพรีนอยด์ขนาดใหญ่ 1 อัน อยู่ตรงกลางเซล และมีส่วนยื่นจากด้านท้ายของโคโลนี ซึ่งเป็นลักษณะที่แตกต่างกับ Eudorina elegans

Eudorina illinoisensis (รูปที่ 43 - 51)

โคโลนีรูปไข่ประกอบด้วยเซลจำนวน 16 หรือ 32 เซล โคโลนีของ E_2 ลพ.-แม่ทา มีทั้ง 16 เซล และ 32 เซล ส่วน E_5 นย.-องครักษ์ มี 32 เซล เซลทางด้านหน้าของโคโลนีจำนวน 4 เซล มีขนาดเล็กกว่าเซลอื่น ๆ (รูปที่ 48 – 50) ซึ่งเป็นลักษณะที่แตกต่างกับ Eudorina ทั้ง 2 species ที่กล่าวแล้ว เซลเรียงตัวเป็นชั้น ๆ ตามขวางของโคโลนี สารเมือกวุ้นที่ห่อหุ้มโคโลนีมีลักษณะหนา เซลรูปร่างกลม มีแฟลกเจลลา 2 เส้น มีคอนแทรคไทล์แวคคิวโอล 2 อัน ที่ฐานของแฟลกเจลลา มีอายสปอต 1 อัน อายสปอตในเซลทางด้านท้ายของโคโลนีมีขนาดเล็กกว่าในเซลทางด้านหน้า (รูปที่ 50) คลอโรพลาสต์รูปถ้วย เซลที่เจริญเต็มที่มีไพรีนอยด์หลายอันซึ่งมีขนาดไม่เท่ากัน

Platydorian caudata (รูปที่ 89)

โคโลนีเป็นรูปเกือกม้าแบน ปลายสุดทางด้านหน้าค่อนข้างกลม ปลายสุดทางด้านท้ายมีส่วนที่ยื่นออกมา 2 อัน โคโลนีประกอบด้วยเซลจำนวน 16 เซล เซลเรียงตัวชั้นเดียว โดยเรียงอยู่รอบนอก 12 เซล และเรียงอยู่ภายใน 4 เซล ทุกเซลมีขนาดเท่ากัน เซลรูปร่างกลม มีแฟลกเจลลา 2 เส้น มีคอนแทรคไทล์แวคคิวโอล 2 อัน มีอายสปอต 1 อัน คลอโรพลาสต์รูปถ้วย มีไพรีนอยด์ 1 อัน

Pleodorina californica (รูปที่ 61 - 64)

โคโลนีมีรูปร่างกลมประกอบด้วยเซลจำนวน 64 เซล โคโลนีที่ยังอ่อนทุกเซลมีขนาดเท่ากัน ไม่สามารถแยกว่าเซลใดเป็นเซลที่ประกอบกันเป็นโคโลนีหรือเซลใดเป็นเซลที่สามารถสืบพันธุ์ได้ (รูปที่ 61-62) โคโลนีที่เจริญเต็มที่แล้วเซลมีขนาดไม่เท่ากัน เซลทางด้านหน้าของโคโลนีมีขนาดเล็กและมีไพรีนอยด์ 1 อัน เป็นเซลที่ประกอบกันเป็น

โคโลนี ไม่สามารถสืบพันธุ์ ส่วนเซลทางด้านท้ายของโคโลนีมีขนาดใหญ่กว่าเซลทางด้านหน้า 2 หรือ 3 เท่า และมีไพรีนอยด์ 2 อัน ซึ่งเป็นเซลที่สามารถสืบพันธุ์ได้ (รูปที่ 64) เซลทั้ง 2 แบบ มีรูปร่างกลม มีแฟลกเจลลาสั้น 2 เส้นเห็นไม่ชัด มีคอนแทรคไทล์ 2 อัน มีอายสปอต 1 อัน ซึ่งมีขนาดใหญ่ในเซลที่อยู่ทางด้านหน้าของโคโลนี คลอโรพลาสต์รูปถ้วย

Volvox rousseletii (รูปที่ 65 - 76)

โคโลนีกลมประกอบด้วยเซลล์จำนวนประมาณ 8,000 เซลเรียงกันอยู่ที่ผิวโคโลนี ส่วนตรงกลางกลวง แต่ละเซลห่อหุ้มด้วยสารที่เป็นเมือกวุ้น ภายในโคโลนีมีสารที่เป็นเวือกวุ้นบรรจุอยู่แต่ละเซลเชื่อมติดต่อกันด้วยเส้นใยไซโตพลาสซึม ซึ่งหนาและเห็นชัด (รูปที่ 79, 80) เซลเป็นรูปไข่ มีแฟลกเจลลา 2 เส้น มีอายสปอต 1 อัน ซึ่งมีขนาดใหญ่ในเซลทางด้านหน้าของโคโลนี คลอโรพลาสต์รูปถ้วยมีไพรีนอยด์ 1 อัน โคโลนีแม่สร้างโคโลนีลูกจำนวน 3 - 13 อัน (รูปที่ 77, 87) โดยเรียงตัวอยู่ทางด้านท้ายของโคโลนีแม่

Pyrobotrys gracilis (รูปที่ 90)

โคโลนีรูปร่างคล้ายลูกหม่อนหรือพวงองุ่น ประกอบด้วยเซลจำนวน 16 เซล เซลเรียงสลับกันเป็นชั้น ๆ ละ 4 เซล เซลรูปกลมรีด้านท้ายค่อนข้างแหลม มีแฟลกเจลลา 2 เส้น คลอโรพลาสต์รูปถ้วย ไม่มีไพรีนอยด์ มีอายสปอตอยู่ทางด้านหน้า 1 อัน ไม่มีสารเมือกวุ้นหุ้มโคโลนี ซึ่งเป็นลักษณะที่แตกต่างจากสาหร่ายพวก colonial Volvocales อื่น ๆ ที่กล่าวมาแล้ว

3. การศึกษาการสืบพันธุ์ของสาหร่ายพวก colonial Volvocales

ก. การสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ โดยเซลในโคโลนีมีการแบ่งเซลเพื่อสร้างโคโลนีลูก

Gonium pectorale (รูปที่ 7 - 22)

ทุกเซลในโคโลนีสามารถสร้างโคโลนีลูกได้ มีการเปลี่ยนแปลงของโคโลนีที่ไม่แสดงเพศ ดังนี้ เริ่มด้วยเซลในโคโลนีที่เจริญเต็มที่จะมีขนาดใหญ่ขึ้น เห็นไพรีนอยด์

ชัดเจนในระยะนี้ (รูปที่ 8, 17) การเคลื่อนที่จะค่อย ๆ ช้าลง แต่ละเซลเริ่มแบ่งจาก 1 เป็น 2, 4, 8, และ 16 (รูปที่ 7, 22) แต่ละเซลอาจแบ่งพร้อมกันหรือไม่พร้อมกันก็ได้ ในที่สุดจะได้โคโลนีลูกซึ่งมี 16 เซล จาก 1 โคโลนีแม่จะได้ 16 โคโลนีลูก เซลมีขนาดเล็กจัดเรียงตัวเป็นแผ่นแบนแต่ละเซลอยู่ชิดกัน (รูปที่ 15, 16) มีแฟลกเจลลาสั้น ๆ 2 เส้น ไพรีนอยด์เล็กมากเห็นไม่ชัดหรือไม่เห็นเลย โคโลนีลูกแต่ละกลุ่มมีเยื่อหุ้มที่เป็นสารเมือกวุ้นซึ่งมีลักษณะบาง เมื่อโคโลนีลูกออกจากโคโลนีแม่แล้ว สารเมือกวุ้นจะค่อย ๆ หนาขึ้น แต่ละเซลเริ่มแยกห่างออกจากกัน แฟลกเจลลายาวขึ้น ไพรีนอยด์ใหญ่ขึ้น

ถ้าโคโลนีที่เจริญเต็มที่เกิดแตกออกบางส่วนเช่นเหลือ 4, 8 เซล ส่วนที่เหลือสามารถแบ่งเซลสร้างโคโลนีลูกได้เช่นกัน (รูปที่ 4, 7, 8)

ระยะเวลาในการสร้างโคโลนีลูก จากการศึกษานี้พบว่าชั่วอายุหนึ่ง (generation) ใช้เวลาประมาณ 20 – 24 ชั่วโมง นับตั้งแต่เริ่มแบ่งเซลจนได้โคโลนีใหม่เกิดขึ้น

Pandorina morum (รูปที่ 27 – 39)

ทุกเซลในโคโลนีจะสร้างโคโลนีลูกขึ้นพร้อม ๆ กัน มีการเปลี่ยนแปลงของโคโลนีที่ไม่แสดงเพศ โดยเริ่มด้วยโคโลนีที่เจริญเต็มที่มีขนาดใหญ่ขึ้น เห็นไพรีนอยด์ชัดเจน (รูปที่ 23) หยุดเคลื่อนที่ เยื่อหุ้มโคโลนีที่เป็นสารเมือกวุ้นขยายตัวหนาขึ้น แต่ละเซลเริ่มแบ่งจาก 1 เป็น 2, 4, 8 และ 16 (รูปที่ 27 – 39) ปรกติเซลในโคโลนีอยู่อัดกันแน่น แต่ขณะแบ่งเซลนั้นเซลค่อย ๆ แยกห่างจากกัน เซลที่แบ่งแล้วจะเรียงกันเป็นแผ่นแบน (plakea) ซึ่งโค้งเล็กน้อย (รูปที่ 28, 29, 30, 35) มีลักษณะคล้ายจาน ต่อมาจะค่อย ๆ กลมขึ้นเป็นโคโลนีลูก ซึ่งมี 16 เซล เซลเรียงตัวเกือบชิดกัน แต่ยังไม่อัดกันแน่น มีเยื่อหุ้มโคโลนีลูกที่เป็นสารเมือกวุ้น เซลมีแฟลกเจลลา 2 เส้น ไพรีนอยด์เห็นไม่ชัด โคโลนีลูกจะออกจากโคโลนีแม่แล้วว่ายน้ำไปเป็นอิสระ หลังจากนี้เซลเริ่มอัดกันแน่น ไพรีนอยด์ใหญ่ขึ้นโดยเฉพาะเซลทางด้านหน้าของโคโลนี

ระยะเวลาในการสร้างโคโลนีลูก จากการศึกษานี้พบว่าชั่วอายุหนึ่ง (generation) ใช้เวลาประมาณ 24 – 30 ชั่วโมง

Eudorina elegans, Eudorina unicocca, Eudorina illinoisensis (รูปที่ 52-60)

จากการศึกษาพบว่า Eudorina ทั้ง 3 species มีการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศเหมือนกัน ทุกเซลในโคโลนีจะสร้างโคโลนีลูกขึ้นพร้อมกัน มีการเปลี่ยนแปลงของโคโลนีที่ไม่แสดงเพศคล้ายคลึงกับ Pandorina morum สำหรับ Eudorina illinoisensis ซึ่งเซลด้านหน้าของโคโลนีจำนวน 4 เซล มีขนาดเล็กกว่าเซลอื่น ๆ เซลทั้ง 4 นี้ไม่สามารถแบ่งเซลเพื่อสร้างโคโลนีลูก (รูปที่ 57, 59, 60) โคโลนีลูกมักมีรูปร่างกลม และเซลเรียงตัวชิดกันกว่าโคโลนีที่เจริญแล้ว (รูปที่ 60) เมื่อโคโลนีลูกว่ายน้ำออกจากโคโลนีแม่แล้ว รูปร่างของโคโลนีใหม่จะเริ่มรีขึ้นเล็กน้อย เซลขยายห่างออกและสร้างสารเมือกวุ้นเพิ่มขึ้น

Pleodorina californica (รูปที่ 65 - 76)

โคโลนีที่เจริญเต็มที่แล้วเซลมีขนาดไม่เท่ากัน เซลทางด้านหน้าของโคโลนีมีขนาดเล็กเป็นเซลที่ประกอบกันเป็นโคโลนี ไม่สามารถสืบพันธุ์ ส่วนเซลทางด้านท้ายของโคโลนีมีขนาดใหญ่กว่าเซลทางด้านหน้า 2 หรือ 3 เท่า เป็นเซลที่สามารถสืบพันธุ์ได้ (รูปที่ 64) การสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศจะเกิดการเปลี่ยนแปลงของโคโลนีโดยเซลที่สามารถสืบพันธุ์ได้จะมีขนาดใหญ่ขึ้นกลายเป็นโกนิเดียซึ่งไม่มีแฟลกเจลลาและอายสปอต คลอโรพลาสต์รวมกันเป็นก้อน มีไพรีนอยด์มากขึ้น แต่ละโกนิเดียจะแบ่งเซลพร้อม ๆ กันจนได้ 64 เซล เซลเรียงตัวเป็นแผ่นแบนโค้งเล็กน้อย ต่อมาจะพลิกด้านในกลับออกมาด้านนอก (inversion) ได้โคโลนีกลม โคโลนีลูกระยะนี้เซลเรียงตัวชิดกัน (รูปที่ 69 - 72) มีเยื่อหุ้มที่เป็นสารเมือกวุ้น เซลมีแฟลกเจลลา 2 เส้น (รูปที่ 71) ต่อมาโคโลนีลูกจะมีขนาดใหญ่ขึ้น เซลเริ่มแยกตัวห่างจากกัน (รูปที่ 73 - 75) แล้วว่ายน้ำออกจากโคโลนีแม่ไป โคโลนีแม่ก็จะสลายตัว โคโลนีใหม่ที่เกิดขึ้นทุกเซลมีขนาดเท่ากัน ยังไม่สามารถแยกได้ว่าเซลใดเป็นเซลที่ประกอบกันเป็นโคโลนีหรือเป็นเซลที่สามารถสืบพันธุ์ได้ (รูปที่ 74)

Volvox rousseletii (รูปที่ 81 - 87)

มีการเปลี่ยนแปลงของโคโลนีที่ไม่แสดงเพศ โดยเซลทางด้านท้ายของโคโลนีที่เจริญเต็มที่จะเปลี่ยนแปลงไปเป็นโกนิเดียเช่นเดียวกับ Pleodorina californica ดังได้กล่าวแล้ว โกนิเดียมีขนาดใหญ่กว่าเซลที่ประกอบกันเป็นโคโลนีประมาณ 10 เท่า มีประมาณ 20 อัน อยู่ภายในถุง (vesicle) ที่เป็นสารเมือกวุ้น แต่ละโกนิเดียจะแบ่งเซลประมาณ 13 ครั้ง ได้เซลประมาณ 8,000 เซล เซลจัดเรียงตัวเป็นแผ่นแบนโค้งเล็กน้อย ต่อมาจะพลิกด้านในกลับออกมาด้านนอก เซลมีแฟลกเจลลา 2 เส้น ซึ่งพัฒนามาก่อนที่จะเกิด inversion ได้โคโลนีกลมซึ่งยังคงมีรูเปิดเหลืออยู่ (รูปที่ 87) ต่อไปรูนี้จะค่อย ๆ เล็กลงจนกระทั่งปิด ในระหว่างที่สร้างโคโลนีลูกอยู่นั้น โคโลนีลูกแต่ละอันจะฝังอยู่ในถุงที่เป็นสารเมือกวุ้นซึ่งยื่นเข้าไปในโคโลนีแม่ เมื่อสร้างโคโลนีลูกเสร็จเรียบร้อยแล้ว มันก็จะออกจากโคโลนีแม่ เกิดเป็นโคโลนีใหม่ประมาณ 12 - 13 โคโลนี แล้วโคโลนีแม่จะสลายไป โคโลนีที่เกิดใหม่เซลทางด้านหน้าและด้ายท้ายมีขนาดเท่ากัน

