

### บทปฏิบัติการที่ 3

#### พืชมีท่อลำเลียงไม่มีเมล็ดตอนที่ 2 (เฟิร์น)

#### (Seedless Vascular Plant II : fern)

#### วัตถุประสงค์

1. เพื่อให้ศึกษานอกลักษณะโครงสร้างภายนอกและภายในของอวัยวะที่ไม่เกี่ยวเพศของเฟิร์นได้
2. เพื่อให้ศึกษานอกลักษณะโครงสร้างของอวัยวะสร้างสปอร์และอวัยวะที่เกี่ยวข้องเพศของเฟิร์นได้
3. นักศึกษาสามารถจำแนกเฟิร์นตามลักษณะการสร้างสปอร์ได้
4. นักศึกษาสามารถอธิบายวงจรชีวิตของเฟิร์นได้

#### ลักษณะทั่วไปของเฟิร์น

เฟิร์นจัดอยู่ใน Division Pteridophyta เป็นพืชที่มีใบแบบ megaphyll เรียกว่า frond มีทั้งใบเดี่ยวใบประกอบ การเรียงเส้นใบแบบสองง่ามและแบบ ร่วงแห ลักษณะเป็นแบบ rhizome หรือ erect หรือ เจริญเป็นลำต้นขนาดใหญ่ ส่วนของลำต้นและใบจะมีขนชนิดต่างๆ ซึ่งนำมาจำแนกชนิดของเฟิร์นได้ โครงสร้างภายในของลำต้นเฟิร์นและส่วนของใบประกอบด้วยเนื้อเยื่อชนิดต่างๆ ซึ่งรวมทั้งเนื้อเยื่อลำเลียง ทำให้ลำต้นของเฟิร์นมีสตีลชนิดต่างๆ แต่ส่วนมากเป็น protostele หรือ siphonostele

#### อวัยวะที่เกี่ยวข้องกับเพศ (Reproductive organ)

เฟิร์นโดยทั่วไปสร้างสปอร์ชนิด Leptosporangium ที่มีสปอร์แบบ homospore ยกเว้น waterfern ที่มีสปอร์แบบ heterospore

สปอร์ของเฟิร์นอยู่ภายในอับสปอร์ที่มีผนังอับสปอร์ชั้นเดียวโดยมีส่วนผนังที่หนาเรียกว่า annulus และส่วนผนังที่บางเรียกว่า Lip cells (stomium) อับสปอร์จะมีก้านที่ติดอยู่บนส่วนของ receptacle ที่ติดกับใบ อับสปอร์เหล่านี้ จะเกิดเป็นกลุ่มเรียกว่า sorus โดยมีเยื่อบางๆ มาปิดหุ้มเรียกว่า indusium เฟิร์นบางชนิด sorus เกิดบริเวณขอบใบและมีขอบใบมาหุ้มปิด sorus เรียกว่า

false indusium เช่นเฟิร์นสกุลเฟิร์นก้านดำ *Adiantum* เฟิร์นบางชนิดไม่มี indusium มาปิดหุ้ม sorus เป็นต้น กลุ่มของ sorus จะเกิดบริเวณต่างๆ ของใบ เช่น เส้นกลางใบ ขอบใบ หรือทั่วทั้งแผ่นใบ โดยมีเฟิร์นบางชนิดใบจะแยกเป็นสองแบบ คือ ใบสร้าง sorus เรียกว่า fertile frond และใบที่ไม่สร้าง sorus เรียกว่า sterile frond การสร้างใบลักษณะนี้เรียกว่า dimorphism เช่น เฟิร์นในสกุลเฟิร์นชายผ้าสีดา *Platycterium*

สปอร์เกิดจากการแบ่งเซลล์แบบ meiosis ของเซลล์ ให้กำเนิดสปอร์ สปอร์งอกเป็นต้นแกมีโทไฟต์ระยะแรกมีลักษณะเป็นเส้นสายสีเขียวต่อมาเป็นแผ่นรูปหัวใจ เรียกว่า prothallus ซึ่งจะสร้าง archegonium ที่ใกล้รอยเว้า (notch) ส่วน antheridium จะอยู่ส่วนล่าง ของ prothallus แผ่น prothallus จะมี rhizoid ทำให้ยึดติดกับวัสดุที่ขึ้นอยู่

### การปฏิสนธิ (Fertilization)

prothallus ของเฟิร์นจะขึ้นในบริเวณที่ขึ้น ทำให้สเปิร์มใน antheridium ว่ายน้ำไปผสมกับเซลล์ไข่ภายใน archegonium ได้เป็นไซโกต และเจริญเป็นเอ็มบริโอต่อไป การปฏิสนธิของเฟิร์นจะเกิดขึ้นจาก สเปิร์มใน antheridium เคลื่อนที่ไปผสมกับ เซลล์ไข่ใน archegonium ที่อยู่ใน prothallus ต่างกัน เพราะการเจริญเติบโตสมบูรณ์เต็มที่ไม่พร้อมกันภายใน prothallus อันเดียวกัน

เมื่อเอ็มบริโอเจริญเป็นตัวอ่อนในระยะสปอโรไฟต์สปอโรไฟต์ระยะนี้จะอาศัยอาหารจากแผ่น Prothallus จนกว่าต้นสปอโรไฟต์จะเริ่มมีใบใหญ่ขึ้นและสร้างอาหารเองได้เพื่อสร้างส่วนรากแผ่น prothallus ค่อยสลายไป

