บทปฏิบัติการที่ 3
ราและเห็ด (Fungi)

วัตถุประสงค์

1.ศึกษาลักษณะทางกายภาพของ Fungi ในดิวิชั่นต่าง ๆ เปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยา

2.ให้สังเกตความแตกต่างของโครงสร้างอวัยวะสืบพันธุ์ของราและเห็ด

3. ศึกษารูปร่างของไลเคนส์ชนิดต่าง ๆ

บทนำ

เห็ดรา (Fungi) จัดอยู่ใน 2 Division คือ Division Myxomycota มี vegetative plant ที่ไม่มี firm wall กินอาหารโดยวิธี ingestion เช่น Slime mold และ Division Eumycota เป็นสิ่งมีชีวิตพวก eucaryotic cell เช่นเดียวกับสาหร่าย แต่เห็ดราไม่มีคลอโรฟิลล์มีตั้งแต่ขนาดเล็กเซลล์เดียวไปจนถึงพวกที่เป็นเส้นใย (hypha) ผนังเซลล์เป็นสาร chitin หรือ cellulose หรือทั้งสองอย่างส่วนใหญ่ขยายพันธุ์ด้วยการสร้างสปอร์ Division นี้มี 5 Subdivision ได้แก่

1. Subdivision Mastigomycotina สิ่งมีชีวิตพวกนี้มีผนังเซลล์เป็น cellulose เช่น Water mould (*Saprolegnia* sp.)

2. Subdivision Zygomycotina มีทั้งที่เป็น saprophyte และ parasite ของพืชและสัตว์ ลักษณะเป็นเส้นใยที่ไม่มีผนังกั้น (non-septate hyphae) สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้างสปอร์ในอัปสปอร์ และแบบอาศัยเพศโดยการสร้าง zygospore ซึ่งทำหน้าที่เป็น resting spore ด้วย เช่น *Rhizopus* sp. *Mucor* sp.

3. Subdivision Ascomycotina มีทั้งที่เป็นเซลล์เดียวและเส้นใย พวกที่เป็นเส้นใยจะมีผนังกั้น (Septate hypha) สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศด้วยการสร้างสปอร์ สปอร์ที่ไม่มีอัปสปอร์เรียกว่า Conidium หรือโดยการแตกหน่อ (budding) เช่น yeast สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยสร้าง ascospore ในถุง ascus อาจเจริญอยู่ใน fruiting body ที่เรียกว่า ascocarp เช่น *Aspergillus* sp. *Erysiphe* sp. *Piziza* sp.เป็นต้น

4. Subdivision Basidiomycotina พืชพวกนี้มีเส้นใยและมีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศคล้ายกับ Ascomycetes ส่วนการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจะสร้าง basidiosporc บน basidium ซึ่งส่วนใหญ่เจริญอยู่ที่ fruiting body ที่เรียกว่า basidiocarp เช่น เห็ดฟาง เห็ดนางรม เป็นต้น แต่บางชนิดไม่สร้าง Basidiocarp เช่น ราสนิมบนใบข้าวสาลี (*Puccinia graminis*)

5. Subdivision Deuteromycotina รากลุ่มนี้เป็นพวกที่ยังไม่พบการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ลักษณะของเส้นใยและการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศคล้ายกับราใน Subdivision Ascomycotina เป็นส่วนใหญ่ เช่น *Penicillium* sp. *Aspergillus* sp.

ไลเคนส์ (Lichens) เป็นพืชชนิดหนึ่งที่เกิดขึ้นจากการอยู่ร่วมกันของสาหร่ายกับรา แบบพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน (symbiosis) ชนิด Mutualism ก่อให้เกิดเป็นพืชชนิดใหม่ขึ้นมีรูปร่าง 4 แบบได้แก่ แบบฝุ่น (crustose lichens) แบบแผ่น (foliose lichens) แบบเส้นสาย (fruticose lichens) และแบบผสม (squamulose lichens)

