

บทปฎิบัติการที่ 4

ราเมือก (Slime Mold)

ราเมือก (slime mold) เป็นเชื้อราชนิดหนึ่งที่มีลักษณะหัวไปก้ากีระหว่างสัตว์และพืช เชื้อราชนิดนี้มีเซลร่างกายคล้ายตัวเมีบा ไม่มีผนังเซลห่อหุ้มโครงร่างภายในมีแต่เซลเมมเบรนเจิงทำให้รูปร่างของเซลไม่คงที่แน่นอน สามารถเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อมที่เชื้อราชนิดนี้เจริญเติบโต การดำรงชีวิตหัวไปมีเซลร่างกายอยู่รวมกันเป็นก้อน *plasmodium* ในสภาพแวดล้อมที่ผิดปกติราเมือกพยายามสร้างสปอร์เพื่อใช้เป็นหน่วยขยายพันธุ์ และสปอร์ที่สร้างขึ้นนี้ถูกห่อหุ้มด้วยผนังที่มีสารพวกเซลลูโลสรวมอยู่ด้วย ซึ่งอาจมีโครงสร้างพิเศษห่อหุ้มสปอร์อีกด้วย

ราเมือกถูกจัดไว้ใน Division Myomycota มีทั้งหมด 3 ชั้น คือ

- ชั้น Acrasiomycetes (cellular slime mold)
- ชั้น Myxomycetes (true slime mold)
- ชั้น Plasmodiophoromycetes (endoparasitic slime mold)

ชั้น Acrasiomycetes เป็นราเมือกที่โครงสร้างของเซลร่างกาย มีลักษณะเป็นอมีบ้าเซลเดียวอาศัยแบคทีเรียเป็นอาหาร และมีการเพิ่มปริมาณตัวเองโดยกระบวนการ fission เมื่อได้จำนวนเซลมากขึ้นจะมีการจับตัวรวมกันเป็นกลุ่มทำให้เกิดเป็นจุดศูนย์กลางที่ดึงดูดให้มีบ้าเซลตัวอื่นเคลื่อนที่เข้าสู่จุดศูนย์กลางรวมกันเป็นก้อนใหญ่ ภายในมีเซลของ *myxamoeba* อยู่เต็ม เรียกว่า *pseudoplasmodium* ราเมือกในชั้นนี้บางชนิดเมื่อสร้างเป็น *pseudoplasmodium* แล้วก็จะพัฒนาการ (differentiates) ไปเป็นโครงสร้างพิเศษที่เรียกว่า *sorocarp* ซึ่งลักษณะเป็นก้านยาวมีกลุ่มของสปอร์เกิดขึ้นที่ปลายและมีหยอดเมือกปักคลุมอยู่ สปอร์ส่วนใหญ่มีผนังล้อมรอบยกเว้น 2-3 ชนิดเท่านั้นที่สปอร์ไม่มีผนังล้อมรอบเรียกว่า *pseudospores*

ชั้น Myxomycetes ราเมือกในชั้นนี้ถือได้ว่าเป็นราเมือกที่แท้จริง โดยมีระยะของโครงสร้างเซลร่างกายเป็นก้อน *plasmodium* ซึ่งเป็นกลุ่มของprotoplasm ที่มีนิวเคลียสอยู่หลายอัน แต่ไม่มีผนังเซลเคลื่อนที่โดยการคลาน ให้ หรือแบบอมีบ้า กินแบคทีเรียและสปอร์ของเหตุการณ์เปลี่ยนแปลงของ *plasmodium* สปอร์ที่เกิดสามารถออกผ่านรอยแยกหรือรูเปิดของผนังเซลได้เป็น *swarm cell* เคลื่อนที่ได้โดยทางชนิด whiplash 2 เส้นที่ติดอยู่ด้านหน้า เซลที่เคลื่อนที่ได้เหล่านี้ทำ