### การจัดจำแนกเฟิร์น

เฟิร์นจัดจำแนกตามการสร้างอับสปอร์แบ่งได้เป็นสองกลุ่มคือ

1. เฟิร์นที่สร้างอับสปอร์แบบ eusporangium เป็นอับสปอร์ที่เกิดมาจากกลุ่มเซลล์ ผนังอับสปอร์จะหนามีเซลล์หลายชั้น ภายในอับสปอร์มีสปอร์จำนวนมาก เฟิร์นในกลุ่มนี้ได้แก่สกุล *Botrychium* , *Ophioglossum* , *Marattia* และ *Angiopteris* ซึ่งเป็นเฟิร์นที่วิวัฒนาการล่าช้า
2. เฟิร์นที่สร้างอับสปอร์แบบ Leptosporangium เป็นอับสปอร์ที่เกิดมาจากเซลล์เดียว ผนังอับสปอร์ชั้นเดียวมีสปอร์จำนวนน้อย เป็นเฟิร์นที่วิวัฒนาการก้าวหน้ามีจำนวนชนิดมากในปัจจุบันนี้ประมาณ 10,000 ชนิด

เฟิร์นโดยทั่วไปจะสร้างสปอร์แบบ homosporous แต่จะมีเฟิร์นบางสกุล เช่น *Marsilea* , *Azolla* , *Salvinia* เป็นเฟิร์นน้ำที่สร้างสปอร์แบบ heterosporous โดยมี microsporangium และ megasporangium เกิดอยู่ใน sporocarp ภายใน microsporangium จะมี microspore ที่จะงอกเป็น microgametophyte เพื่อผลิตสเปิร์มภายใน microspore และภายใน megasporangium จะมี megaspore ที่จะงอกเป็น female gametophyte ภายใน megaspore ซึ่งสปอร์ทั้งสองชนิดนี้จะงอกเป็นแกมีโทไฟต์ ภายในสปอร์ เรียกว่า endosporic gametophyte

การจัดจำแนกเฟิร์นตามการสร้างอับสปอร์และการสร้างสปอร์เป็นการจัดจำแนกเป็นกลุ่มใหญ่ๆ และสามารถบอกการวิวัฒนาการ ส่วนการจัดจำแนกเป็นวงศ์ (Family) สกุล (Genus) และเป็นชนิดเฟิร์นใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาหลายอย่างประกอบ เช่น ลักษณะการสร้างซอร์ส เป็นต้น

### อุปกรณ์

1. กล้องจุลทรรศน์
2. กล้องสเตอริโอซุม
3. สไลด์และกระจกปิด
4. ไบมีดและเข็มเย็บ
5. ตัวอย่างเฟิร์นชนิดต่างๆ ที่มี sorus
6. ตัวอย่างเฟิร์นในระยะแกมีโทไฟต์
7. สไลด์ถาวรของลำต้น sorus และระยะแกมีโทไฟต์ของเฟิร์น

### วิธีการ

1. ศึกษาต้นสปอโรไฟต์ของเฟิร์นชนิดต่างๆ จากตัวอย่างแห้ง หรือตัวอย่างสด พร้อมกับบันทึกว่าเป็น epiphyte , terrestrial fern , water fern ลักษณะของลำต้นเป็น rhizome , erect , truck or treefern เป็นใบเดี่ยว ใบประกอบ การเรียงเส้นใบ ใบแยกเป็น monophism หรือ dimorphism

2. ศึกษาลักษณะโครงสร้างของ sorus และ sporocarp โดยนำส่วนของ sorus และ sporocarp ของเฟิร์นไปวางบนสไลด์แล้วนำไปดูด้วยกล้องสเตอริโอซุมและไปเปรียบเทียบกับการเตรียมสไลด์แบบ wetmount ของ sorus เฟิร์นที่ดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ให้ลงรายการในภาพหรือวาดภาพโครงสร้างของ sorus ที่ดูจากกล้องและลงรายการ ดังนี้

- 2.1 indusium หรือ false indusium
- 2.2 receptacle
- 2.3 stalk , sporangium , annulus and stomium (lip cells)
- 2.4 spore พร้อมกับบอกจำนวนสปอร์ต่ออับสปอร์หนึ่งอันของเฟิร์นชนิดต่างๆ ที่นำมา

ศึกษา

3. ศึกษาระยะแกมีโทไฟต์ของเฟิร์นจากสไลด์ถาวรและดูจากตัวอย่างสด ให้สังเกตและลงรายการลักษณะดังนี้

3.1 ลักษณะที่เป็นเส้นสาย เป็นส่วนที่ออกมาจากสปอร์ระยะแรกโดยส่วนมากมักมีสปอร์ติดอยู่กับเส้นสาย ถ้านักศึกษาเพาะสปอร์เฟิร์นเองเมื่อดูด้วยตาเปล่าจะเห็นกลุ่มสีเขียวบนวัสดุเพาะสปอร์เฟิร์น