วัสดุและอุปกรณ์

1. กล้องจุลทรรศน์
2. แว่นขยาย หรือ dissecting microscope
3. สไลด์และแผ่นแก้วปิดใส
4. เข็มเขี่ยเชื้อและหลอดหยด
5. ตัวอย่างราจากขนมปังหรือซังข้าวโพด เห็ดชนิดต่าง ๆ ยีสต์ในสารละลายน้ำตาล 10 % ถุงเส้นใยเห็ด
6. สไลด์ตัวอย่างของราชนิดต่าง ๆ
7. แผนภาพแสดงวัฏจักรชีวิตของรา เห็ด ยีสต์และราเมือก
8. ไลเคนส์ชนิดต่าง ๆ

วิธีทำ

1. ศึกษาลักษณะเส้นใยและสีสปอร์ของราบนขนมปัง หรือซังข้าวโพด
2. ใช้ dropper ดูดสารละลายเลี้ยงยีสต์หนึ่งหยดวางลงบนสไลด์ ปิดแผ่นแก้ว ส่องดูด้วยกล้อง

จุลทรรศน์สังเกตลักษณะต่าง ๆ ของยีสต์และการเกิด budding

3. ศึกษาลักษณะ zygospore จากสไลด์ตัวอย่าง

4. ศึกษาลักษณะของ ascospore ascus และ ascocarp จากสไลด์ตัวอย่างและตัวอย่างสด

5. ศึกษาลักษณะเส้นใยของเห็ดจากถุงเชื้อเห็ด หรือเขี่ยจากก้านดอกเห็ดฟางและสังเกตส่วนต่าง ๆ ของ ดอกเห็ดซึ่งประกอบด้วย cap stalk และ valva วาดรูปและชี้บอกส่วนสำคัญ