หน้าที่เป็นเซลล์สืบพันธุ์ และเข้าจับคู่กันอีกรึหนึ่งเป็นการสืบพันธุ์แบบมีเพศ บางครั้งพบว่า swarm cell จะทิ้งทางก่อนเพื่อแบ่งเซลล์ให้ได้จำนวนมาก ต่อจากนั้นแต่ละตัวจะจับคู่กันภายหลัง ใช้โภตที่เกิดขึ้นจะมีการแบ่งนิวเคลียสได้ดิพโลยนิวเคลียสหลายอันและกล้ายเป็น plasmodium เมื่อ plasmodium มีอายุมากจะค่อยๆ หนาขึ้นคล้ายเป็นโครงสร้างพิเศษที่ภายในมีสปอร์บรรจุอยู่ โดยสปอร์เกิดมาจากดิพโลยนิวเคลียสมีการแบ่งตัวแบบไม่ออซิส ลดจำนวนโครงรูปโดยกล้ายเป็นเซลล์พโลยนิวคลีโอแล้วเซลล์พโลยนิวคลีโอพัฒนาการไปเป็นสปอร์ต่อไป

สำหรับก้อน plasmodium ของราเมือกในชั้นนี้เท่าที่พบมีอยู่ 3 ชนิด คือ

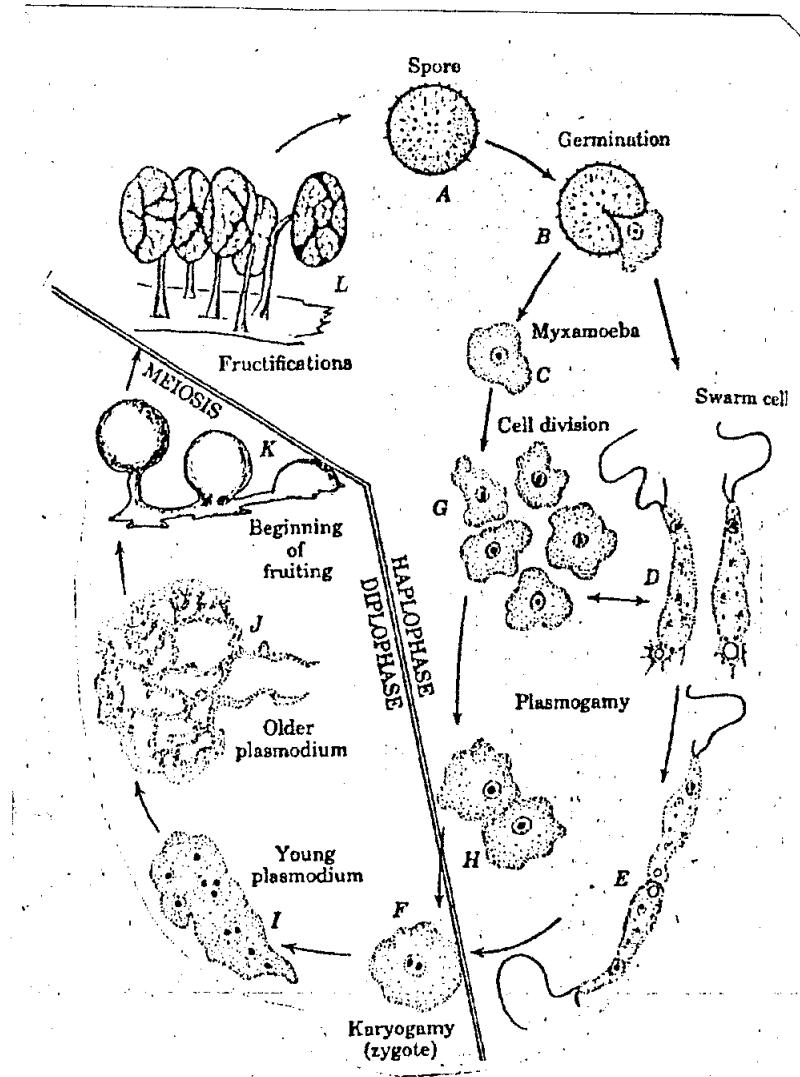
1. **phaneroplasmodium** (*phaneros* = *visible* + *plasmodium*) ลักษณะเป็นก้อนใหญ่แบบ แตกกิ่งก้านสาขาคล้ายร่างแห่กระจายบน substrate อย่างกว้างขวางมองเห็นชัดเจน มี gel-like envelop หนา ภายในโปรโตปลาสซึมในรูดเร็ว ลักษณะหยาบและขาว แยกออกจากพากอื่นได้ชัดเจน เช่น plasmodium ของ *Physarum polycepharum* (ภาพที่ 1)