3.2 ระยะแกมีโทไฟต์ที่เป็นรูปหัวใจ เรียกว่า prothallus สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่ามีลักษณะเป็นแผ่นสีเขียว เมื่อนำมาเตรียมสไลด์แบบ wet mount และดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะเห็นเป็นรูปหัวใจมีส่วนที่เป็นรอยเว้าเรียกว่า notch ด้านล่างมี rhizoid ทำหน้าที่ยึดเกาะกับดินหรือวัสดุที่ขึ้นอยู่ บริเวณใกล้กับ notch จะมี archegonium ให้สังเกตเซลล์ห่อหุ้มและเซลล์ไข่ ส่วนด้านล่างของ prothallus จะมี antheridium ให้สังเกตเซลล์ห่อหุ้มและเซลล์กำเนิดสเปิร์มหรือสเปิร์ม

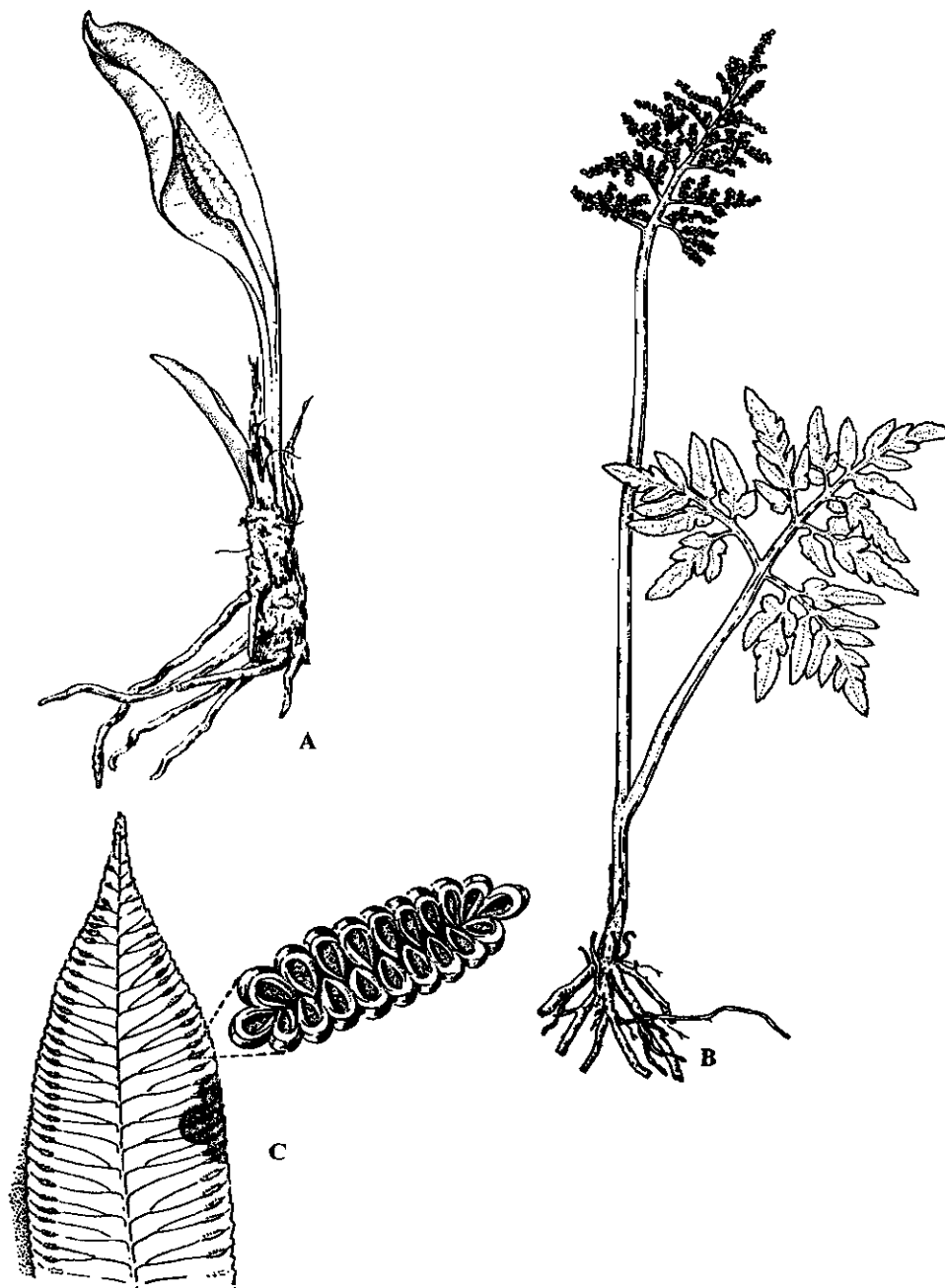
3.3 ระยะแกมีโทไฟต์ที่มีต้นอ่อนของสปอโรไฟต์ติดอยู่ หลังจากการปฏิสนธิเอ็มบริโอจะเจริญเป็นต้นอ่อนของสปอโรไฟต์ที่ระยะแรกต้องอาศัยอาหารจาก prothallus หรือระยะแกมีโทไฟต์ เพราะแกมีโทไฟต์เป็นแผ่นสีเขียวสร้างอาหารเองได้ สปอโรไฟต์อาศัยอาหารจากต้นแกมีโทไฟต์ไปจนกว่าจะมีใบใหญ่ขึ้นและมีรากส่วนแกมีโทไฟต์ก็ค่อย ๆ สลายไป