6. ศึกษาวัฏจักรชีวิตของราและเห็ดจากแผ่นภาพ

7. ศึกษาตัวอย่างไลเคนส์แบบต่าง ๆ

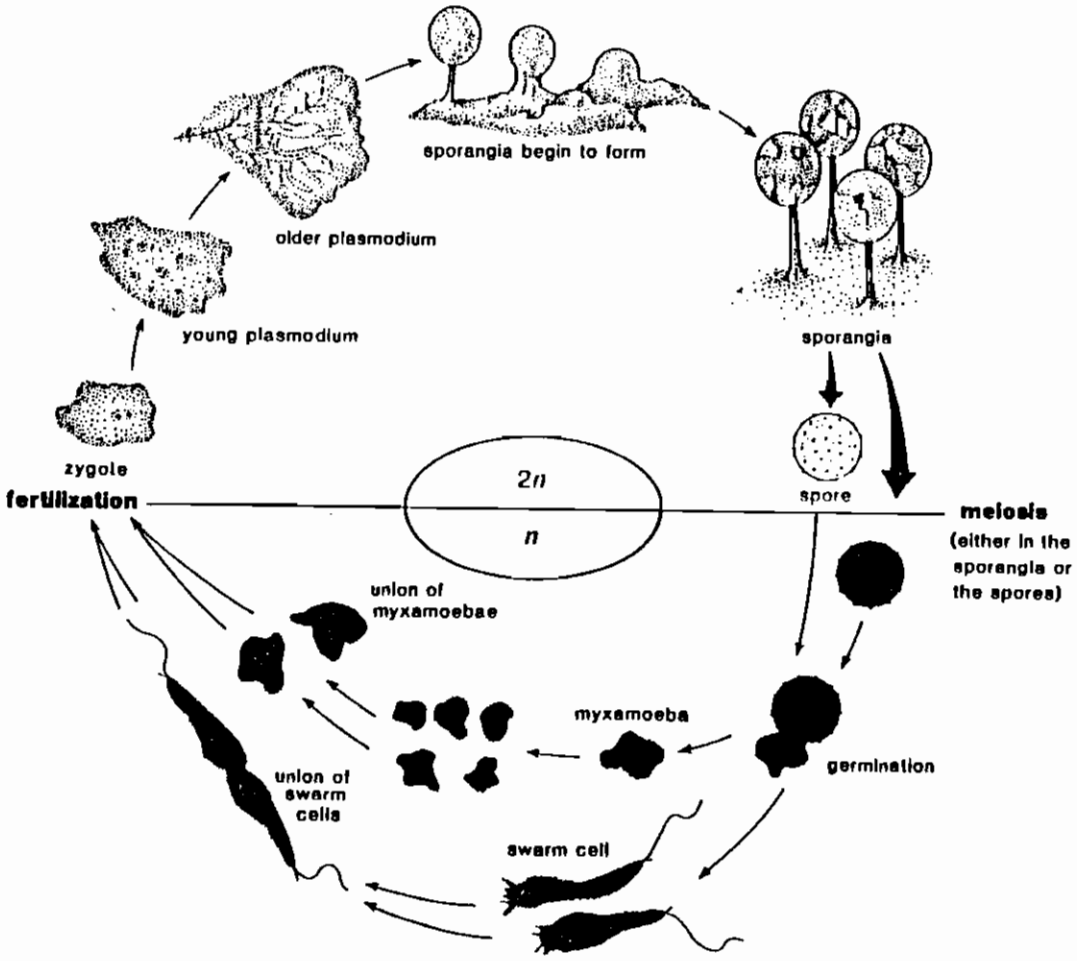
ผลการทดลอง

1. Subdivision Mastigomycotina

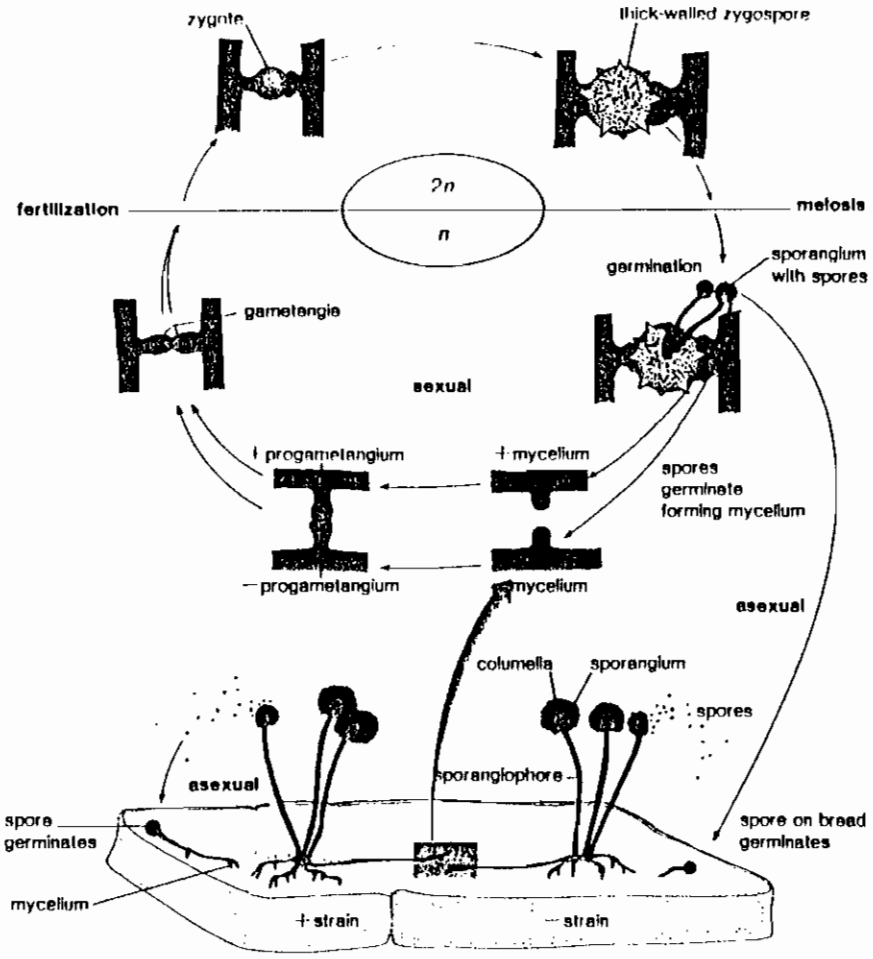
Water mould (*Seprolegnia* sp.) แสดงวิธีการสืบพันธุ์แบบ conjugation