เซลทั้งหมดในโคโลนีไม่สามารถสร้างโคโลนีลูกได้ทุกเซล เซลทางด้านท้ายของโคโลนีเพียงบางเซลเท่านั้นที่เปลี่ยนแปลงเป็นโกนิเดียแล้วแบ่งเซลเพื่อสร้างโคโลนีลูก

ข. การสืบพันธุ์แบบใช้เพศ การศึกษาครั้งนี้ไม่พบการสืบพันธุ์แบบใช้เพศ

4. การศึกษาโภชนาการของสาหร่ายพวก colonial Volvocales

ก. การทดสอบดินจากแหล่งต่าง ๆ ตารางแสดงผลการทดสอบดินนี้เป็นค่าเฉลี่ยจากผลการทดสอบดิน 3 ครั้ง และหาค่าเฉลี่ยจากกลุ่มตัวอย่างที่พบในแหล่งน้ำต่าง ๆ ซึ่งเป็น species เดียวกัน

ตาราง 2 แสดงผลการทดสอบดินจาก 5 แหล่ง ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายพวก colonial Volvocales

สาหร่าย \ ดิน	ดินเบอร์ 1			ดินเบอร์ 2			ดินเบอร์ 3			ดินเบอร์ 4			ดินเบอร์ 5		
	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 7	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 7	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 7	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 7	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 7
Gonium pectorale	0	0	0	+	++	++	++	+++	++++	+++	++++	++++	+	++	+++
Pandorina morum	0	0	0	+	++	++	++	+++	++++	+++	++++	++++	+	++	+++
Eudorina elegans	0	0	0	+	++	++	++	+++	++++	+++	++++	++++	+	++	+++
Eudorina unicocca	0	0	0	+	++	++	++	+++	++++	+++	++++	++++	+	++	+++
Eudorina illinoisensis	0	0	0	+	++	++	++	+++	++++	+++	++++	++++	+	++	+++
Pleodorina californica	0	0	0	+	++	++	++	+++	++++	+++	++++	++++	+	++	+++
Volvox rousseletii	0	0	0	+	++	++	++	+++	++++	+++	++++	++++	+	++	+++

หมายเหตุ

o	แทน	ไม่สามารถสังเกตการเจริญเติบโต
+	แทน	เจริญเติบโตน้อยมาก
++	แทน	เจริญเติบโตพอใช้
+++	แทน	การเจริญเติบโตปานกลาง
++++	แทน	การเจริญเติบโตมาก
+++++	แทน	การเจริญเติบโตมากที่สุด

วันที่ 3, 5, 7 หมายความว่า นับจากวันที่เริ่มทดลองเลี้ยงไปเป็นวันที่ 3, 5, 7 บันทึกผลการเจริญเติบโตในวันที่ 3, 5, 7 ภายหลังเริ่มเลี้ยงเพื่อเปรียบเทียบกัน

ข. <u>การทดสอบสารประกอบบางชนิดที่มีผลต่อการเจริญเติบโต</u>

ตารางแสดงผลการทดสอบไทอามีนและโซเดียมอะซิเตทนี้เป็นค่าเฉลี่ยจากการทดสอบ 3 ครั้ง และหาค่าเฉลี่ยจากกลุ่มตัวอย่างที่พบในแหล่งน้ำต่าง ๆ ซึ่งเป็น species เดียวกัน

ตาราง 3 แสดงผลการทดสอบไทอามีนและอะซิเตทที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายพวก colonial Volvocales

สารประกอบ / สาหร่าย	ชุดควบคุม (axenic culture)			เติมไทอามีน			เติมโซเดียมอะซิเตท		
	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 7	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 7	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 7
Gonium pectorale	+++	++++	+++	+++	+++++	++++	+++	++++	++++
Pandorina morum	+++	++++	+++	++++	+++++	++++	+++	++++	++++
Eudorina elegans	+++	++++	+++	++++	+++++	++++	+++	++++	++++
Eudorina unicocca	+++	++++	+++	++++	+++++	++++	+++	++++	++++
Eudorina illinoisensis	+++	++++	+++	++++	+++++	++++	+++	++++	++++
Pleodorina californica	+++	++++	+++	++++	+++++	++++	+++	++++	++++
Volvox rousseletii	+++	++++	+++	++++	+++++	++++	+++	++++	++++

บทที่ 5

สรุป อภิปรายผล และเสนอแนะ \

สรุปผล

สาหร่ายพวก colonial Volvocales ที่สำรวจพบมี 7 genera และ 9 spescies ซึ่งแยกออกได้เป็น 2 Family Family Volvocaceae พบ 6 genera 8 species ได้แก่ Gonium pectorale, Pandorina morum, Eudorina elegans, Eudorina unicocca, Eudorina illinoisensis, Platydorina caudata, Pleodorina californica และ Volvox rousseletii ส่วน Family Spondyromoraceae พบ 1 genus 1 species ได้แก่ Pyrobotrys gracilis

สัณฐานของสาหร่ายพวก colonial Volvocales อยู่รวมกันเป็นโคโลนี และเคลื่อนที่ได้ เซลเรียงตัวเป็นแผ่นแบน เช่น Gonium pectorale และ Platydorina caudata หรือทรงกลมตรงกลางกลวง เช่น Eudorina sp., Pleodorina californica และ Volvox rousseletii จำนวนเซลในโคโลนีมีจำนวนจำกัดและมีแบบแผนการเรียงตัวที่แน่นอน มีสารเมือกวุ้นห่อหุ้มโคโลนี ยกเว้น Pyrobotrys gracilis บางพวกมีเส้นใยไซโตปลาสซึมเชื่อมเซลให้ติดต่อกัน เซลมีรูปร่างกลม รูปไข่ หรือรูปน้ำเต้า มีแฟลกเจลลา 2 เส้น มีคอนแทรคไทล์แวคคิวโอล 2 อัน มีอายสปอต 1 อัน คลอโรพลาสต์รูปถ้วย มีไพรินอยด์ 1 อัน หรือมากกว่า มีนิวเคลียส 1 อัน

การสืบพันธุ์ของสาหร่ายพวก colonial Volvocales จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการพบแต่การสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ ซึ่งมีลักษณะคล้ายคลึงกันในแต่ละ genera โดยทุกเซลในโคโลนีแบ่งเซลแล้วสร้างโคโลนีลูก ยกเว้น Eudorina illinoisensis, Pleodorina sp. และ Volvox sp. ซึ่งมีเซลบางพวกเท่านั้นที่สามารถสร้างโคโลนีลูก

โภชนาการของสาหร่ายพวก colonial Volvocales จากการทดสอบดิน พบว่าดินที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายพวกนี้ได้ดีที่สุด คือดินเบอร์ 4 จาก

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (มหาสารคาม) เป็นดินร่วนปนทราย pH. 7.7 การเจริญเติบโตของสาหร่ายพวกนี้ในอาหารที่เติมไทอามีน และอะซิเตทแตกต่างกับการเจริญเติบโตใน axenic culture ที่เป็นชุดควบคุมเพียงเล็กน้อย ภายหลังที่เลี้ยงได้ 3 วัน การเจริญเติบโตเกือบไม่แตกต่างกัน แต่ภายหลังที่เลี้ยงได้ 5 วัน พบว่าการเจริญเติบโตในอาหารที่เติมไทอามีนและอะซิเตทดีกว่าในชุดควบคุม และจะเห็นได้ชัดที่สุดภายหลังที่เลี้ยงได้ 7 วัน

อภิปรายผล

ชนิดของสาหร่ายพวก Colonial Volvocales

จากผลการสำรวจสาหร่ายน้ำจืดในสหรัฐอเมริกา Smith[19] พบสาหร่ายพวก colonial Volvocales รวม 11 genera แต่จากการศึกษาครั้งนี้พบ 7 genera ซึ่งน้อยกว่าที่ Smith สำรวจพบ อาจเป็นเพราะแหล่งน้ำจืดในประเทศไทยมีจำนวน genera ของสาหร่ายพวกนี้น้อยกว่าในสหรัฐอเมริกา สาเหตุอีกประการหนึ่งอาจเป็นเพราะสำรวจไม่ทั่วถึง แหล่งน้ำจืดที่สุ่มตัวอย่างมาศึกษามีจำนวนน้อย เพราะว่าผู้เขียนมิได้มีจุดมุ่งหมายเพื่อสำรวจสาหร่ายพวก colonial Volvocales เพียงอย่างเดียว แต่มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาชนิด สัณฐาน การสืบพันธุ์ และโภชนาการ มากกว่า

Gonium pectorale, Pandorina morum, Eudorina elegans, Eudorina unicocca และ Eudorina illinoisensis พบได้ทั่วไปตามสระน้ำที่มีสารอินทรีย์มาก ๆ และพบมากตามปลักควาย ส่วน Platydorina caudata พบน้อยที่สุด ซึ่งคล้ายกับผลการสำรวจสาหร่ายน้ำจืดของ Smith [19] เขากล่าวว่าสาหร่ายชนิดนี้มีโอกาสพบได้ยากที่สุด จากการศึกษาครั้งนี้พบ Platydorina caudata เพียง 2 – 3 โคโลนีในสระน้ำวิทยาลัยครูสงขลา อ.เมือง จ.สงขลา ส่วนแหล่งน้ำจืดอื่น ๆ ไม่เคยพบสาหร่ายชนิดนี้เลย จากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายชนิดนี้ในห้องปฏิบัติการ พบว่าโคโลนีแตกออกเป็นเซลเดี่ยว ๆ ได้ง่ายและจะตายไป ผู้เขียนจึงไม่สามารถศึกษาการสืบพันธุ์ และโภชนาการของสาหร่ายชนิดนี้ได้ Pyrobotrys gracilis ก็มีลักษณะดังกล่าวเหมือน Platydorina caudata Harris[8] ได้ศึกษาพบว่า Platydorina caudata สร้างสารชนิดหนึ่ง

ซึ่งยับยั้งการเจริญเติบโตของตัวเอง สารนี้พบในน้ำที่กรองได้จากอาหารที่เคยเลี้ยงสาหร่ายชนิดนี้มาก่อน และสาหร่ายนี้ตายไปหมดแล้ว ด้วยเหตุนี้การตายของ Platydorina caudata ในการศึกษาครั้งนี้อาจเกิดจากสารดังกล่าวก็ได้

สัณฐานของสาหร่ายพวก Colonial Volvocales

Smith[19] ได้กล่าวถึงจำนวนไพรีนอยด์ของ Gonium pectorale ว่ามี 1 อัน แต่จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า G_2 กท.-พระโขนง และ G_6 ปท.-รังสิต มีไพรีนอยด์ 2 – 3 อัน (รูปที่ 6)

Fritsch[2] ได้กล่าวถึงอายสปอตในเซลของสาหร่ายพวก Colonial Volvocales ว่าเซลทางด้านท้ายของโคโลนีจะมีขนาดของอายสปอตเล็กลงกว่าเซลทางด้านหน้าของโคโลนี จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าเป็นจริงตามคำกล่าวข้างต้น ซึ่งเห็นชัดใน Pandorina morum และ Eudorina sp. ทั้ง 3 species (รูปที่ 50) การที่อายสปอตในเซลทางด้านท้ายของโคโลนีมีขนาดเล็กลง แสดงว่าไม่มีความจำเป็นในการใช้งาน ส่วนมากแล้วอายสปอตของเซลทางด้านหน้าจะทำหน้าที่รับความรู้สึก และช่วยนำทางในการเคลื่อนที่ ส่วน Pleodorina californica และ Volvox rousseletii เซลด้านท้ายของโคโลนีไม่มีอายสปอตเลย เซลทุกเซลใน Gonium pectorale มีลักษณะเหมือนกันหมด เพราะว่ามันเคลื่อนที่แบบพลิกไป ดังนั้นโคโลนีจึงไม่มีด้านหน้าด้านท้าย

Smith[19] ได้กล่าวถึงเซลของ Eudorina sp. ว่าทุกเซลในโคโลนีมีขนาดเท่ากัน แต่จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าบาง species เซลในโคโลนีมีขนาดไม่เท่ากัน ได้แก่ Eudorina illinoisensis เซลทางด้านหน้าของโคโลนีจำนวน 4 เซล มีขนาดเล็กกว่าเซลทางด้านท้ายของโคโลนี (รูปที่ 48 – 50) ซึ่งผลจากการศึกษาครั้งนี้เป็นไปตามผลการศึกษาเรื่องการจำแนก species ของ Eudorina ซึ่ง Goldstein[3] ได้ศึกษาไว้

การสืบพันธุ์ของสาหร่ายพวก colonial Volvocales

Smith [19] กล่าวว่าสาหร่ายพวก colonial Volvocales ที่มีวิวัฒนาการน้อย (Gonium sp., Pandorina sp.) ทุกเซลในโคโลนีสามารถสร้างโคโลนีลูก ส่วนพวกที่วิวัฒนาการสูงขึ้นมา (Pleodorina sp., Volvox sp.) มีเซลบางกลุ่มที่สามารถสร้างโคโลนีลูก Pleodorina californica มีเซลประมาณครึ่งหนึ่งทางด้านหน้าของโคโลนีเป็นเซลที่ประกอบกันเป็นโคโลนีซึ่งไม่สามารถสืบพันธุ์ได้ ส่วนเซลประมาณครึ่งหนึ่งทางด้านท้ายของโคโลนีเป็นเซลที่สามารถสืบพันธุ์ได้ Volvox rousseletii มีเซลทางด้านท้ายของโคโลนีประมาณ 16 เซล ที่สามารถสืบพันธุ์ได้ ส่วนเซลที่เหลือจำนวนมากทางด้านหน้าไม่สามารถสืบพันธุ์ได้ การศึกษาเกี่ยวกับการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศในครั้งนี้ได้ผลเช่นเดียวกับ Smith ตามที่กล่าวแล้วข้างต้น นอกจากนี้ยังพบว่า Eudorina illinoisensis เซลทางด้านหน้าของโคโลนี 4 เซล ซึ่งมีขนาดเล็กกว่าเซลทางด้านท้ายของโคโลนี ไม่สามารถสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ โดยไม่สามารถแบ่งเซลสร้างโคโลนีลูก

การศึกษาครั้งนี้มิได้ศึกษาการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศของ Platydorina caudata และ Pyrobotrys gracilis เพราะสาหร่ายสองชนิดนี้ตายง่ายโดยโคโลนีแตกออกเป็นเซลเดี่ยว ๆ

McCracken and Starr [10] กล่าวถึงการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศของ Volvox rousseletii ว่าสร้างโคโลนีลูกได้ถึง 16 อัน แต่จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่าสร้างโคโลนีลูกมากที่สุดเพียง 13 อัน ที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะสภาพแวดล้อมยังไม่เหมาะสมที่สุดต่อการแบ่งเซลเพื่อสร้างโคโลนีลูก นอกจากนี้พบว่า ถ้าสภาพแวดล้อมไม่ดี เช่น อาหารที่กำลังเลี้ยงสาหร่ายเก่าเกินไป แสงน้อย หรือ pH ต่ำกว่า 7.0 จะสร้างโคโลนีลูกเพียง 2 – 4 อัน เท่านั้น

การศึกษาครั้งนี้ไม่พบว่าสืบพันธุ์แบบใช้เพศ ไม่พบการสร้างเชื้อเพศผู้และเชื้อเพศเมีย อาจเป็นเพราะสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการสร้างเชื้อเพศ เช่น ความเข้มของแสงน้อยเกินไป ช่วงระยะเวลาของการรับแสงมากเกินไป คือได้รับแสงตลอดเวลา อุณหภูมิห้องปฏิบัติการสูงเกินไป Stein [22] ได้ศึกษาพบว่าอุณหภูมิมีอิทธิพลต่อการสืบพันธุ์