4. ให้นักศึกษาเพาะสปอร์ของเฟิร์นเพื่อดูวงจรชีวิตของเฟิร์น ซึ่งก่อนจะเพาะสปอร์เฟิร์นนักศึกษาต้องบันทึกรายละเอียดดังนี้

- 4.1 ชนิดของเฟิร์นหรือชื่อเฟิร์นและแหล่งที่ขึ้น
- 4.2 บันทึกจำนวนสปอร์ต่ออับสปอร์
- 4.3 เตรียมวัสดุเพาะ เช่น ดิน ขุยมะพร้าว อิฐทุบ แล้วนำมาฆ่าเชื้อโดยอบดิน เป็นต้น
- 4.4 นำมาใส่ในถ้วย หรือ กระถางที่ฆ่าเชื้อหรือล้างให้สะอาด แล้วเติมวัสดุเพาะลงไป ประมาณ  $\frac{1}{2}$  -  $\frac{3}{4}$  ถ้วย ใส่น้ำที่สะอาดให้พอชุ่ม แล้วโรยผงสปอร์ ให้กระจายทั่ววัสดุเพาะไปเก็บ

ไว้ในตู้กระจกหรือใช้พลาสติกหุ้มให้มิดไปเก็บไว้ในที่มีแสงหรือในความเข้มข้นของแสงระดับต่างๆ  
หรือเก็บไว้ในที่มีดซึ่งจะขึ้นกับชนิดเห็ด

4.5 ประมาณ 1 สัปดาห์ให้สังเกตว่าสปอร์ที่งอกหรือไม่ ถ้างอกก็นำไปศึกษาหรือบันทึก  
รายละเอียดดังที่กล่าวมาข้างต้น

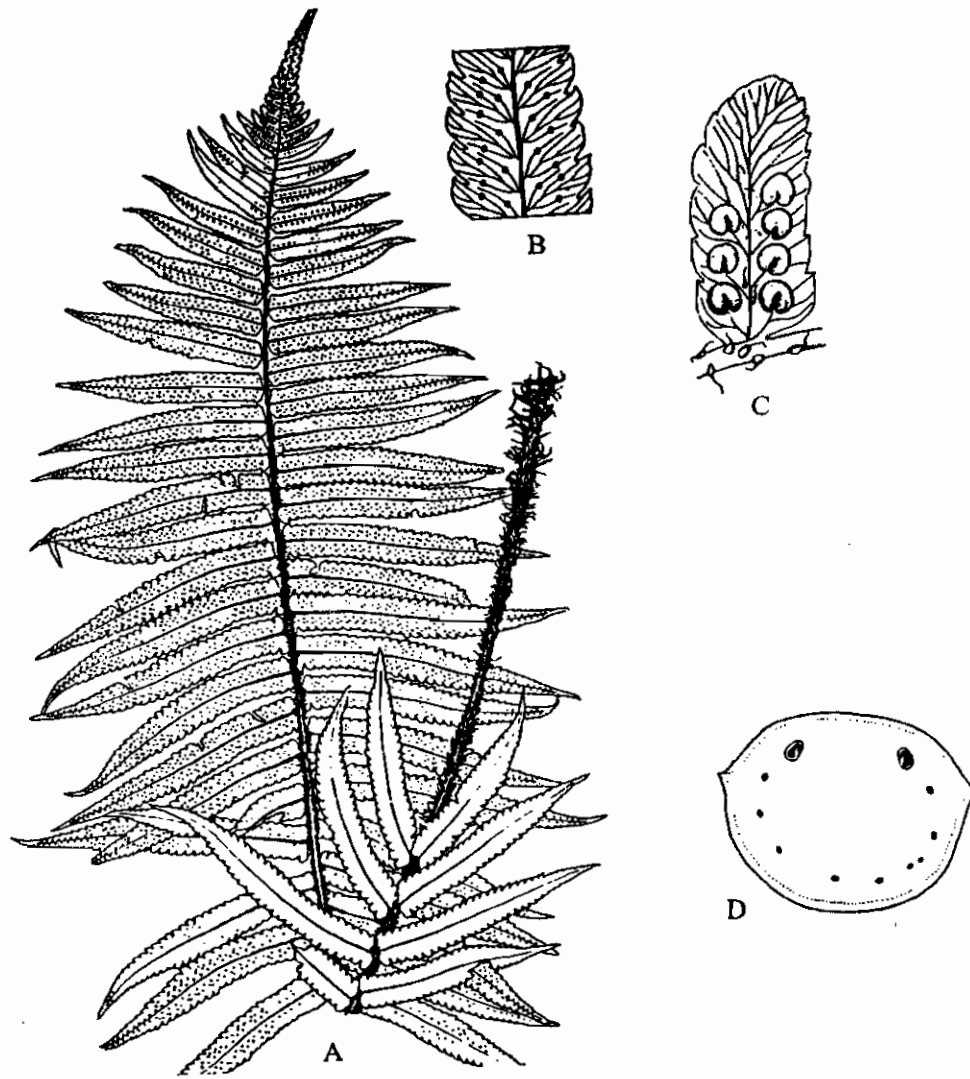


รูป 3-1 เฟิร์นที่สร้างสปอร์แบบ Eusporangiate

A *ophioglossum* sp.