2. Subdivision Zygomycotina

Mucor sp. แสดงการสืบพันธุ์แบบ conjugation ของ strain 2 สาย เกิด zygospore สีน้ำตาล ขนาดใหญ่



ภาพที่ 3. แสดงวัฏจักรชีวิตของราเมือก (จาก Stern,1987)



ภาพที่ 4. แสดงวัฏจักรชีวิตของ *Rhizopus* sp. (จาก Stern,1987)

3. Subdivision Ascomycotina

ให้นักศึกษาวาดรูปพร้อมลงรายการแสดงชื่อของโครงสร้าง ascocarp แบบต่าง ๆ

3.1 *Erysiphe* sp. สร้าง ascocarp แบบ.....

3.2 *Microspora* sp. สร้าง ascocarp แบบ.....

3.3 Lichenized fungi ที่ประกอบเป็นไลเคนส์ชนิด *Ocellularia eumorpha* สร้าง ascocarp แบบ.....

3.4 Lichenized fungi ที่ประกอบเป็นไลเคนส์ชนิด *Parmelia* sp. สร้าง ascocarp แบบ

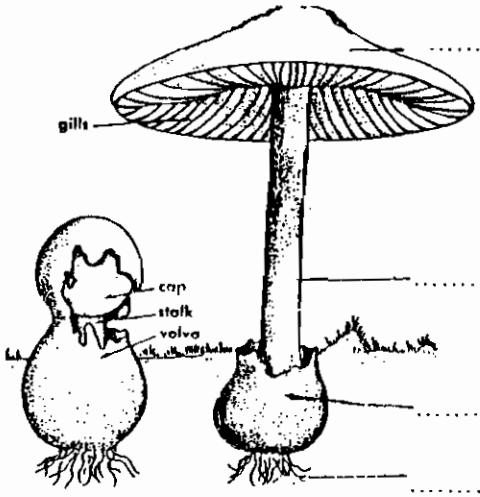
.....

3.5 ให้นักศึกษาวาดรูปแสดง ascospores ที่บรรจุอยู่ในถุง ascus ภายในชั้น hymenium ของ ascocarp ที่ถูกสร้างโดยราชนิด *Piziza* sp.

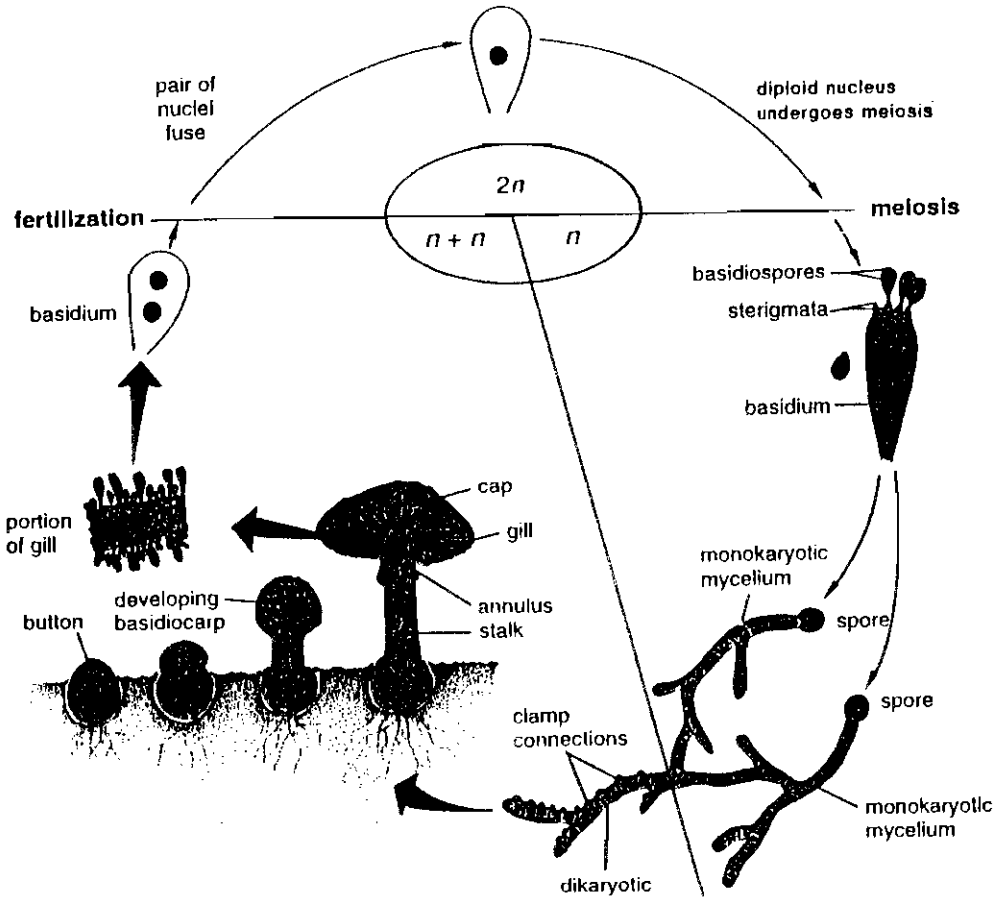
3.6 .ให้นักศึกษาวาดรูปแสดงโครงสร้างของยีสต์ (Yeasts) และแสดงลักษณะการแตกหน่อ (Budding) ของยีสต์