แบบใช้เพศ ซึ่งจะเกิดที่อุณหภูมิ 10 – 25 องศาเซนติเกรด แต่การศึกษาครั้งนี้ห้องปฏิบัติการมีอุณหภูมิ 26 – 28 องศาเซนติเกรด และบริเวณหลอดทดลองมีอุณหภูมิ 32 – 33 องศาเซนติเกรด ซึ่งไม่สามารถควบคุมให้อุณหภูมิต่ำลงกว่านี้

โภชนาการของสาหร่ายพวก colonial Volvocales

จากการทดสอบดินจาก 5 แหล่ง พบว่าดินที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายพวกนี้มากที่สุด คือ ดินเบอร์ 4 จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (มหาสารคาม) อ. เมือง จ. มหาสารคาม เป็นดินร่วนปนทราย pH 7.7 การที่ดินดังกล่าวนี้ทำให้สาหร่ายเจริญเติบโตดีที่สุด อาจเป็นเพราะสาเหตุหลายประการ ประการแรกดินนี้เป็นดินที่อยู่ในคูน้ำซึ่งมีสาหร่ายพวกนี้เจริญเติบโตอยู่ก่อนแล้ว ประการที่สอง ดินนี้เป็นดินร่วนปนทราย เมื่อนำมาทำ soil - water culture จะได้น้ำค่อนข้างใสไม่ขุ่น ประการที่สามดินนี้เมื่อทำเป็น soil - water culture แล้วมี pH 7.7 ซึ่งเป็นระดับ pH ที่เหมาะแก่การเจริญเติบโตของสาหร่าย ฉนั้นดินนี้จึงเหมาะแก่การนำมาใช้ทำ soil - water culture

ดินจากแหล่งอื่น ๆ ที่นำมาทดสอบ พบว่า ดินเบอร์ 3 ใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายพวกนี้ได้ดีรองลงมาจากดินเบอร์ 4 และรองลงมาได้แก่ดินเบอร์ 2 ซึ่งทำให้สาหร่ายพวกนี้เจริญเติบโตพอใช้ ส่วนดินเบอร์ 1 ไม่ช่วยให้สาหร่ายพวกนี้เจริญเติบโตเลย นับว่าเป็นดินที่ไม่ควรนำมาใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายพวกนี้

การทดสอบการเจริญเติบโตของสาหร่ายพวก colonial Volvocales ในอาหารที่เติมไทอามีน และโซเดียมอะซิเตท พบว่าการเจริญเติบโตในอาหารดังกล่าวไม่แตกต่างกับการเจริญเติบโตในอาหารที่ไม่ได้เติมสารดังกล่าวซึ่งเป็นชุดควบคุม ภายหลังที่เลี้ยงได้ 3 วัน การเจริญเติบโตเกือบไม่แตกต่างกัน อาจเป็นเพราะว่าในระยะแรกของการเจริญเติบโตสาหร่ายพวกนี้ไม่มีความจำเป็นต้องนำสารดังกล่าวไปใช้ แต่ภายหลังที่เลี้ยงได้ 5 วัน พบว่า การเจริญเติบโตในอาหารที่เติมไทอามีนและโซเดียมอะซิเตทดีกว่าในชุดควบคุม และเห็นได้ชัดที่สุดภายหลังที่เลี้ยงได้ 7 วัน อาจเป็นเพราะว่า

ระยะหลังสาหร่ายมีความจำเป็นต้องนำสารดังกล่าวไปใช้ในการสร้างความเจริญเติบโต Palmer [11] ได้ศึกษาโภชนาการของ Pandorina morum พบว่า โซเดียมอะซิเตท เป็นแหล่งอาหารที่ให้ธาตุคาร์บอนซึ่งสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด

ตาราง 4 เปรียบเทียบความแตกต่างของแต่ละ genus ของ colonial Volvocales ที่ได้ทำการศึกษา

ลักษณะ	Gonium	Pandorina	Eudorina	Platydorina	Pleodorina	Volvox	Pyrobotrys
สัณฐาน จำนวนเซล	16	16	16, 32	16	64	8,000	16
การจัดเรียงเซลเป็นโคโลนี	เรียงเป็นแผ่น-แบน	เรียงเป็นวงอยู่ชิดกันมากอัดกันจนเซลแบน	เรียงเป็นชั้น ๆ ตามขวางโคโลนี	เรียงเป็นแผ่น-แบน	ทรงกลมกลวงหรือรูปไข่กลวง	ทรงกลมกลวงหรือรูปไข่กลวง	เรียงสลับกันเป็นชั้น ๆ ละ 4เซล คล้ายพวงองุ่น
รูปร่างเซล	กลม	กลม,ไข่,น้ำเต้า	กลม	กลม	กลม,ไข่	ไข่	หัวผักกาดสั้น ๆ
การเปลี่ยนแปลงของเซล	ทุกเซลมีขนาดเท่ากันและเหมือนกัน	ทุกเซลมีขนาดเท่ากันและเหมือนกัน	บาง sp. ทุกเซลเหมือนกัน, บาง sp.เซลด้านหน้าเล็กกว่าเซลด้านท้ายของโคโลนี	ทุกเซลมีขนาดเท่ากัน และเหมือนกัน	เซลด้านหน้าเล็กกว่าเซลด้านท้ายของโคโลนี ด้านท้ายบางเซลเปลี่ยนเป็นโกนิเดีย	เซลด้านหน้ามักใหญ่กว่าเซลด้านท้ายของโคโลนี เซลด้านท้ายบางเซลเปลี่ยนเป็นโกนิเดีย	ทุกเซลมีขนาดเท่ากันและเหมือนกัน
อายสปอต	มีขนาดเท่ากันในทุกเซล	เซลด้านหน้ามีอายสปอตใหญ่กว่าเซลด้านท้ายของโคโลนี	เซลด้านหน้ามีอายสปอตใหญ่กว่าเซลด้านท้ายของโคโลนี	เซลด้านหน้ามีอายสปอตใหญ่กว่าเซลด้านท้ายของโคโลนี	เซลด้านท้ายของโคโลนีไม่มีอายสปอต	เซลด้านท้ายไม่มีอายสปอต	เซลด้านหน้ามีอายสปอตใหญ่กว่าเซลด้านท้ายของโคโลนี

ตาราง 4 (ต่อ)

ลักษณะ	Gonium	Pandorina	Eudorina	Platydorina	Pleodorina	Volvox	Pyrobotrys
ไพรีนอยด์	1 อัน	1 อัน	1 อันหรือมากกว่า	1 อัน	เซลที่ประกอบเป็นโคโลนีมีราวันเซลที่สามารถสืบพันธุ์ 2 อัน	1 อัน	ไม่มี
เยื่อหุ้มโคโลนี	แบน	กลม, รูปไข่	กลม, รูปไข่	แบน, ด้านท้ายมีส่วนยื่นออกมา 2 – 3 อัน	กลม	กลม, รูปไข่	ไม่มี
เส้นใยไซโตพลาสซึม	บางมาก	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี	มีในบาง sp. เช่น Volvox rousseletii	ไม่มี
การสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ การสร้างโคโลนีลูก	ทุกเซลสร้างโคโลนีลูกได้, โคโลนีที่แตกเหลือ 4,8 เซลสร้างโคโลนีลูกได้	ทุกเซลสร้างโคโลนีลูกได้	บาง sp. ทุกเซลสร้างโคโลนีลูกได้, บาง sp. มีบางเซลทางด้านหน้าสร้างโคโลนีลูกไม่ได้	ทุกเซลสร้างโคโลนีลูกได้	เซลทางด้านหน้าโคโลนีสร้างโคโลนีลูกไม่ได้ เซลกึ่งหนึ่งทางด้านท้ายสร้างโคโลนีลูกได้	บางเซลทางด้านท้ายโคโลนีเท่านั้นที่สร้างโคโลนีลูกได้	ทุกเซลสร้างโคโลนีลูกได้
inversion	สังเกตไม่พบ	สังเกตไม่พบ	เริ่มสังเกตได้	สังเกตได้	สังเกตได้	เห็นชัด	ไม่พบ

ข้อเสนอแนะ

1. อุณหภูมิและความเข้มของแสงมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์ของสาหร่ายพวก colonial Volvocales ฉนั้นควรจะควบคุมห้องปฏิบัติการให้มีอุณหภูมิไม่เกิน 25 องศาเซนติเกรด และควบคุมความเข้มของแสงให้ใกล้เคียงกับธรรมชาติ

2. ควรจะสำรวจสาหร่ายพวก colonial Volvocalesให้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้ โดยสำรวจตามแหล่งน้ำจืดในทุกจังหวัดของประเทศไทย

3. ควรศึกษาการสืบพันธุ์แบบใช้เพศของสาหร่ายพวกนี้ โดยศึกษาหาวิธีชักนำให้เกิดการสร้างเชื้อเพศด้วยวิธีต่าง ๆ หลายวิธี

บรรณานุกรม

References

1. Bold, Harold C. Morphology of plants, Harper & Row, Publishers New York, Evanston, and London, 1967, p. 31 - 34.

2. Fritsch, F.E. The structure and reproduction of the algae Vol.I, Cambridg university press, London, 1965.

3. Goldstein, Melvin. "Speciation and mating behavior in Eudorina", Selected paper in phycology, edited by Rosowski and Parker, 1971, p. 532 - 560.

4. Goldstein, Melvin. "Colony differentiation in Eudorina", Canada Journal of Botany, 45(9) : 1591 - 1596, 1967.

5. Goulding, K.H. and M.J. Merrett. "The photo-assimilation of acetate by Pyrobotrys stellata", Journal of General Microbiology, 48(1): 127 - 136, 1967.

6. Harris, Denny o. and Richard C. Starr. "Life history and physiology of reproduction of Platydorina caudata Kofoid", ARCH Protistenk, 111(2) : 138 - 155, 1969.

7. Harris, Denny o. "Nutrition of Platydorina caudata Kofoid" Journal of Phycology , 5(3) : 205 - 210, 1967.

8. Harris, Denny o. "An autoinhibitory substance produced by Platydorina caudata Kofoid", Plant Physiology 45(2) : 210 - 214, 1970.

9. Lunts, A.M. "Periodicity of division in Eudorina elegans Ehrbg", ZH OBSHCH Biology, 29(2) : 250 - 251, 1968.

10. 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.

11. Merret, M.J. "Carbondioxide fixation in Pyrobotrys stellata", British Phycology Bulletin, 3(2) : 219 - 223, 1967.

12. Palmer, Esther G. and Richard C. Starr. "Nutrition of Pandorina morum", Journal of Phycology, 7(2) : 85 - 89, 1971.

13. Prescott, G.W. How to know the freshwater algae II ed. Wm. C. Brown Co., Dubuque, Iowa, p. 55 - 61, 1970.

14. Saito, Shoichi. "Growth of Gonium multicoccum in synthetic media", Journal of Phycology, 8(2) : 169 - 175, 1972.

15. Starr, Richard C. The culture collection of algae at Indiana University - addition to the collection July 1966 - July 1971, reprinted from Journal of Phycology, Vol 7, No. 4, p. 360 - 361, 1971.

16. Starr, Richard C. The culture collection of algae at Indiana University reprinted from American Journal of Botary, Vol. 51, No. 9, p. 1041, 1964.

17. Smith, Gilbert. M. Cryptogamic Botany Vol. I, Mc.Graw Hill Book Company, p. 34 - 42, 1955.

18. Smith, Gilbert M. Manual of Phycology, The Ranold press company, New York, p. 351 - 356, 1951.

19. Smith, Gilbert M. The fresh water algae of the United States, Mc.Graw Hill Book Company, New York, p. 93 - 109, 1950.

20. Smith, Gilbert M. "Comparative study of the species of Volvox" Transections of American Microscopial Society, LXIII (4) : 265 - 310, October, 1944.

21. Stein, Janet R. "Sexual population of Gonium pectorale (Volovocales)", American Journal of Botary, 52(4) : 379 - 388, 1965.

22. Stein, Janet R. "Effect of temperature on sexual populations of Gonium pectorale (Volvocales)", American Journal of Botary, 53(9) : 941 - 944, 1966.

- - - - - - - - - -

ภาคผนวก

รูปภาพแสดงสัณฐานและการสืบพันธุ์ของสาหร่ายพวก colonial Volvocales

รูปที่ 1 – 6 แสดงสัณฐานของ Gonium pectorale

รูปที่ 1 Gonium pectorale (G_1 รย.–เมือง) โคโลนีเจริญไม่เต็มที่ (+500)

2 Gonium pectorale (G_1 รย.–เมือง) โคโลนีที่เจริญเต็มที่ เซลมีไพรินอยด์ 1 – 2 อัน (+500)

3 Gonium pectorale (G_3 ลพ.–เมือง) เซลมีแฟลกเจลลา 2 เส้น (+500)

4 Gonium pectorale (G_3 ลพ.–เมือง) โคโลนีประกอบด้วยเซล 16 เซล บางโคโลนีแตกออกเหลือเพียง 8 เซล ซึ่งสามารถแบ่งเซลสร้างโคโลนีลูก (+125)

5 Gonium pectorale (G_6 ปท.–รังสิต) โคโลนีที่เจริญเต็มที่ เซลมีไพรินอยด์ 1 อัน (+500)

6 Gonium pectorale (G_6 ปท.–รังสิต) โคโลนีที่เจริญเต็มที่ เซลมีไพรินอยด์ 1 – 2 อัน (+500)

รูปที่ 7 – 22 แสดงการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศของ Gonium pectorale

รูปที่ 7–8 Gonium pectorale (G_1 รย.–เมือง) แบ่งเซลระยะ 4 เซล (+500)

9 Gonium pectorale (G_1 รย.–เมือง) แบ่งเซลระยะ 4, 8 เซล (+500)

10-11 Gonium pectorale (G_1 รย.–เมือง) แบ่งเซลระยะ 8 เซล (+500)

12 Gonium pectorale (G_1 รย.–เมือง) แบ่งเซลระยะ 8,16 เซล (+500)

13 Gonium pectorale (G_1 รย.–เมือง) แบ่งเซลเห็นทางด้านข้าง (+500)

14 Gonium pectorale (G_3 ลพ.–เมือง) โคโลนีที่มี 16 เซล แต่ละเซลแบ่งไม่พร้อมกัน บางเซลกำลังแบ่งระยะ 4, 8 เซล เซลรอบนอกเห็นแฟลกเจลลา 2 เส้น (+500)

รูปที่ 15 Gonium pectorale (G_3 ลพ.-เมือง) แบ่งเซลระยะ 4, 8, 16 เซล (+320)

16. Gonium pectorale (G_3 ลพ.-เมือง) บางเซลสร้างโคโลนีลูกเสร็จแล้วแต่บางเซลยังไม่เริ่มแบ่ง (+500)

17 Gonium pectorale (G_6 ปท.-รังสิต) เซลหนึ่งแบ่งระยะ 8 เซล (+500)

18 Gonium pectorale (G_6 ปท.-รังสิต) เซลหนึ่งแบ่งเสร็จแล้วได้ 16 เซล (+500)

19 Gonium pectorale (G_6 ปท.-รังสิต) แบ่งเซลระยะ 16 เซล (+500)

20 Gonium pectorale (G_6 ปท.-รังสิต) แบ่งเซลระยะ 8, 16 เซล (+500)

21 Gonium pectorale (G_6 ปท.-รังสิต) แบ่งเซลระยะ 4, 16 เซล (+500)

22 Gonium pectorale (G_6 ปท.-รังสิต) โคโลนีที่แตกเหลือ 4 เซล สามารถแบ่งเซลได้ 16 เซล (+500)

รูปที่ 23 – 26 แสดงสัณฐานของ Pandorina morum

รูปที่ 23 Pandorina morum (P_2 กท.-พระโขนง 2) โคโลนีที่เจริญเต็มที่มี 16 เซล อัดกันแน่น มีไพรีนอยด์ 1 อัน (+500)