B *Botrychium* sp.

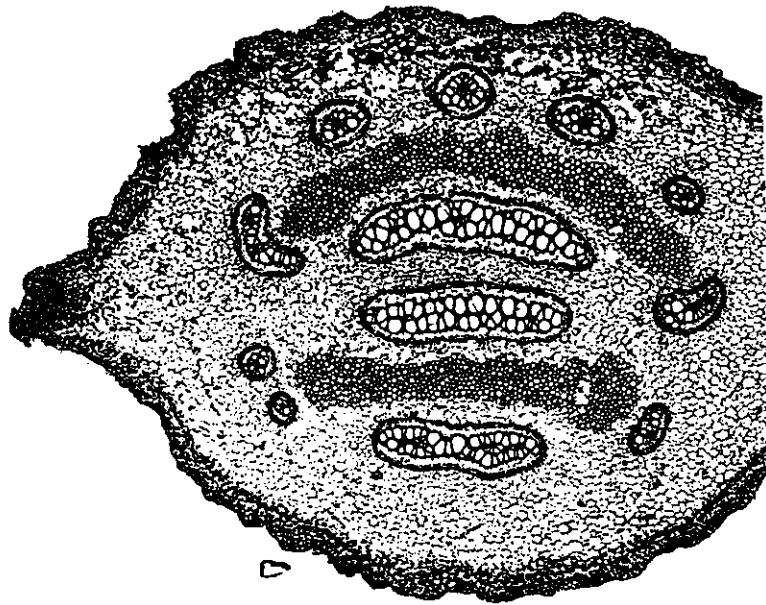
C ใบและโครงสร้างอับสปอร์ของ *Angiopteris* sp.



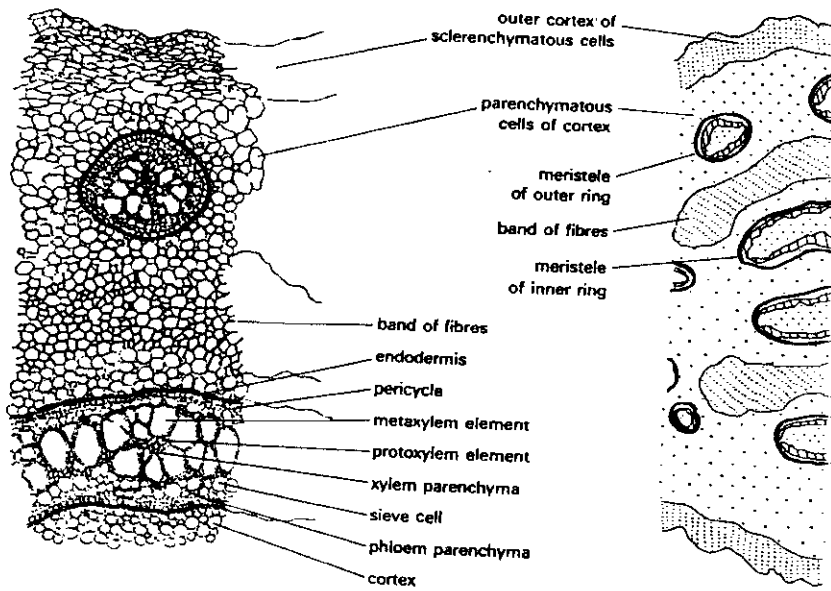
รูป 3-2 เฟิร์นที่สร้างสปอร์แบบ Leptosporangiate