2. **aphaneroplasmodium** (*aphaneros* = *invisible* + *plasmodium*) plasmodium ชนิดนี้เมื่อเริ่มต้นสร้างใหม่ๆ มีลักษณะเป็นก้อนโปรโตปลาสซึม เมื่อแก่จะค่อยๆ ขยายออกเป็นตาข่ายแตกแขนงได้อย่างอิสระ ทำให้เห็นว่ามีลักษณะคล้ายเส้นใยบนบางลงเฉียบ gel-like envelope บาง มีการไหลของโปรโตปลาสซึมเช่นเดียวกับชนิดแรก มากฝังลึกลงใน substrate มองเห็นได้ยาก ตัวอย่างของราเมือกที่สร้าง plasmodium แบบนี้ คือ *Stemonitis* sp.

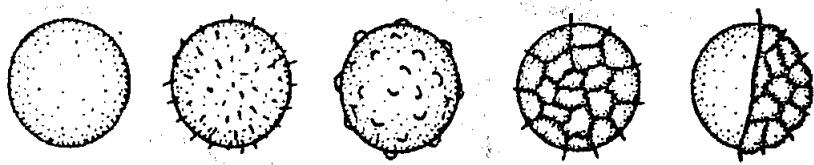
3. **protoplasmodium** (*protos* = *first* + *plasmodium*) เป็น plasmodium ขนาดเล็กมากต้องดูดด้วยกล้องจุลทรรศน์ ลักษณะเป็นเนื้อดีเยิกันตลอด พากนี้เมื่อเริ่มเกิดจะไม่แผ่กระจายเป็นตาข่าย ภายในมีนิวเคลียสประมาณ 2-3 อัน และไม่พบว่าโปรโตปลาสซึมมีการไหลอย่างรวดเร็ว การเจริญเติบโตเป็นไปช้าๆ เมื่อแก่เปลี่ยนเป็นโครงสร้างพิเศคล้ายๆ sporangium เช่น *plasmodium* ของ *Echinostelium* sp.

อนุกรมวิธาน

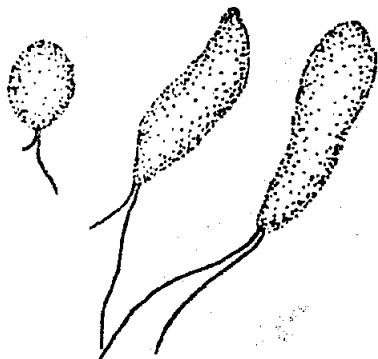
การจัดจำแนกราเมือกในชั้น Myxomycetes นี้ อาศัยลักษณะโครงสร้างพิเศษ (fruiting body) capillitium และสปอร์เป็นสำคัญ โครงสร้างพิเศษของราเมือกในชั้นนี้ทั่วไปมีอยู่ 3 แบบ (ภาพที่ 2) คือ



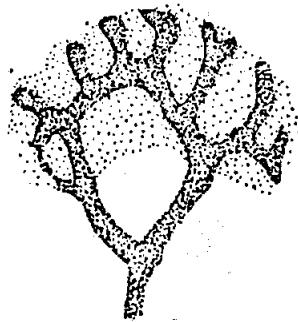
ภาพที่ 1 แสดงวงจรชีวิตของ *Physarum polycephalum*