24 Pandorina morum (P_{10} กท.-พญาไท 2) โคโลนีที่เจริญเต็มที่มี 16 เซล อัดกันแน่น มีไพรีนอยด์ 1 อัน (+500)

25 Pandorina morum (P_{11} นท.-เมือง) โคโลนีที่เจริญเต็มที่มี 16 เซล อัดกันแน่น มีไพรีนอยด์ 1 อัน (+500)

26 Pandorina morum (P_{13} กท.-ตลิ่งชัน) โคโลนีที่เจริญเต็มที่ เซลทางด้านหน้าของโคโลนีมีอายสปอตใหญ่เห็นชัดเจน (+500)

รูปที่ 27 – 39 แสดงการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศของ Pandorina morum

รูปที่ 27 Pandorina morum (P_2 กท.–พระโขนง 2) เซลหนึ่งแบ่งระยะ 4 เซล เซลบิดเยื้องกันเล็กน้อย เซลอื่น ๆ ยังไม่แบ่ง (+320)

28–30 Pandorina morum (P_2 กท.–พระโขนง 2) เมื่อเซลแบ่งถึงระยะ 16 เซลแล้วจะเรียงตัวเป็นแผ่นแบนโค้ง (Plakea stage) รูปที่ 29 ลูกศรชี้เป็นเยื่อหุ้มของโคโลนีแม่ (+500)

31 Gonium pectorale (P_{10} กท.–พญาไท 2) เซลหนึ่งแบ่งระยะ 4 เซล อีกเซลหนึ่งสร้างโคโลนีลูกเสร็จแล้ว (+320)

32 Gonium pectorale (P_{10} กท.–พญาไท 2) 1 โคโลนีแม่สร้างได้ 16 โคโลนีลูก (+320)

33–34 Gonium pectorale (P_{11} นพ.–เมือง) แบ่งเซลระยะ 4, 8 เซล (+500)

35 Gonium pectorale (P_{11} นพ.–เมือง) 1 เซลที่แบ่งแล้ว 16 เซล เรียงตัวเป็นแผ่นแบนโค้ง (+500)

36 Gonium pectorale (P_{13} กท.–ตลิ่งชัน) เซลแบ่งระยะ 4 เซล (+500)

37–38 Gonium pectorale (P_{13} กท.–ตลิ่งชัน) เซลแบ่งระยะ 4, 8 เซล (+500)

39 Gonium pectorale (P_{13} กท.–ตลิ่งชัน) เซลแบ่งระยะ 8, 16 เซล (+500)

รูปที่ 40 – 51 แสดงสัณฐานของ Eudorina elegans, Eudorina unicocca, Eudorina illinoisensis

รูปที่ 40 Eudorina elegans (E_3 ชร.–เชียงคำ) โคโลนีที่เจริญเต็มที่มีสารเมือกวุ้นหนาห่อหุ้ม เซลมีแฟลกเจลลา 2 เส้น และอายสปอต 1 อัน (+500)

รูปที่ 41 Eudorina elegans (E_3 ชร.–เชียงคำ) โคโลนีที่เจริญเต็มที่ เซลเรียงชิดกัน ไพรีนอยด์จำนวนมากกระจายอยู่ทั่วไป (+500)

42 Eudorina elegans (E_9 นส.–พยุหคีรี) โคโลนีเกิดใหม่ (+500)

43-44 Eudorina elegans (E_9 นส.–พยุหคีรี) โคโลนีที่เจริญเต็มที่ประกอบด้วย 32 เซล เรียงตัวเกือบชิดกัน ห่อหุ้มด้วยสารเมือกวุ้น เซลมีไพรีนอยด์จำนวนมากกระจายอยู่ทั่วไป (+500)

45-46 Eudorina unicocca (E_{10} กท.–ตลิ่งชัน) โคโลนีที่เจริญเต็มที่ประกอบด้วย 32 เซล ห่อหุ้มด้วยสารเมือกวุ้น (+500)

47 Eudorina unicocca (E_{10} กท.–ตลิ่งชัน) โคโลนีที่เจริญเต็มที่ มีส่วนยื่นจากด้านท้ายของโคโลนี (+500)

48-49 Eudorina illinoisensis (E_2 ลพ.–แม่ทา) โคโลนีที่เจริญเต็มที่ เซลทางด้านหน้า 4 เซล มีขนาดเล็กกว่าเซลทางด้านท้ายของโคโลนี (+320)

50 Eudorina illinoisensis (E_2 ลพ.–แม่ทา) เซลขนาดเล็กทางด้านหน้าของโคโลนีมีอายสปอตใหญ่เห็นชัด เซลทางด้านท้ายมีอายสปอต–เล็ก เซลมีไพรีนอยด์หลายอันขนาดไม่เท่ากัน (+320)

51 Eudorina illinoisensis (E_2 ลพ.–แม่ทา) ก่อนแบ่งเซลเพื่อสร้างโคโลนีลูก เซลจะแยกห่างจากกัน สารเมือกวุ้นหนาขึ้น (+500)

รูปที่ 52 – 60 แสดงการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศของ Eudorina elegans, Eudorina illinoisensis, Eudorina unicocca

รูปที่ 52–54 .Eudorina elegans (E_9 นส.–พยุหคีรี) แบ่งเซลระยะ 8, 16 เซล (+320)

55 Eudorina elegans (E_3 ชร.–เชียงคำ) โคโลนีลูกที่สร้างเสร็จ–ใหม่ ๆ กำลังว่ายน้ำออกจากเยื่อหุ้มของโคโลนีแม่ แล้วโคโลนีแม่สลายตัวไป (+80)

รูปที่ 56 Eudorina illinoisensis (E_5 นย.–องครักษ์) แบ่งเซลระยะ 2, 4, 8 เซล (+500)

57 Eudorina unicocca (E_2 ลพ.–แม่ทา) เซลทางด้านหน้าของโคโลนี ซึ่งมีขนาดเล็กไม่แบ่งเซล ส่วนเซลอื่นแบ่งระยะ 4, 8, 16 เซล (+320)

58 Eudorina unicocca (E_2 ลพ.–แม่ทา) แบ่งเซลระยะ 16, 32 เซล (+500)

59-60 Eudorina unicocca (E_2 ลพ.–แม่ทา) ภายหลัง inversion แล้ว ได้โคโลนีลูกซึ่งห่อหุ้มด้วยสารเมือกวุ้น และยังอยู่ในโคโลนีแม่ โคโลนี-ลูกที่เกิดใหม่เซลเรียงตัวชิดกัน เซลขนาดเล็กทางด้านหน้าของโคโลนีที่ไม่สร้างโคโลนีลูก (+320)

รูปที่ 61 – 64 แสดงสัณฐานของ Pleodorina californica

รูปที่ 61–63 Pleodorina californica (Ple_2 กท.–ศลิ่งชัน) โคโลนีที่เกิดใหม่ทุกเซลมีขนาดเกือบเท่ากัน รูปที่ 61–62 (+320) รูปที่ 63 (+125)

64 Pleodorina californica (Ple_1 กท.–มินบุรี) โคโลนีที่เจริญเต็มที่ เซลทางด้านหน้ามีขนาดเล็กกว่าเซลทางด้านท้ายของโคโลนี เซลทางด้านท้ายนี้จะเจริญเป็นโกนิเดียแล้วแบ่งเซลเพื่อสร้างโคโลนีลูก (+125)

รูปที่ 65 – 75 แสดงการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศของ Pleodorina californica

รูปที่ 65–68 Pleodorina californica (Ple_1 กท.–มินบุรี) เซลทางด้านหน้าของโคโลนีซึ่งมีขนาดเล็กไม่สามารถแบ่งเซลเพื่อสร้างโคโลนีลูก ส่วนเซลทางด้านท้ายกำลังแบ่งเซลพร้อม ๆ กัน รูปที่ 65 (+80) รูปที่ 66–68 (+125)

รูปที่ 69 Pleodorina californica (Ple_1 กท.–มินบุรี) เซลที่แบ่งเสร็จแล้วกำลังพลิกด้านในออกด้านนอก (inversion) (+320)

70–72 Pleodorina californica (Ple_1 กท.–มินบุรี) ภายหลัง inversion ได้โคโลนีลูกรูปร่างกลมเซลเรียงชิดกัน เซลมีแฟลกเจลลา 2 เส้น ภาพนี้ยังอยู่ในโคโลนีแม่ (+500)

73–74 Pleodorina californica (Ple_1 กท.–มินบุรี) เซลในโคโลนีลูกเริ่มแยกตัวห่างจากกันก่อนว่ายน้ำออกจากโคโลนีแม่ รูปที่ 73(+80) รูปที่ 74 ขยายรูปที่ 73 เพียง 1 โคโลนี (+500)

75–76 Pleodorina californica (Ple_2 กท.–ตลิ่งชัน) โคโลนีลูกกำลังว่ายน้ำออกจากโคโลนีแม่ (+80)

รูปที่ 77 – 80 แสดงสัณฐานของ Volvox rousseletii

รูปที่ 77 Volvox rousseletii (V.กท.–ตลิ่งชัน) โคโลนีที่เจริญเต็มที่สร้างโคโลนีลูก 12 อัน (+37.5)

78 Volvox rousseletii (V.กท.–ตลิ่งชัน) เซลที่ผิวโคโลนีมีแฟลกเจลลา 2 เส้น (+500)

79–80 Volvox rousseletii (V.กท.–ตลิ่งชัน) โคโลนีประกอบด้วยเซลประมาณ 8000 เซล มีเส้นใยไซโตพลาสซึมเชื่อมระหว่างเซล (+500)

รูปที่ 81 – 88 แสดงการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศของ Volvox rousseletii

81 Volvox rousseletii (V.กท.–ตลิ่งชัน) โกนิเดียแบ่งเซลระยะ 4 เซล (+500)

82–83 Volvox rousseletii (V.กท.–ตลิ่งชัน) กำลังแบ่งเซลโคโลนีค่อย ๆ กลมขึ้น มีรูปเปิดใหญ่ (+500)

84 Volvox rousseletii (V.กท.–ตลิ่งชัน) รูเปิดมีขนาดเล็กลงจนเกือบปิด (+500)

รูปที่ 85-86 Volvox rousseletii (V.กท.–ตลิ่งชัน) โกนิเดียแบ่งได้เซลจำนวนมากซึ่งอยู่ภายในถุงที่ยึดติดกับสารเมือกวุ้นของโคโลนีแม่ รูปที่ 85 (+500) รูปที่ 86 (+125)

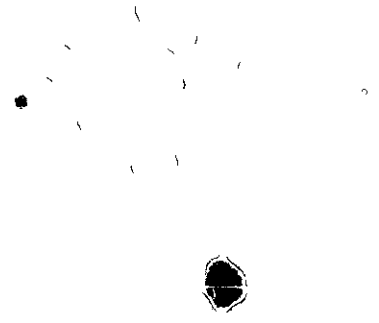
87 Volvox rousseletii (V.กท.–ตลิ่งชัน) โคโลนีลูกกำลังพลิกด้านในออกมาด้านนอก (inversion) (+37.5)

88 Volvox rousseletii (V.กท.–ตลิ่งชัน) โคโลนีลูกที่เกิดใหม่รูเปิดยังปิดไม่สนิท (+125)

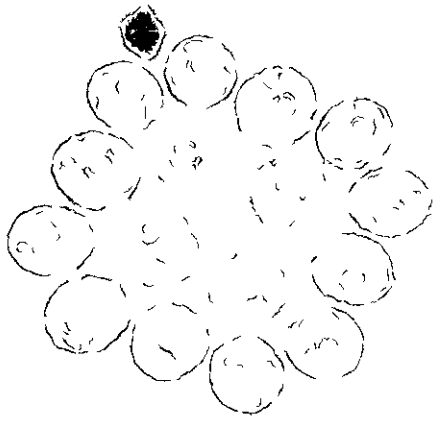
89 Platydorina caudata (Pla สข.–เมือง) โคโลนีรูปเกือกม้าแบนด้านท้ายของโคโลนีมีส่วนยื่นออกมา 3 อัน ประกอบด้วย 16 เซล (+500)

90 Pyrobotrys gracilis (Pyกท.–ราชบูรณะ) โคโลนีรูปร่างคล้ายพวงองุ่น ประกอบด้วย 16 เซล เซลเรียงตัวสลับกันเป็น 4 ชั้น (+500)