4. Subdivision Basidiomycotina

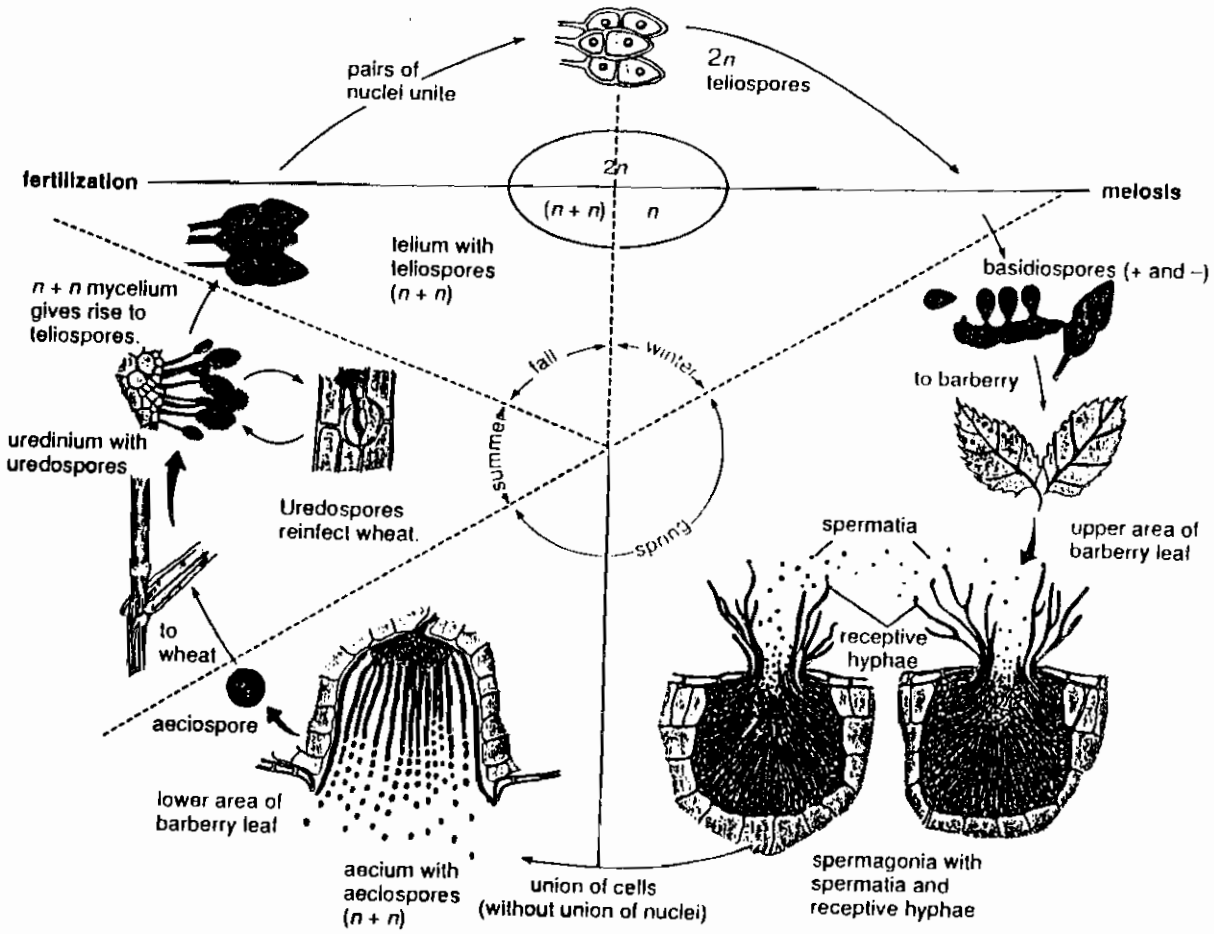
4.1 ให้นักศึกษาลงรายการ (Label) แสดงชื่อของเส้นใย และส่วนต่าง ๆ ของโครงสร้างเพื่อการสืบพันธุ์ (Fruiting body) ของเห็ด