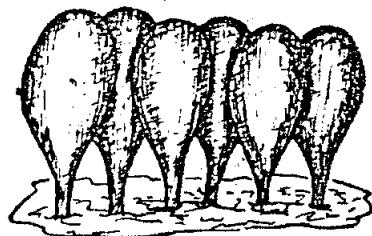
สปอร์แบบต่าง ๆ ของราเมือก



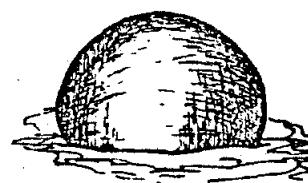
สปอร์เคลื่อนที่ (swarm cell)



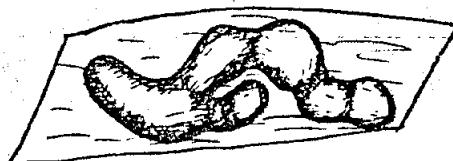
ก้อนพลาสโนเดียม (plasmodium)



ถุงหุ้มสปอร์ (sporangium)



ເອທາເລີຍມ (aethalium)



พลาสโนติໂຄກນ (plasmodiocarp)

ภาพที่ 2 แสดงโครงสร้างพิเศษแบบต่าง ๆ

1. **sporangium** เป็นโครงสร้างพิเศษที่พบมากที่สุดและเกิดบน substrate ขนาดต่ำของเห็นได้ด้วยตาเปล่า ลักษณะเป็นก้านยาวหรือไม่มีก้านแล้วแต่ชนิดของราเมี๊อค บริเวณปลายขยายออกเป็นถุงน้ำ peridium ของมันเองโดยเฉพาะ ส่วนมากทรงฐานที่ยึดกับ substrate จะบางใสคล้ายกระดาษแก้ว ตัวอย่างของราเมี๊อคที่สร้าง sporangium คือ *Hemitrichia elavata*, *Physarum globuliferum*, *Physarum viride*, *Stemonitis* sp., *Comatricha* sp. และ *Arcyria* sp.

2. **aethalium** พากนี้มีขนาดโตกว่าพากแรก รูปร่างเป็นก้อนกลม ส่วนมากรูปร่างเป็น cushion shaped เกิดเกาะติดกันเป็นกระจุก พากนี้ไม่แยกตัวเดียว ๆ เพราะไม่มีก้าน ตัวอย่างราเมี๊อคที่สร้างโครงสร้างพิเศษเป็น aethalium คือ *Lycogala epidendrum* และ *Tubifera ferruginosa*

3. **plasmodiocarp** เกิดมาจากการ plasmodium คล้าย ๆ กับ sporangium แต่ไม่มีก้านและสร้างเป็นร่างแท้เท kak กับก้านสาขาได้อิสระ จึงทำให้มีรูปร่างไม่แน่นอน นี่ peridium ห่อหุ้ม ตัวอย่าง เช่น *Hemitrichia serpula*

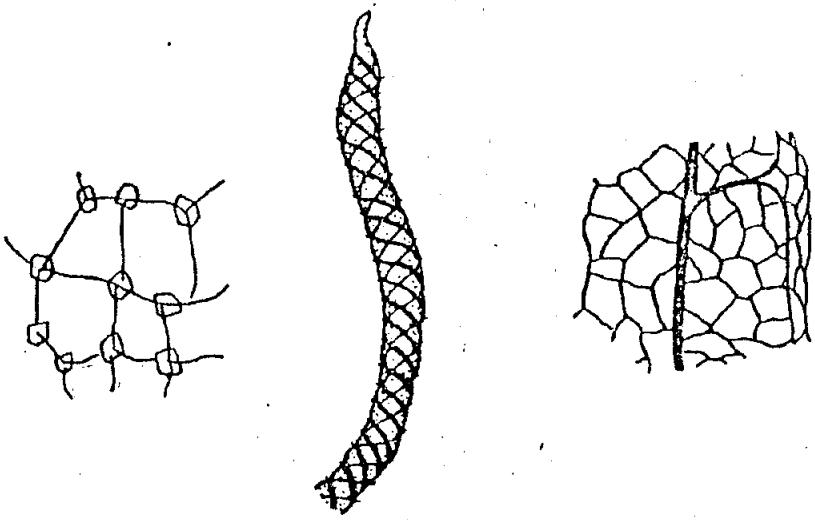
ภายในโครงสร้างพิเศษทั้งหมดที่กล่าวมานี้ภายในมี capillitium ซึ่งทำหน้าที่ในการช่วยปล่อยสปอร์ให้เป็นไปที่ละน้อยไม่หลุดออกไปพร้อมกันหมด สปอร์ของราเมี๊อคส่วนใหญ่แพร่โดยลมและฝน capillitium เป็นกลุ่มของ non living hair like ซึ่งมักเกิดเป็นตาข่ายติดกับ columella หรือ peridium ของโครงสร้างพิเศษมีด้วยกัน 4 แบบ คือ