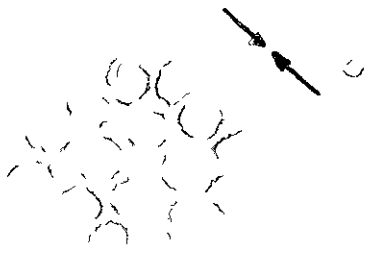
1



2

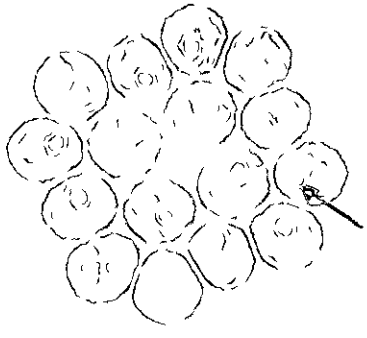


3

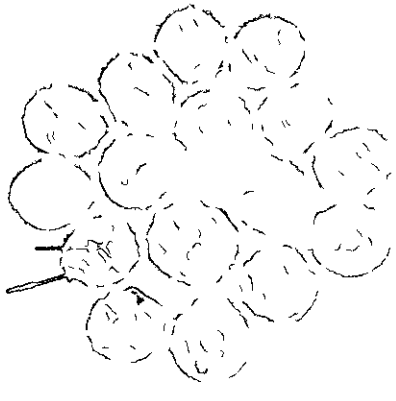


4

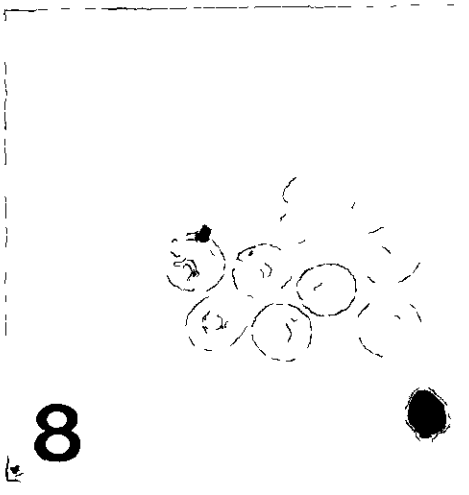
5

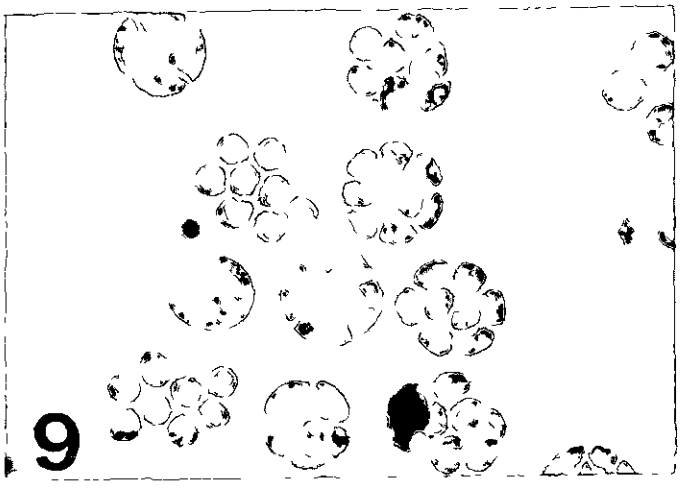


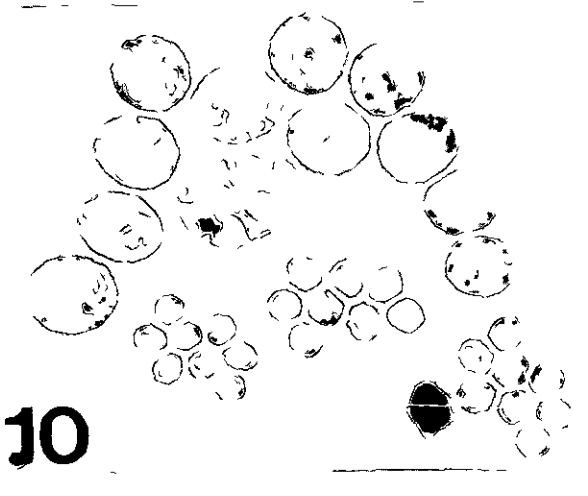
6

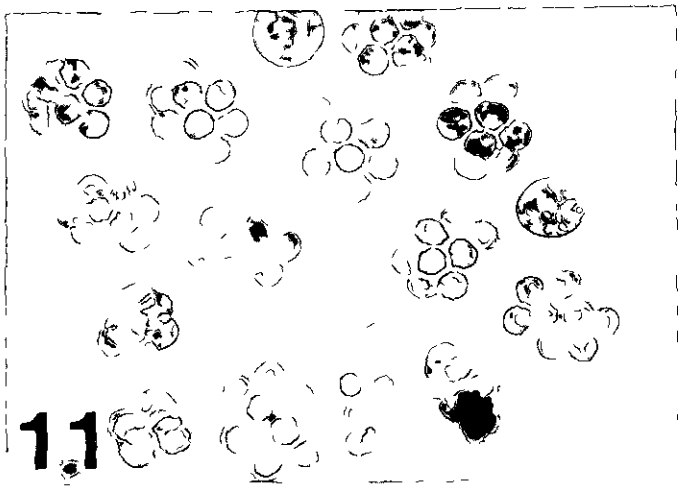


7

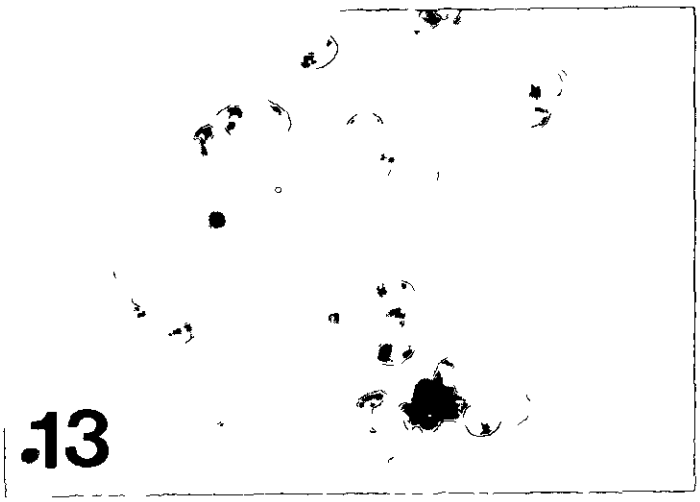

8

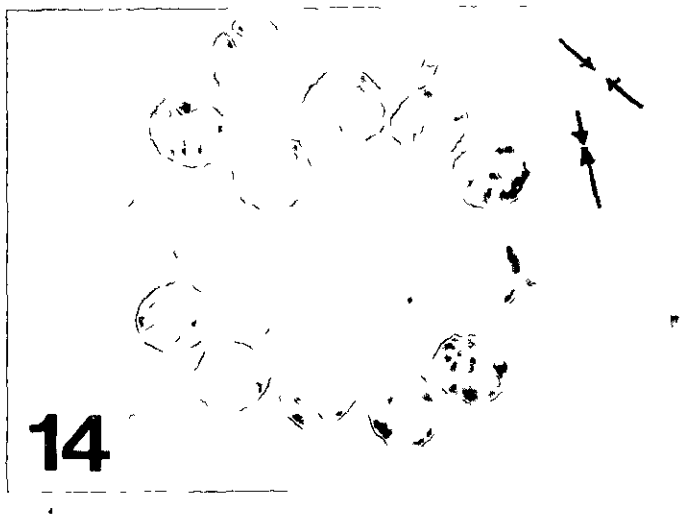

9

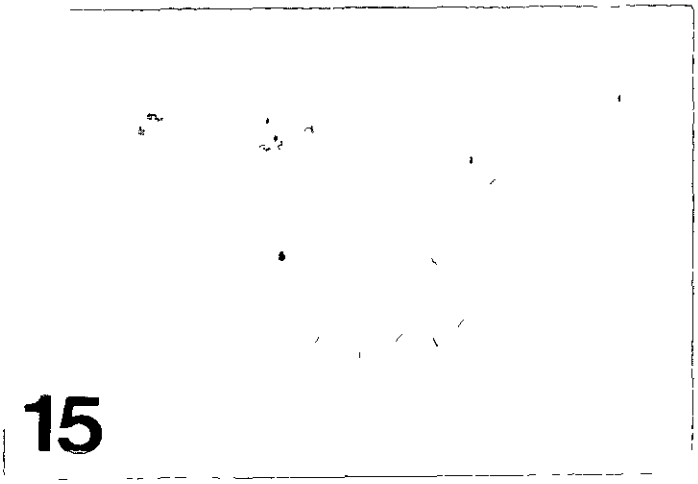

10

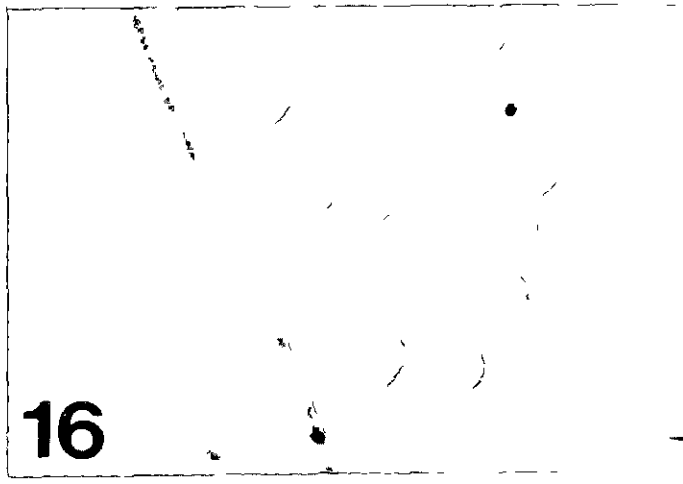

11

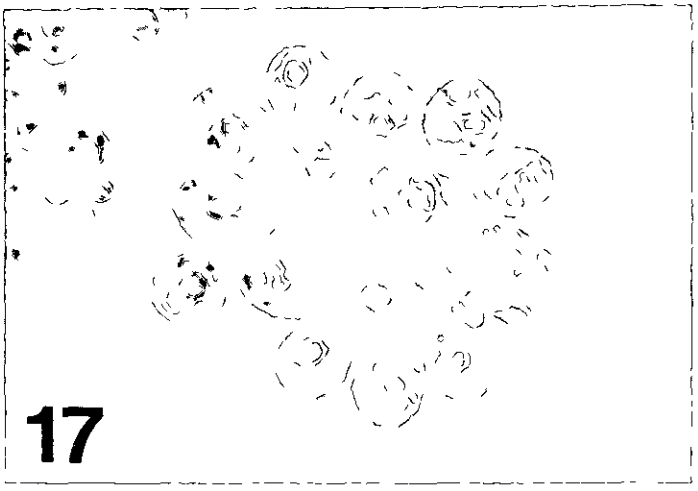
12

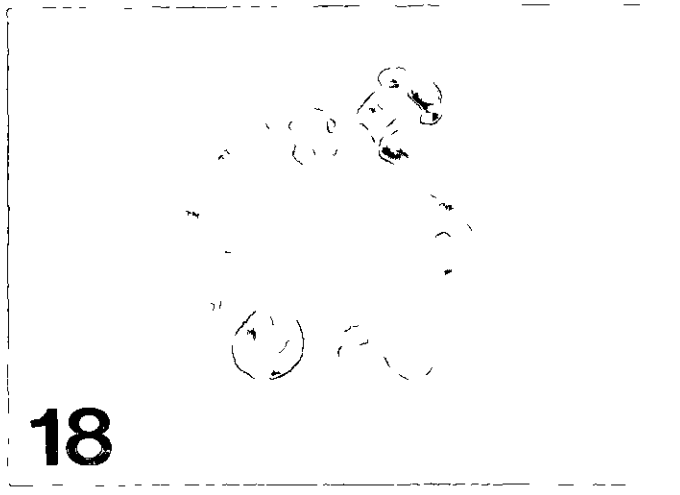

13


14

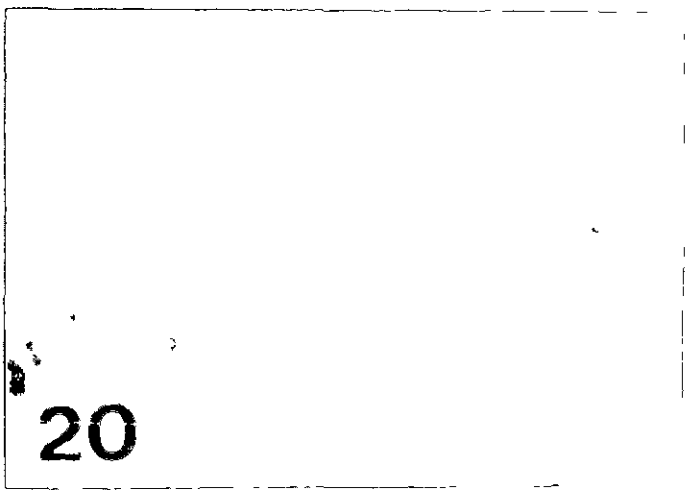

15

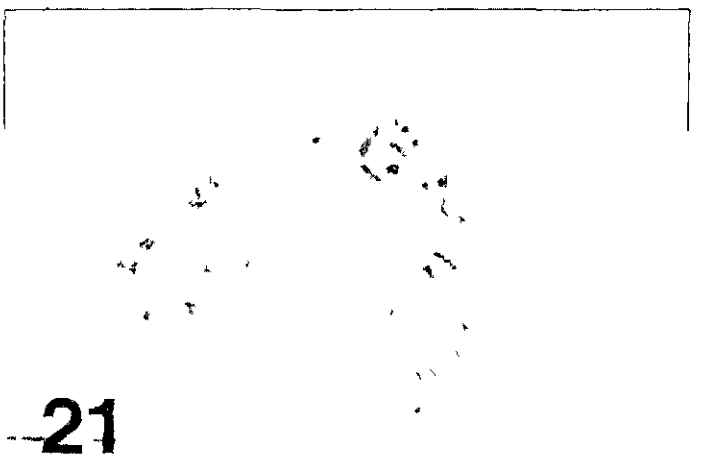

16

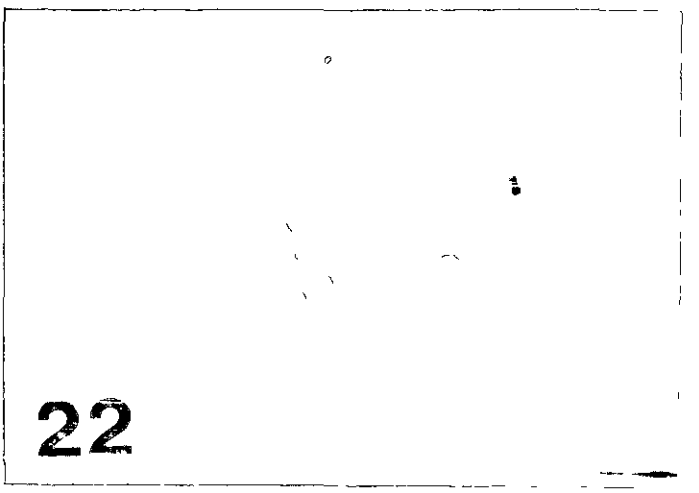

17


18

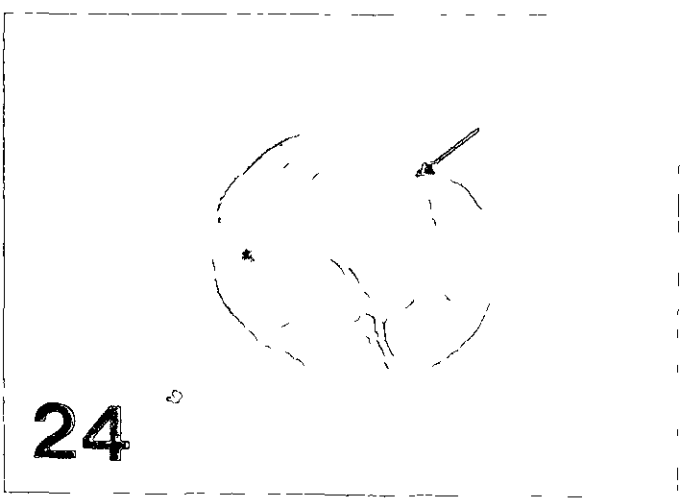
19


20

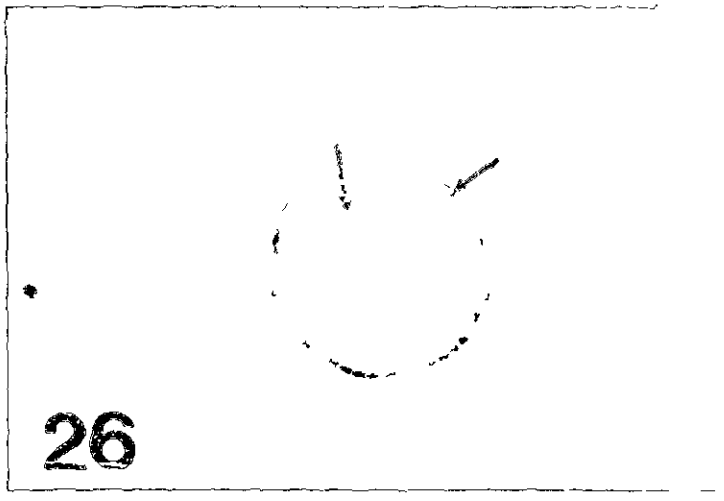

21

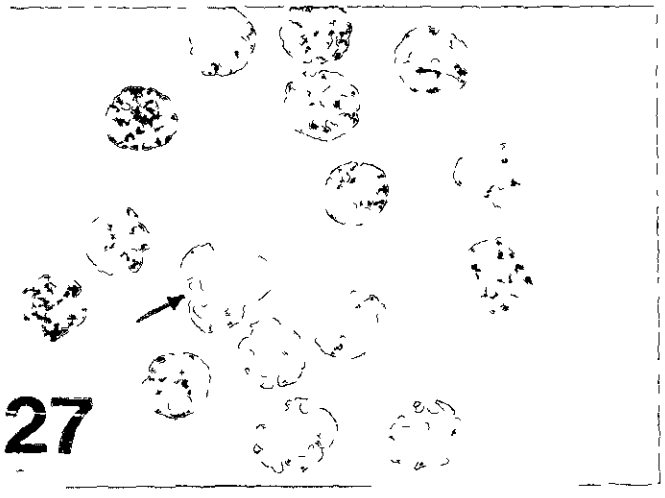

22

23

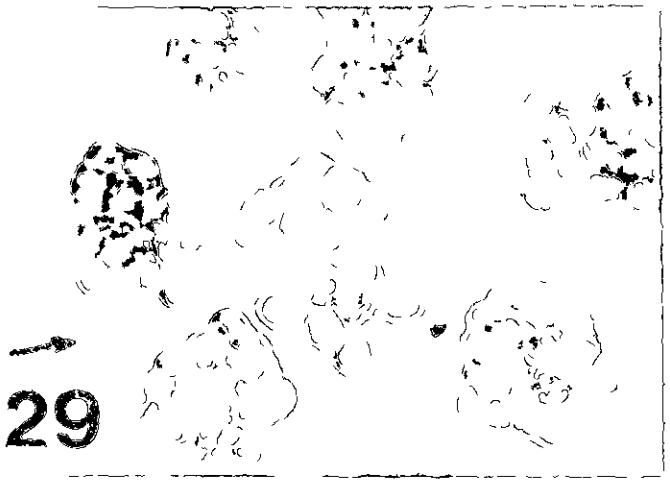