4.2 .ให้ลงรายการ (Label) แสดงชื่อของโครงสร้างของ gill หรือ basidium ของเห็ด



ภาพที่ 5. วัฏจักรชีวิตของเห็ดใน Subdivision Basidiomycotina (จาก Stern,1987)



ภาพที่ 6. วัฏจักรชีวิตของ ราสนิมบนใบข้าวสาลีและบนใบ barberry (*Puccinia graminis*)

4.3 ศึกษาลักษณะ Basidiocarp ของราสนิมบนใบข้าวสาลีและบนใบ barberry (*Puccinia graminis*) ลงรายการจากภาพแสดงวัฏจักรชีวิต

5. Subdivision Deuteromycotina

แสดงการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการสร้าง conidia จากรา 2 ชนิด

5.1 *Penicillium* sp.

5.2 *Aspergillus* sp.

6. ไลเคนส์ (Lichens) : ศึกษาลักษณะโครงสร้างและรูปแบบของไลเคนชนิดต่าง ๆ ต่อไปนี้

6.1 Crustose lichens

6.2 Foliose lichens

6.3 Fruticose lichens

6.4 Squamalose lilchens

6.5 จากสไลด์ภาคตัดตามขวาง (X-section) ของไลเคนส์ชนิดแผ่นใบไม้ พบว่าไลเคนส์ประกอบด้วย.....มีลักษณะ.....เรียงตัวอยู่รอบนอกและ.....ชนิด.....เรียงตัวอยู่ภายใน

สรุปและวิจารณ์ผล

เปรียบเทียบลักษณะของเห็ดราชนิดต่าง ๆ (อธิบาย)

ชนิดของเห็ดรา	ลักษณะโครงสร้างสืบพันธุ์	
	อาศัยเพศ	ไม่อาศัยเพศ
Rhizopus sp.		
Yeast		
เห็ดฟาง		
Aspergillus sp.		
Piziza sp.		
Saprolegnia sp.		
Erysiphe sp.		
Microphaea sp.		
ไลเคนส์ชนิด *Ocellulria eumorpha*		
ไลเคนส์ ชนิด *Parmelia species*		

คำถาม

1. *Rhizopus* sp. จัดอยู่ใน subdivision .....

   เพราะ.....

2. Yeast จัดอยู่ใน subdivision.....

   เพราะ.....

3. เห็ดฟางจัดอยู่ใน subdivision .....

   เพราะ.....

4. *Aspergillus* sp. จัดอยู่ใน subdivision.....

   เพราะ.....

5. Zygospore ของเชื้อราสังเกตได้อย่างไร.....

   .....

6. จากการสังเกตในห้องปฏิบัติการ ascospore แตกต่างจาก basidiospore อย่างไร.....

   .....

7. ไลเคนส์เกิดจากการอยู่ร่วมกันแบบพึ่งอาศัย (Symbiosis) ของราที่จัดอยู่ใน subdivision.....

   .....และสาหร่ายที่จัดอยู่ใน division.....

   หรือ.....