1. **Hollow tube with lime node** ลักษณะเป็นท่อยาวมีส่วนบวมและพองออกโดยส่วนนี้มีการสะสมของสารพากแคลเซียมคาร์บอเนท (CaCO_3) เช่น capillitium ของ *Physarum* sp. และ *Fuligo* sp.

2. **Smooth tube without lime capillitium** ชนิดนี้ลักษณะเป็นท่อยาวเรียบไม่มีส่วนบวมหรือพองออก และไม่มีการสะสมสารแคลเซียมคาร์บอเนท ตัวอย่าง capillitium ชนิดนี้พบได้บนราเมี๊อคพาก *Stemonitis* sp. และ *Diachea* sp.

3. **Tube with cogs or spines** ลักษณะ capillitium ชนิดนี้เป็นท่อยาวมีหนามเกิดขึ้นบนท่อ พนได้กับราเมี๊อคพาก *Arcyria* sp.

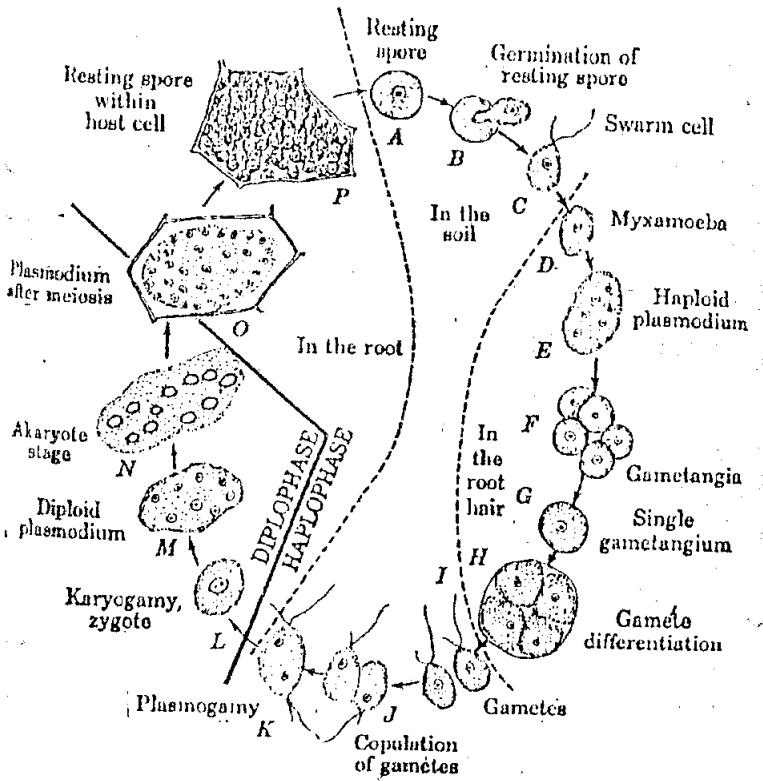
4. **Tube with spiral thickening** ราเมี๊อคจะสร้าง capillitium เป็นท่อยาวและมีส่วนหนาพันกันเป็นเกลียว เช่น *Trichia* sp. และ *Hemitrichia* sp. เป็นต้น