24

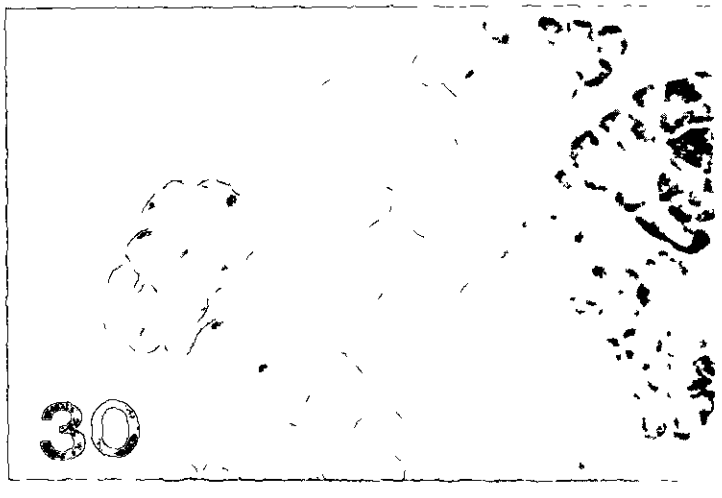
25

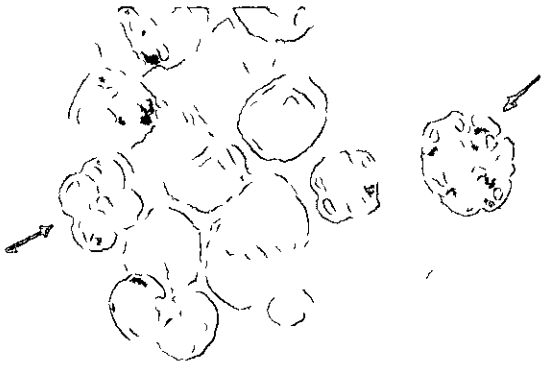

26


27

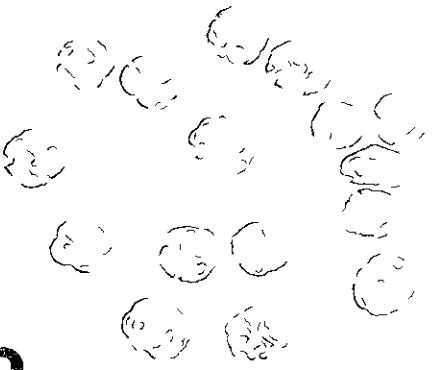
28


29


30

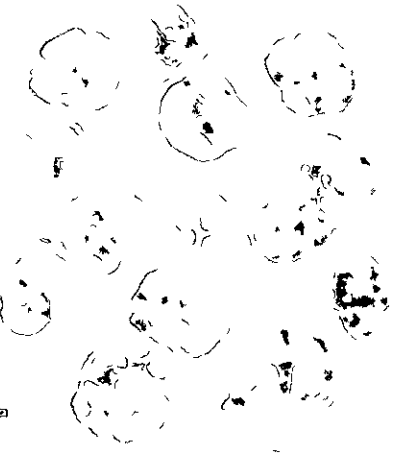


31

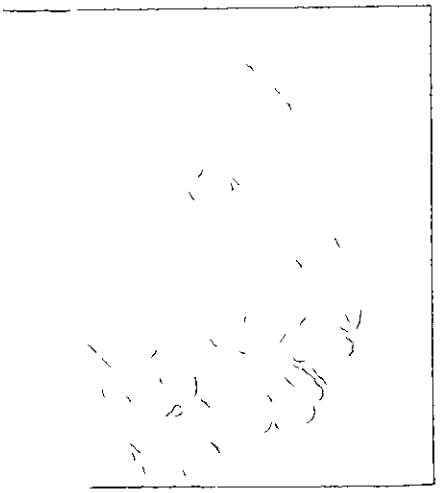


32

33

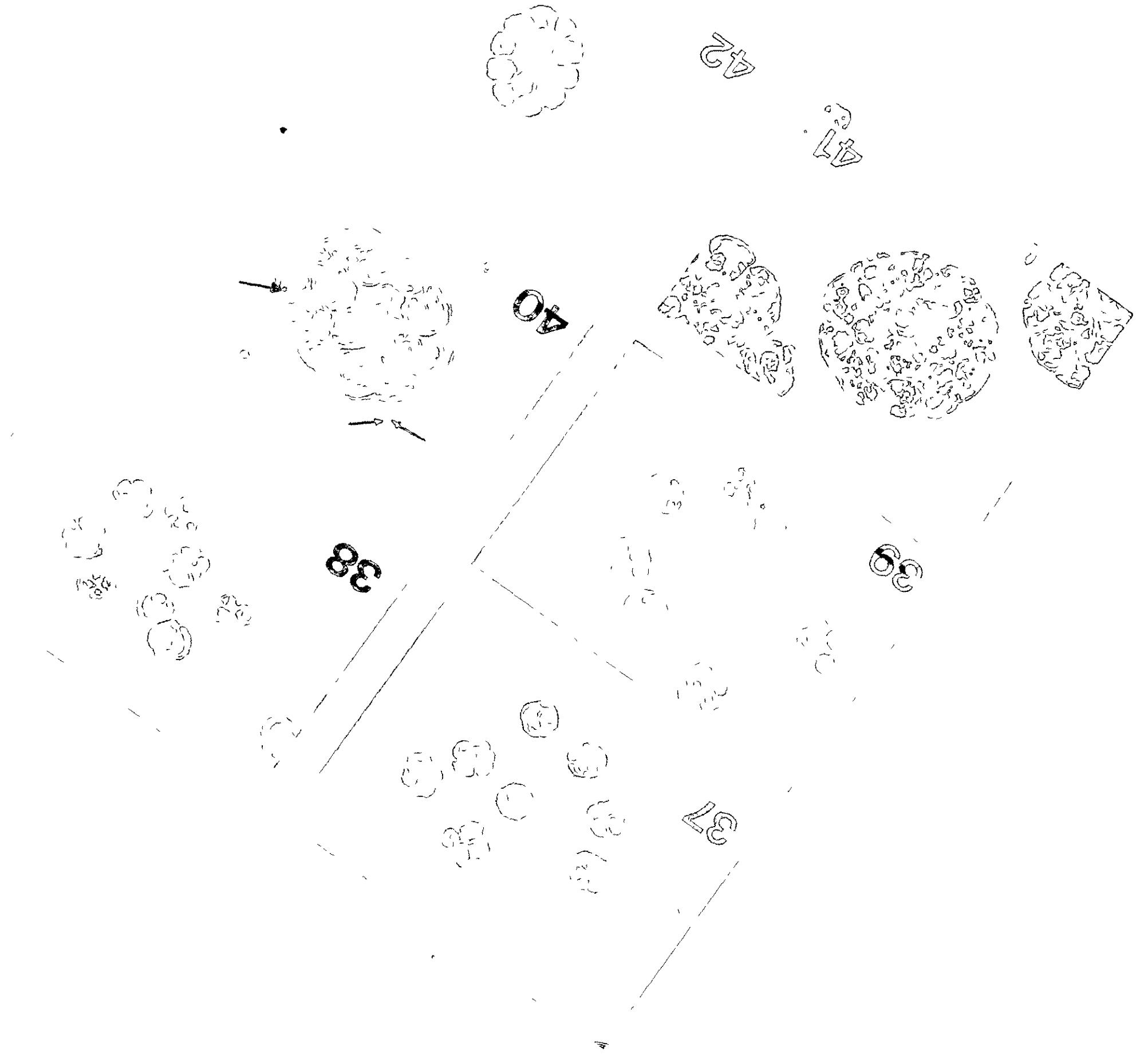


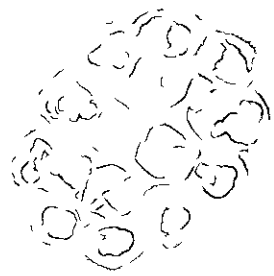
34



35

36


42
41
40
38
39
37



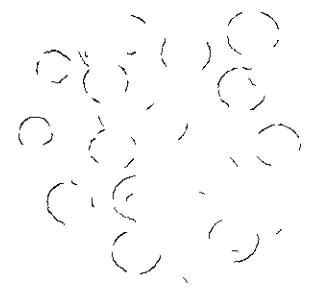
43

44

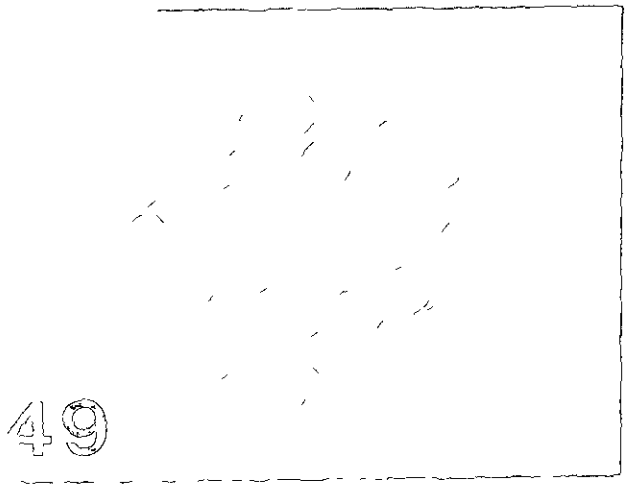
45

46

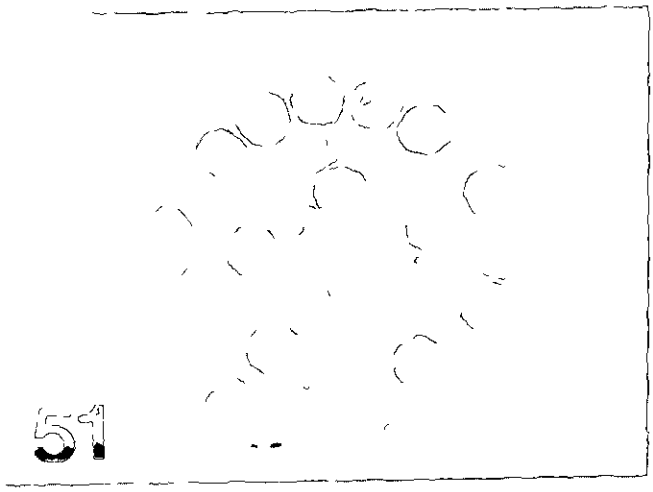
47

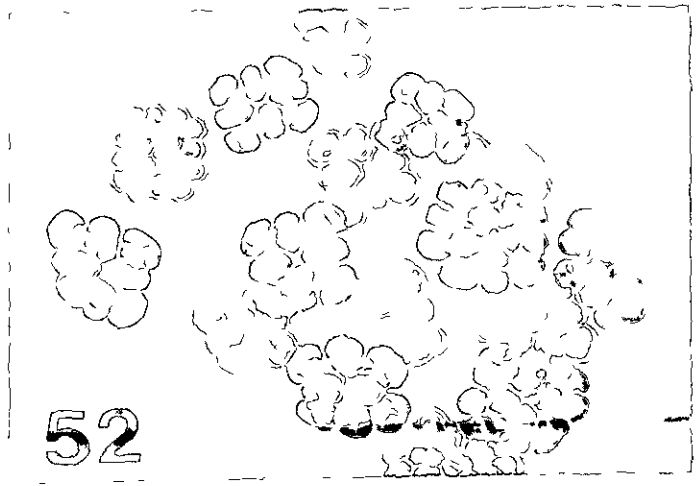


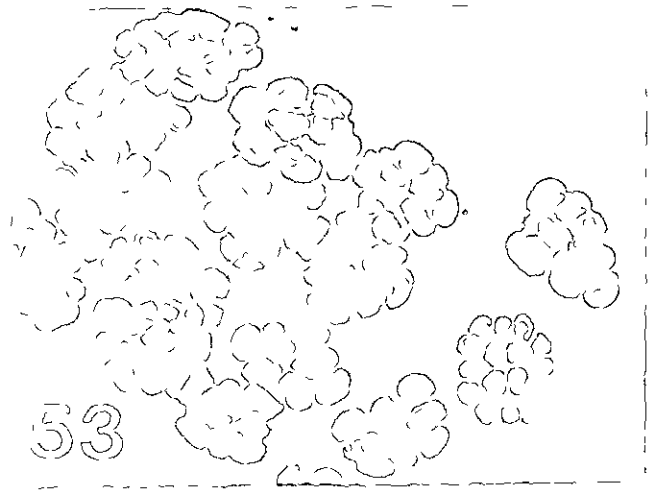
48

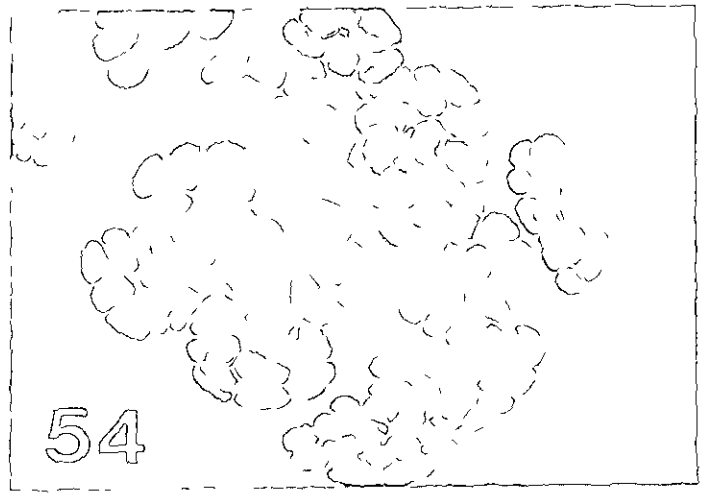

49

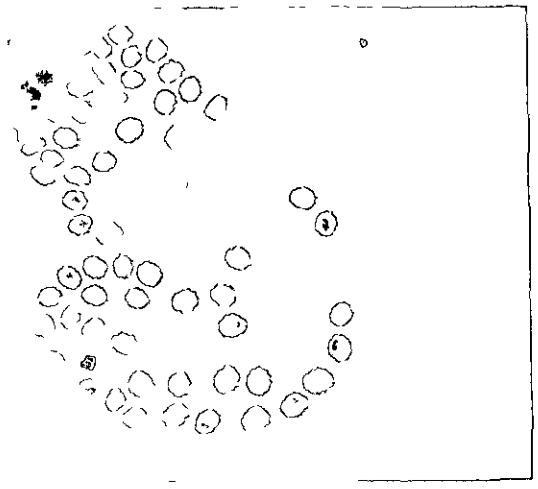
50


51

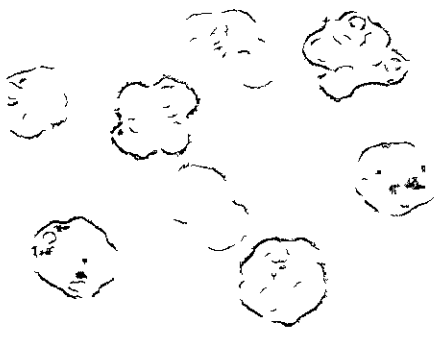

52


53


54



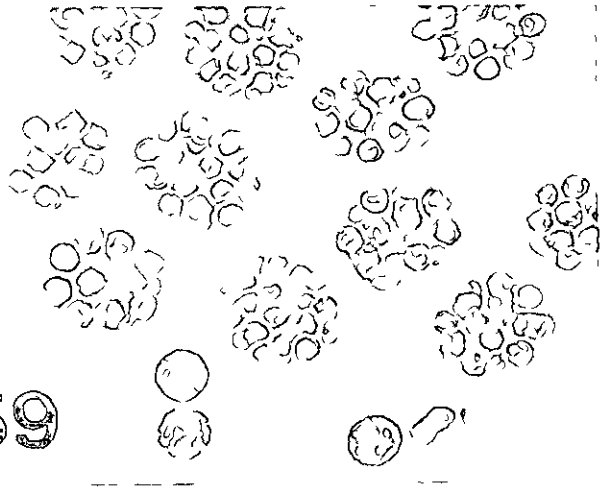
55



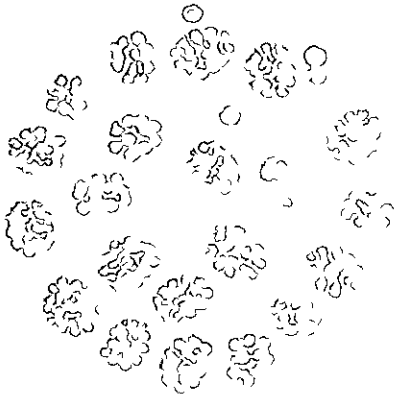
56

57

58

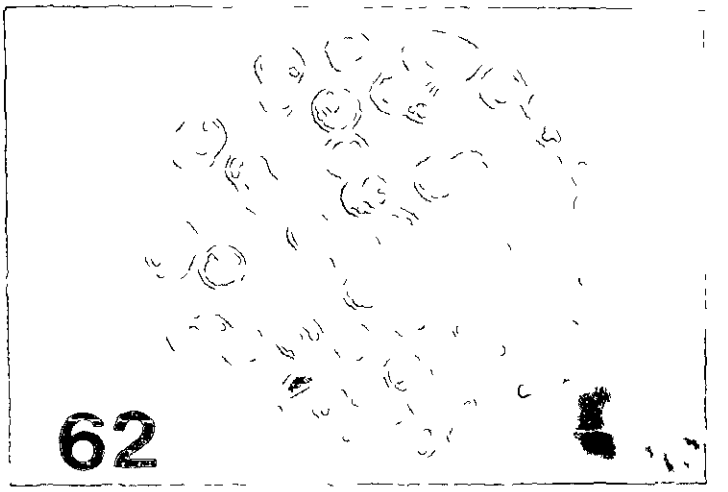


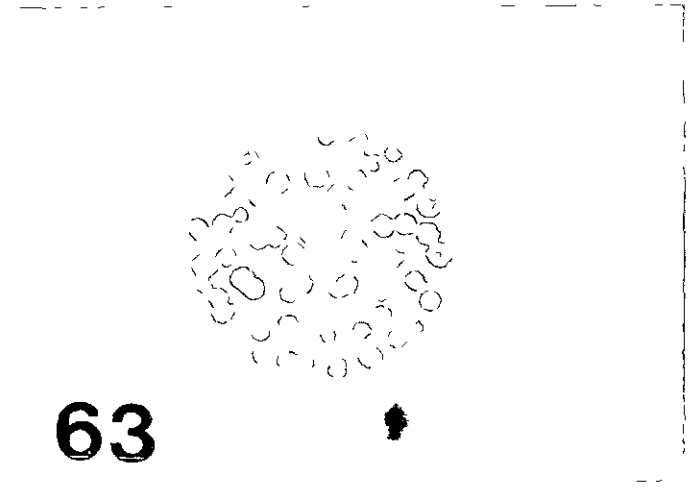