A ใบประกอบแบบขนนกที่สร้างซอรัส B-C โครงสร้างซอรัส

D กลุ่มมัดท่อลำเลียงที่ก้านใบ

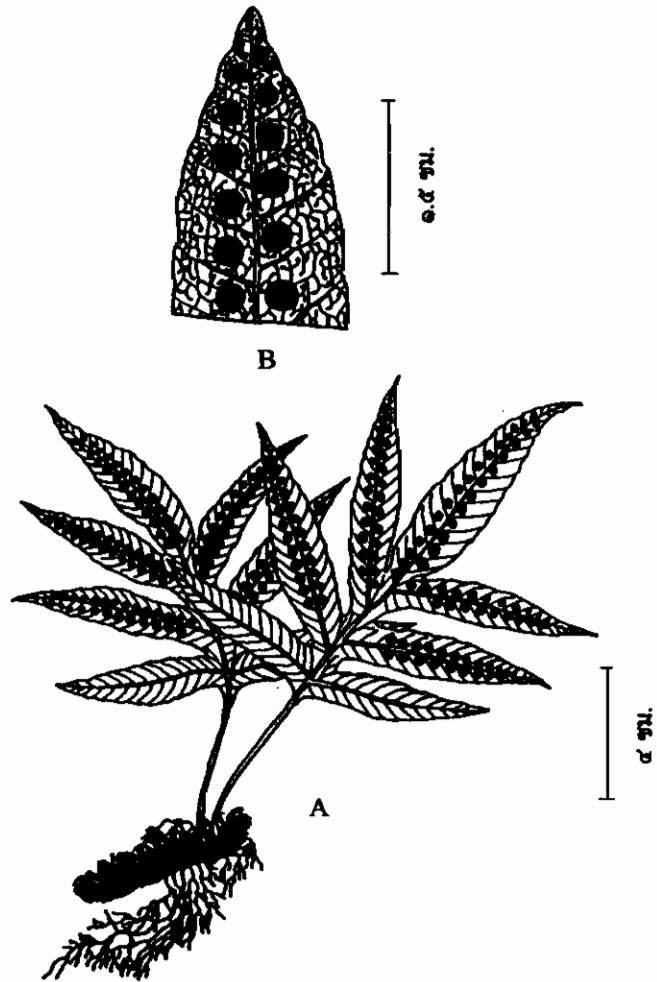


Rhizome, TS, *Pteridium*. Mag. x25

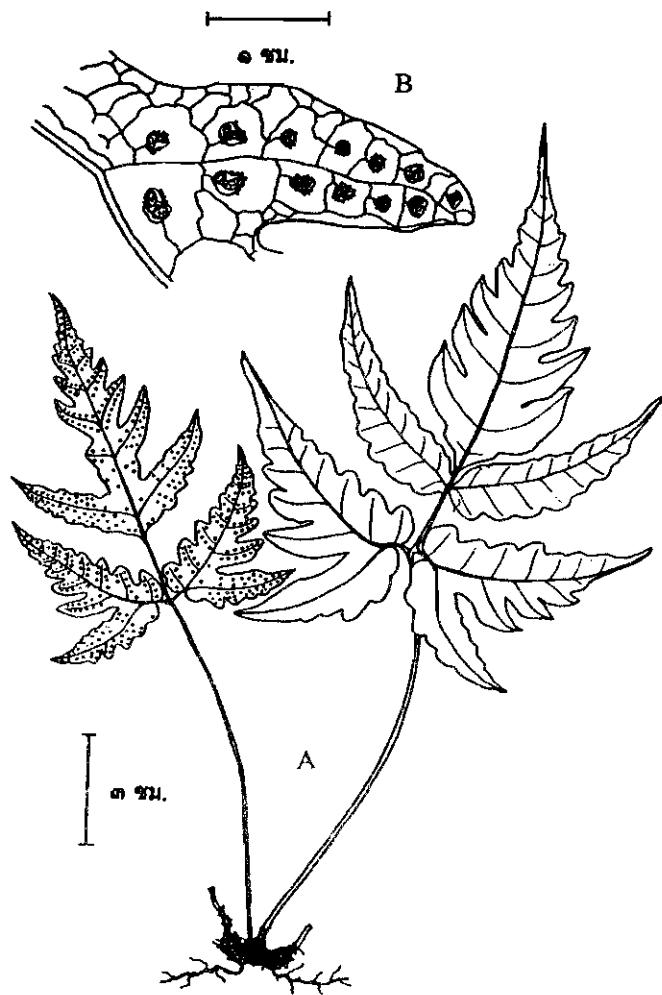


รูป 3-3 โครงสร้างภายในลำต้น *Pterium* sp.





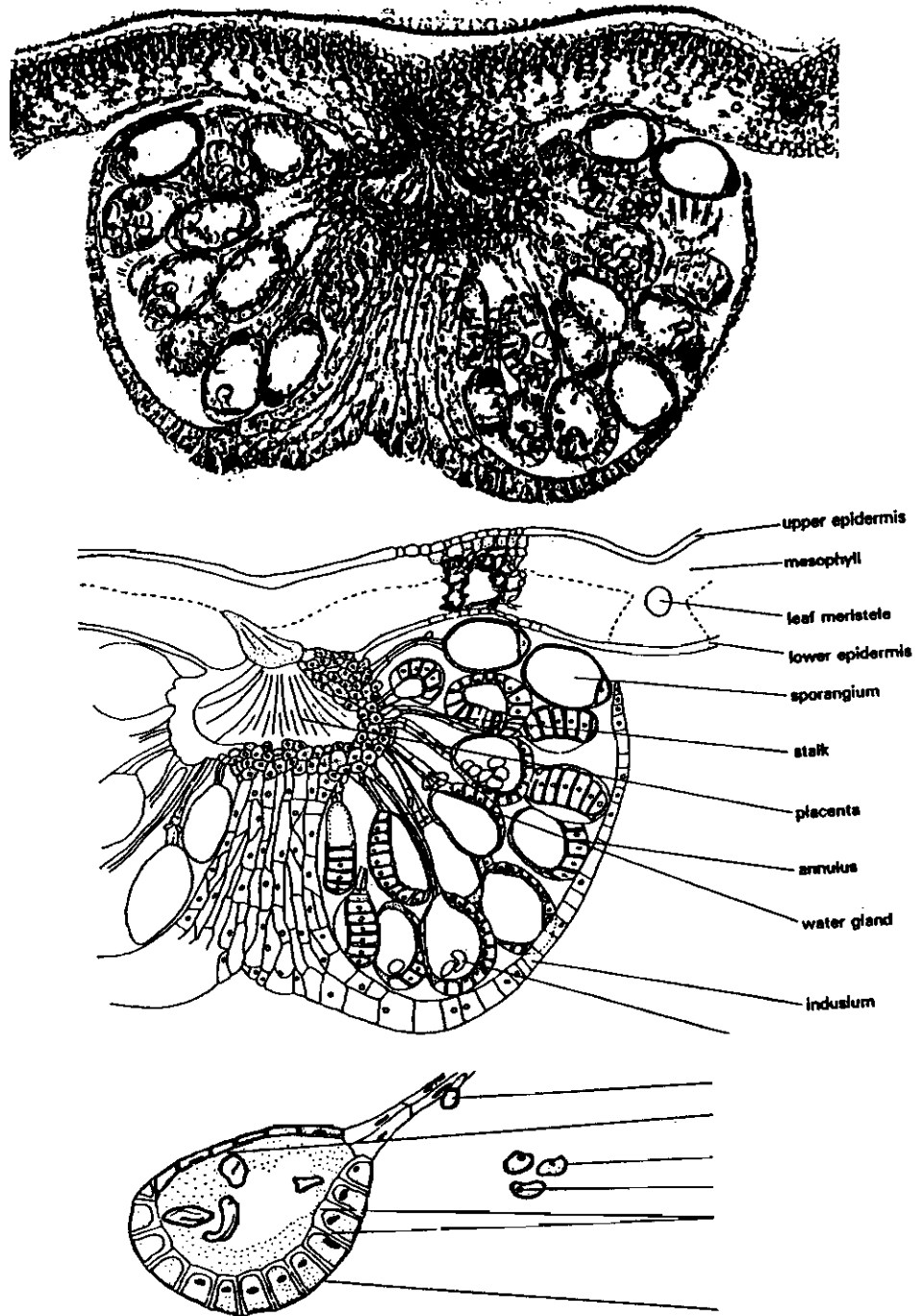
รูป 3-4 เฟิร์นที่ใบไม่แยกสร้างซอรัส (monophism)  
 A ลำต้นและใบ                      B เส้นใบและซอรัส