59

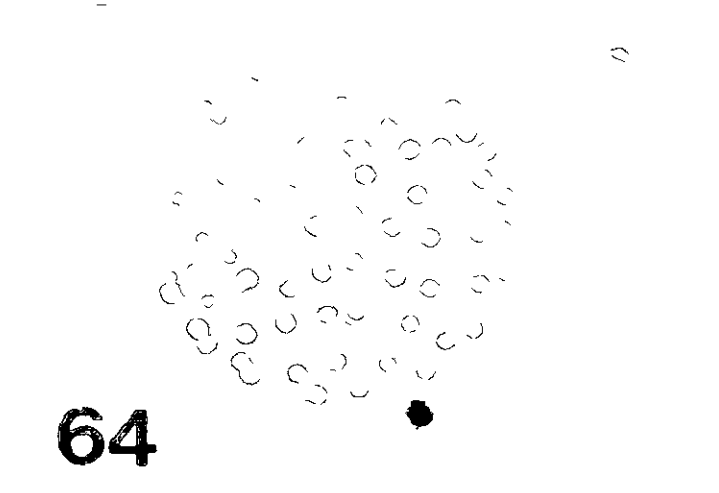


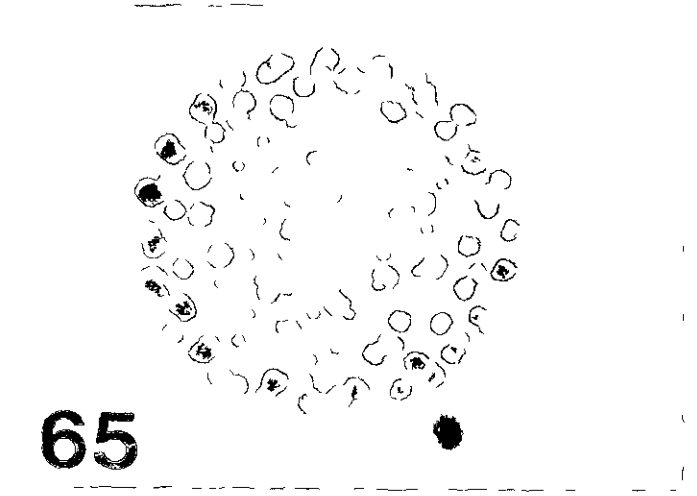
60

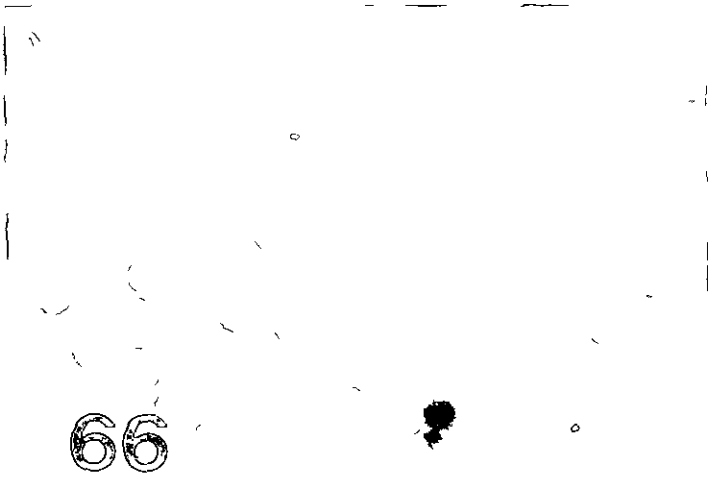
61

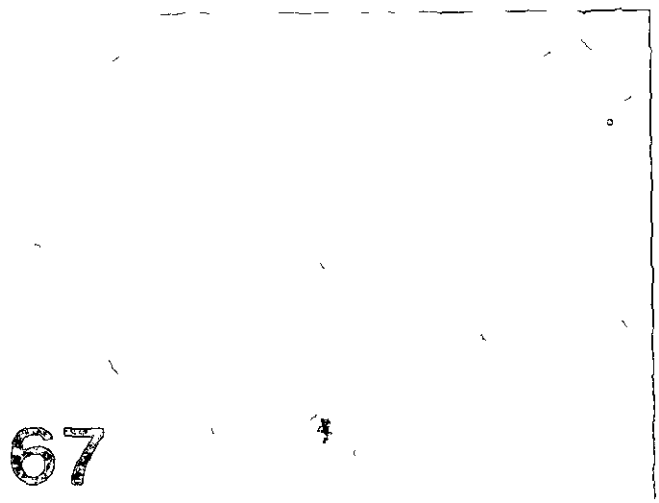

62

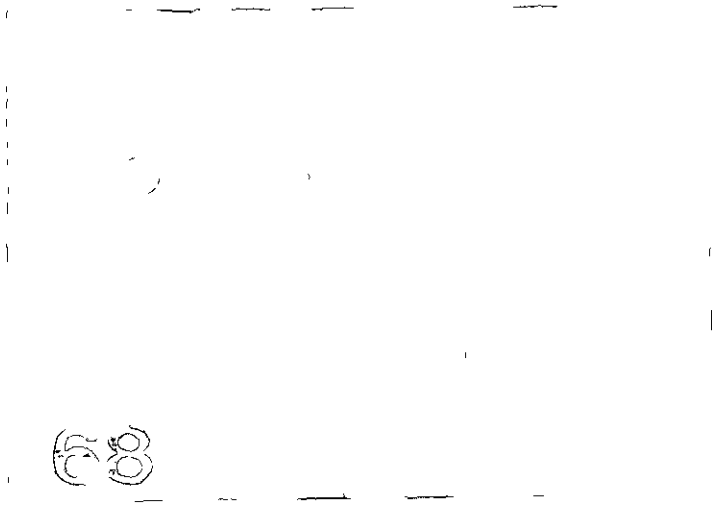

63

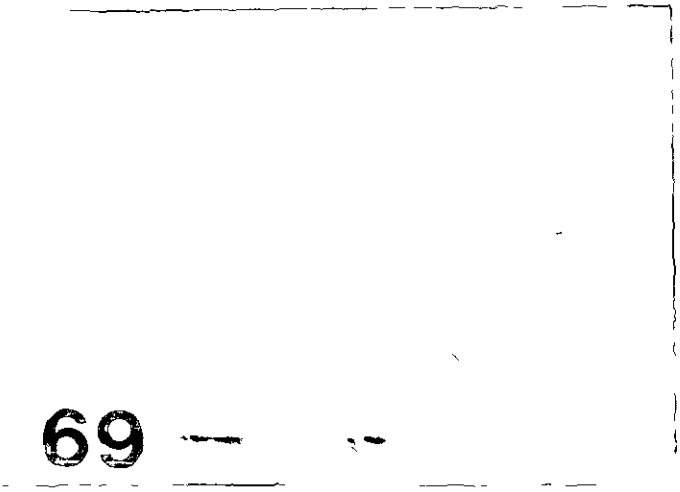

64

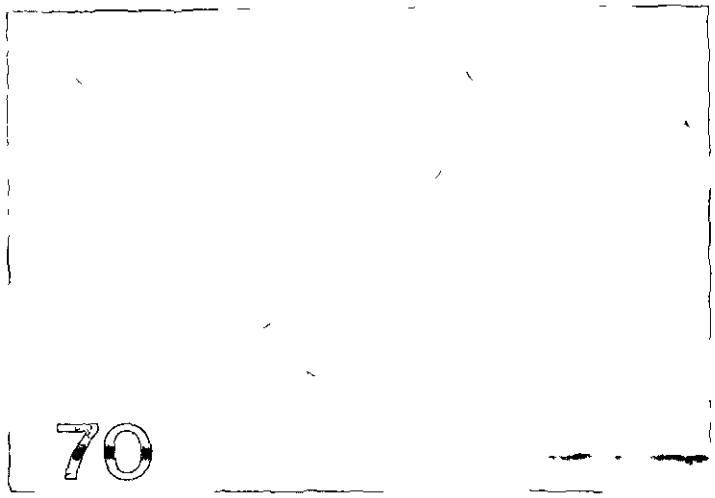

65

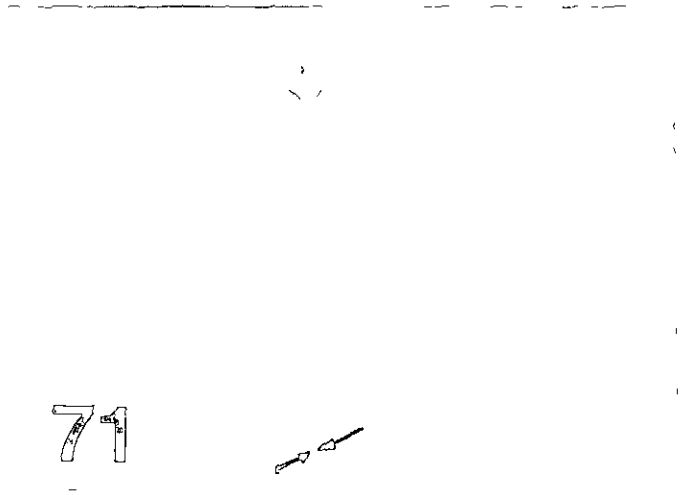

66

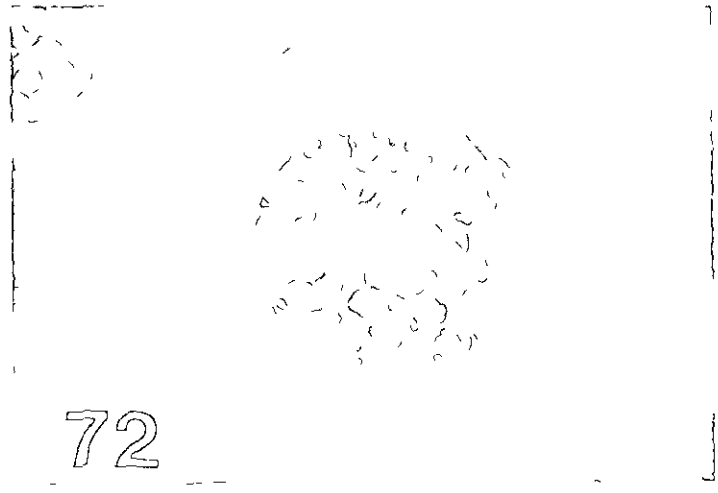

67

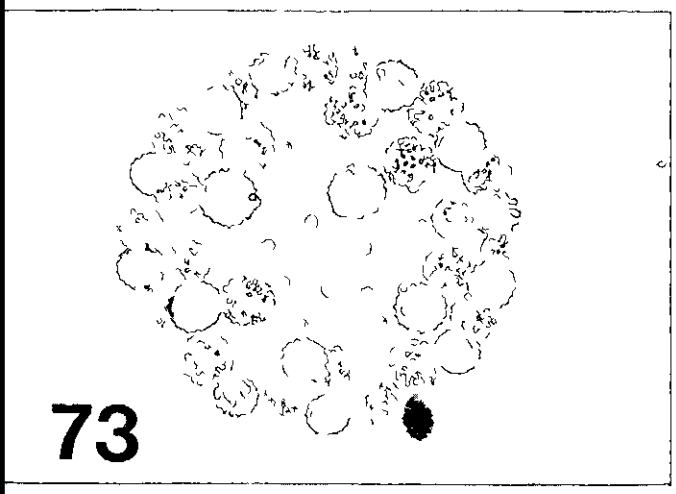

68

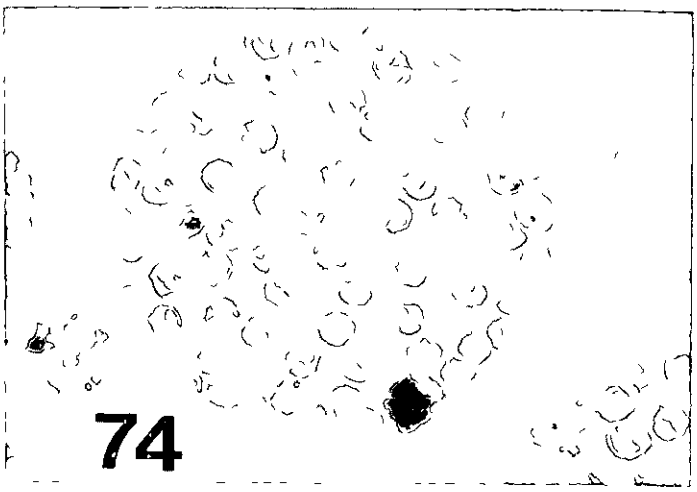

69

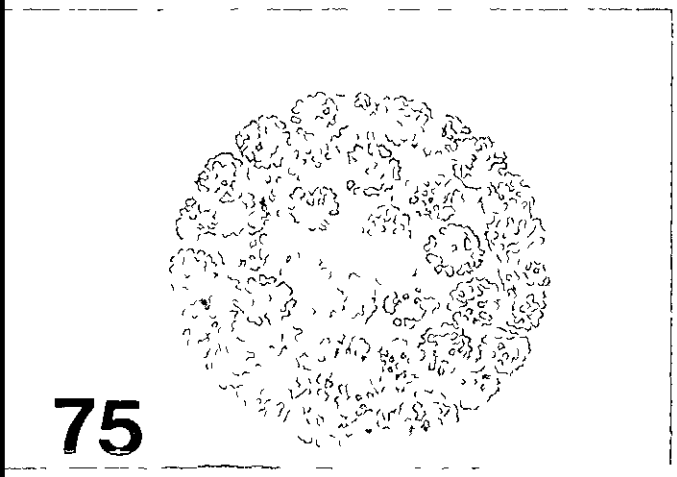

70

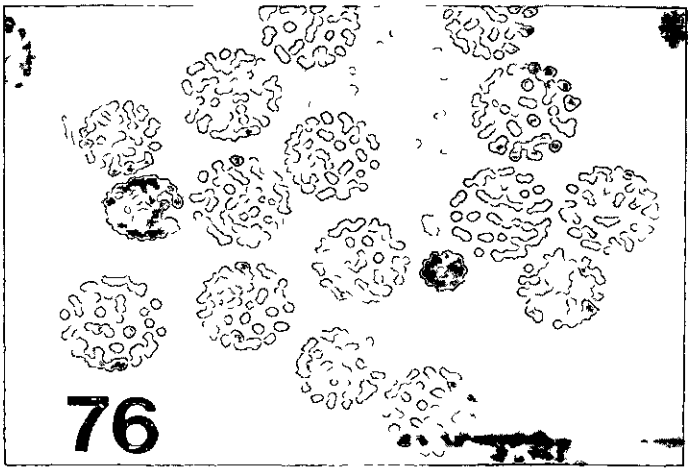

71

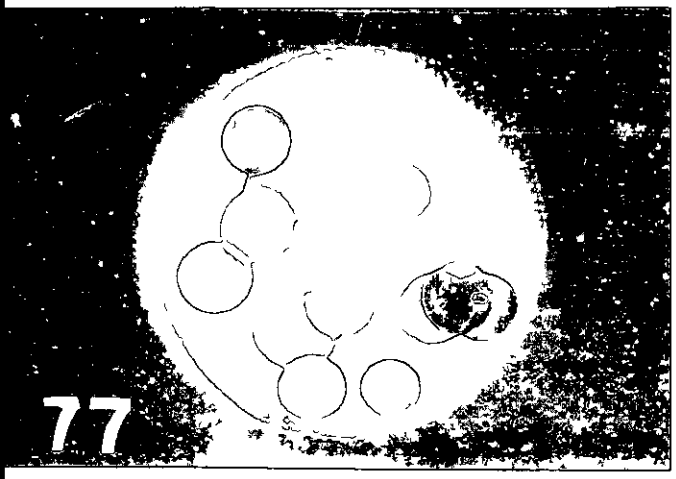

72


73


74

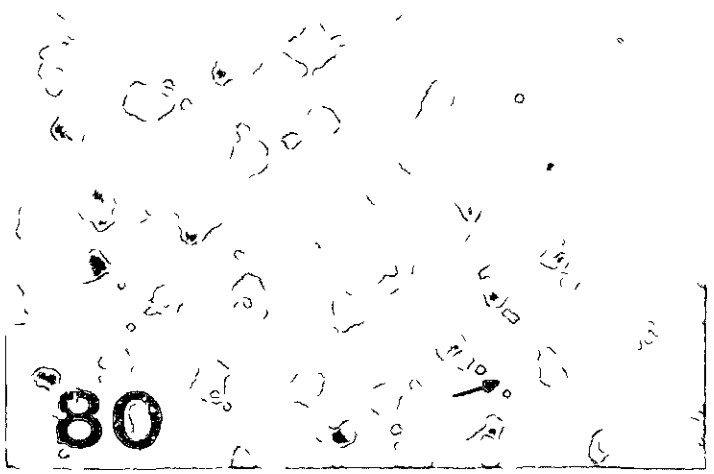

75

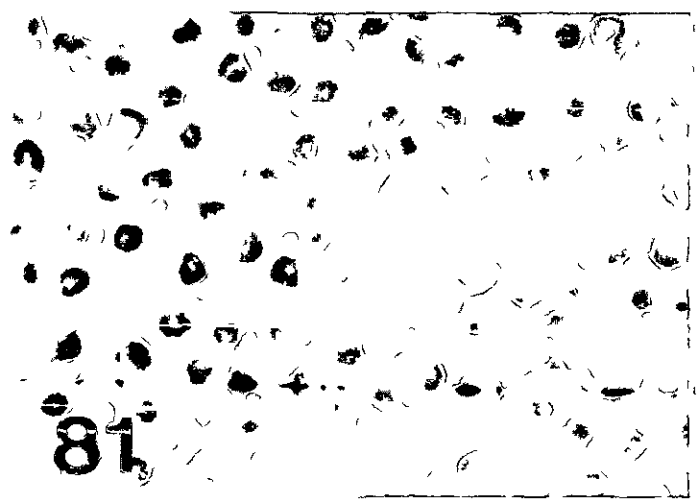

76


77

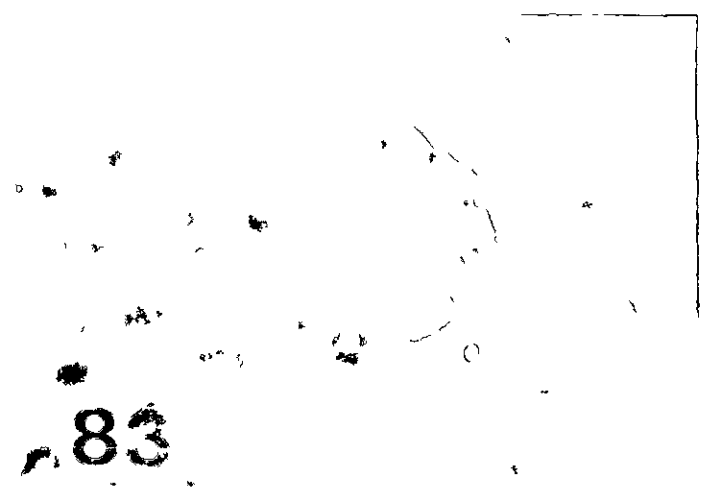
78

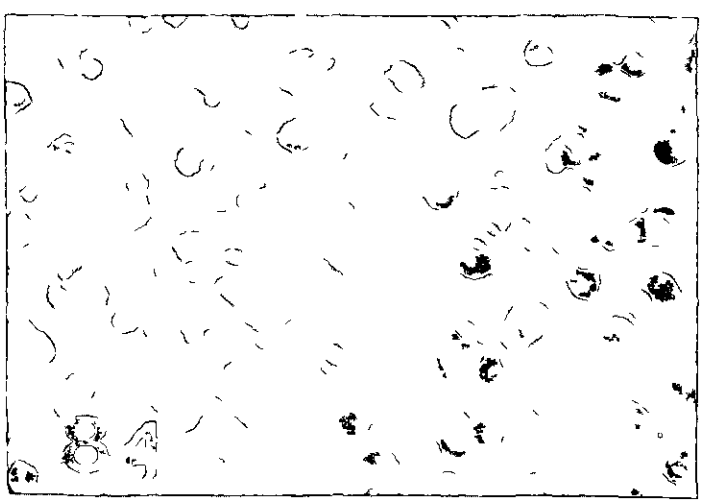
79


80

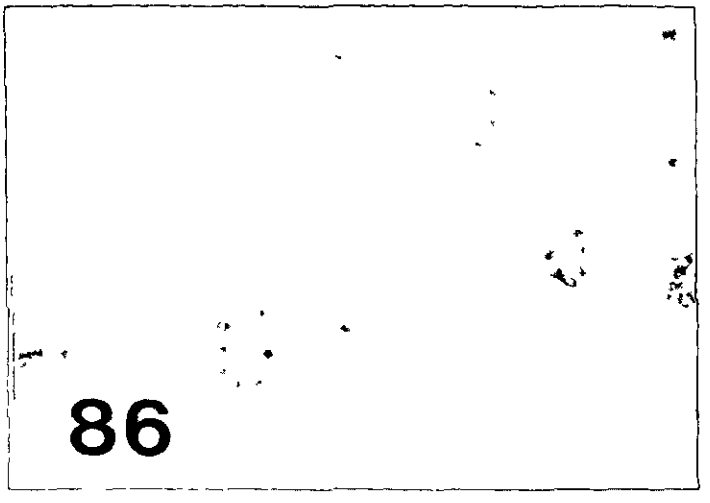

81