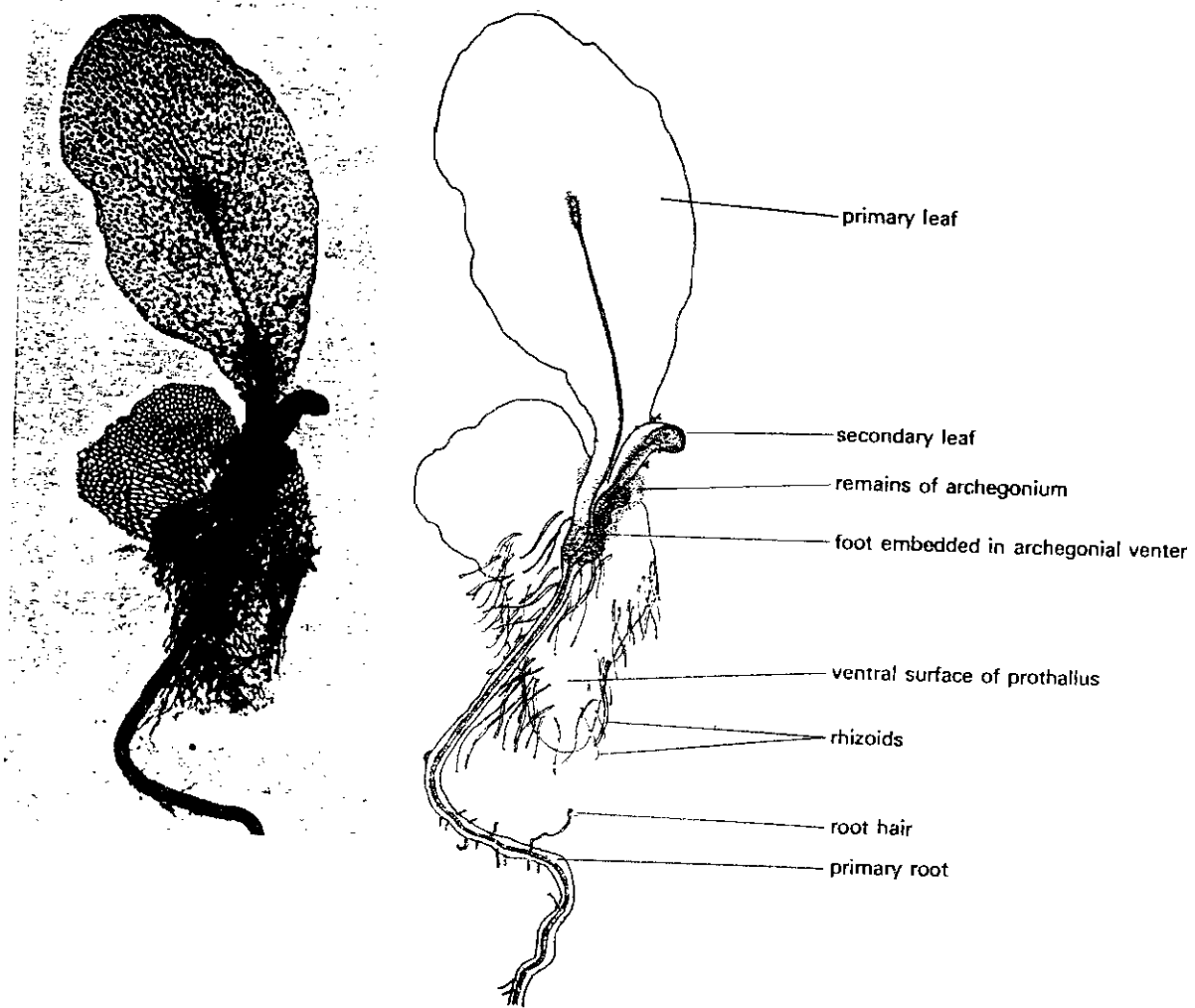
รูป 3-5 เฟิร์นที่ใบแตกสร้างซอรัส

A ลำต้นและใบ

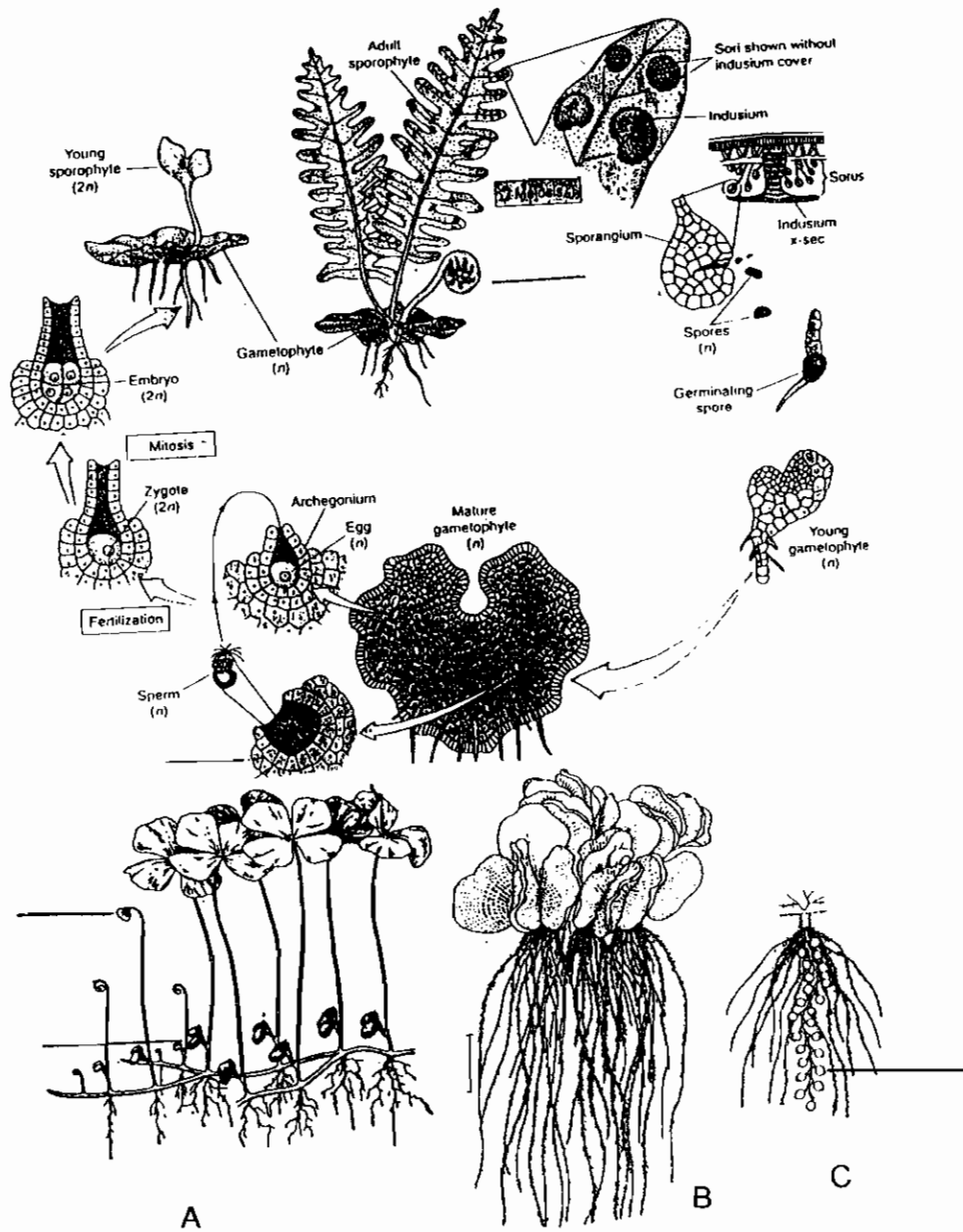
B ใบและซอรัส



รูป 3-6 โครงสร้างกลุ่มอับสปอร์ (ซอรัส)



รูป 3-7 ต้นแกมีโทไฟต์และต้นอ่อนสปอโรไฟต์เฟิร์นกลุ่ม Homospore



A ผักแว่น B จอกหูหนู C \_\_\_\_\_

รูป 3-8 บน วงชีวิตของเฟิร์นกลุ่ม Homospore  
 ล่าง เฟิร์นน้ำที่เป็นเฟิร์นกลุ่ม Heterospore

### คำถาม

1. เฟิร์นโบราณหรือเฟิร์นที่วิวัฒนาการด้าหลังมีลักษณะอย่างไรบ้าง
2. ให้เปรียบเทียบเฟิร์นบกกับเฟิร์นน้ำมาเป็นข้อๆ ในส่วนของการสร้างสปอร์และการเจริญ

### เป็นแกมีโทไฟต์

3. ให้อธิบายความหมายของคำต่อไปนี้
  - 3.1 dimorphism
  - 3.2 endosporic gametophyte
  - 3.3 walking fern