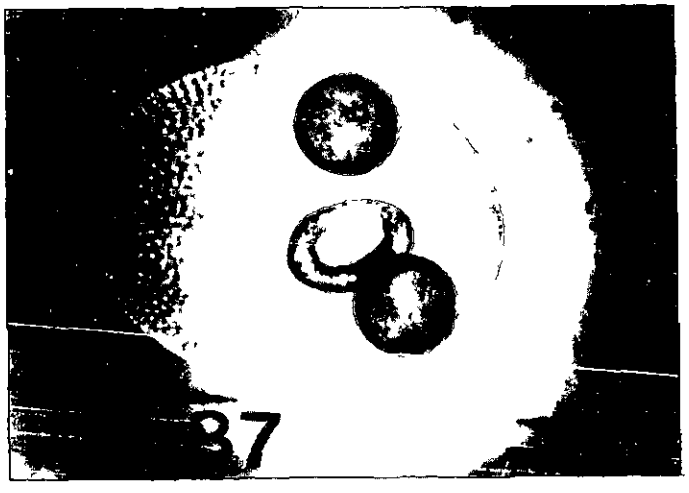
82

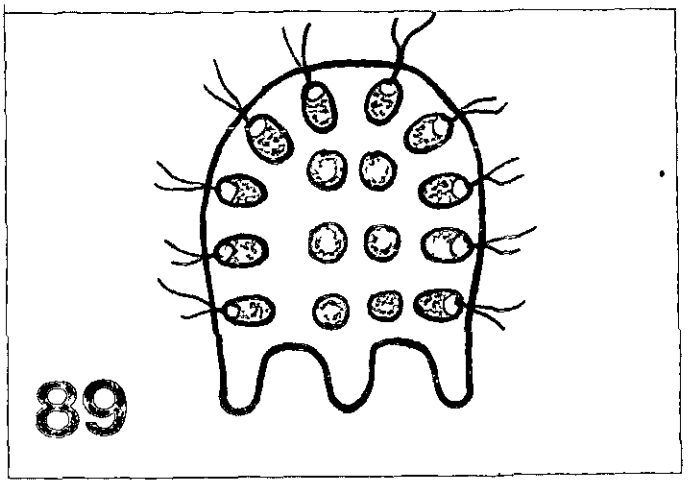

83

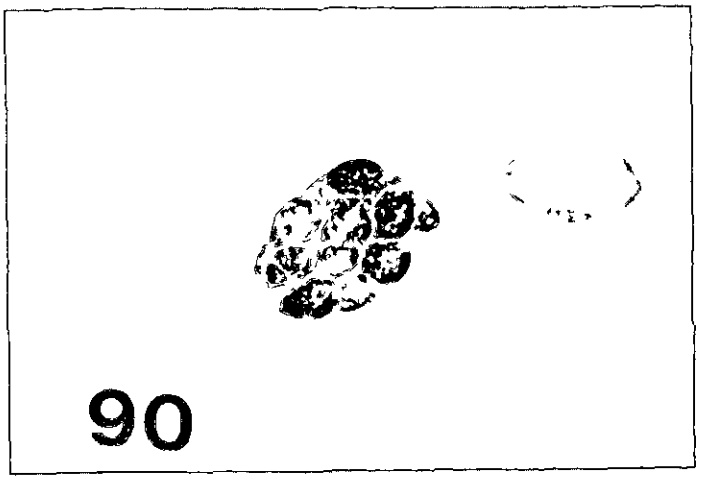


85


86


87


89


90

การจำแนกสาหร่ายพวก colonial Volvocales ที่ได้ศึกษา

1. โคโลนีมีเยื่อหุ้มเป็นสารเมือกวุ้น 2
1. โคโลนีไม่มีเยื่อหุ้ม เซลอยู่กันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น
มีแฟลกเจลลา 2 เส้น หันไปในทิศทางเดียวกัน ..... Pyrobotrys
2. เยื่อหุ้มโคโลนีแบน 3
2. เยื่อหุ้มโคโลนีกลม 4
3. เยื่อหุ้มมีด้านหน้าและด้านท้ายแตกต่างกัน
โคโลนีรูปเกือกม้าแบนมีส่วนยื่นจากด้านท้ายของโคโลนี 2–3 อัน... Platydorina
3. เยื่อหุ้มมีด้านหน้าและด้านท้ายเหมือนกัน ..... Gonium
4. โคโลนีประกอบด้วยเซลไม่เกิน 256 เซล 5
4. โคโลนีประกอบด้วยเซลมากกว่า 500 เซล ..... Volvox
5. ทุกเซลในโคโลนีมีขนาดเท่ากัน 6
5. ทุกเซลในโคโลนีมีขนาดไม่เท่ากัน .....Pleodorina
6. เซลรูปร่างกลม รูปไข่ หรือรูปน้ำเต้า อัดตัวกันแน่น.....Pandorina
7. เซลรูปร่างกลม ไม่อัดตัวกันแน่น แต่เรียงเป็นชั้น ๆ
ตามขวางของโคโลนี ..... Eudorina