ภาพแสดง capillitium 3 ชนิด

ชั้น Plasmodiophoromycetes การเจริญเติบโตตลอดช่วงชีวิตของราเมือกในชั้นนี้จำเป็นต้องอาศัยแหล่งอาศัยจากสิ่งมีชีวิตอื่น (host) อาจเป็นพืชชั้นสูง สาหร่ายบางชนิด หรือจุลินทรีย์ชนิดอื่น ราเมือกสกุล *Plasmodiophora* sp. และ *Spongospora* sp. ทำให้พืชชั้นสูงเกิดอาการ hypertrophy และ hyperplasia สกุล *Ligniera* sp., *Tetramyxa* sp., *Sorodiscus* sp. และ *Sorosphaera* sp. เป็นปรสิตของพืชน้ำ vascular plant และสาหร่ายในสกุล *Chara* sp. ส่วนสกุล *Woronin* sp. และ *Octomyca* sp. เป็นปรสิตของราบ้านบางชนิดและสาหร่ายน้ำสกุล *Voucheria* sp.

เซลล์ร่างกายของราเมือกในชั้นนี้เป็น plasmodium ที่ต้องเจริญเติบโตภายในเซลล์ของสิ่งที่มีชีวิตที่มันเข้าอาศัยอยู่แล้วสร้างเป็นสปอร์ที่พักตัว (resting spores) มีผนังหนาเมื่ออายุแก่ขึ้น ไม่มีการสร้างโครงสร้างพิเศษ ราเมือกในชั้นนี้บางสกุลสร้าง resting spores และเกะกะกลุ่มรวมกัน เรียกว่า spore ball resting spores ที่มีผนังหนานี้เมื่อองค์จะให้ swarm cell ที่เคลื่อนที่ได้โดยทางสองเส้นแบบ whiplash และมีขนาดไม่เท่ากัน ลักษณะเด่นที่ราเมือกชั้นนี้แตกต่างจากราชนิดอื่น ๆ เมื่อเจริญเติบโตทุกระยะมักมีการแบ่งนิวเคลียสอยู่เสมอ และเมื่อถึงระยะหนึ่ง nuclear body จะหายไป เรียกระยะนี้ว่า Akaryotic phase



ภาพแสดงวงจรชีวิตของราเมือก *Plasmodiophora brassicae*

วิธีปฏิบัติการ

1. เก็บตัวอย่างตินหรือใบพืชที่ผุพังจากแหล่งต่างๆ มาทำ suspension ด้วยน้ำกลันที่มีเชื้อและลากลงบนอาหาร glucose peptone หรือ hay infusion agar ด้วย loop แล้วนำ suspension ของเชื้อ *Escherichia coli* ลากตัดไปบนเส้นเดิม บ่มที่อุณหภูมิห้อง 2-3 วัน รอตรวจสอด pseudoplasmodium หรือ sorocarps ต่อไป จะบันทึกรายละเอียดที่ได้
2. แยกรามีอ กพว ก cellular ที่ได้ให้บริสุทธิ์ด้วยการใช้เย็บเยี่ยมเชื้อหรือ loop ลงไฟฟ้า เชื้อแตะสปอร์ที่แก่นำไปลากลงบนจานเลี้ยงเชื้อใหม่ที่มีอาหาร glucose peptone หรือ hay infusion agar บรรจุอยู่ เดิม suspension ของแบคทีเรีย *Escherichia coli* ลงบนจานเพาะเชื้อตั้งกล่าว 1-2 หยด เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตลักษณะของกลุ่มเซลล์ที่ได้

3. ศึกษาโครงสร้างพิเศษ สปอร์และ capillitium ของ *Lycogala* sp. จากตัวอย่างของจริงด้วยการผ่าตามขวางแล้วตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ บันทึกรายละเอียดต่าง ๆ ด้วยการวาดรูประ粗กอน

4. ศึกษาลักษณะของ sporangium สปอร์และ capillitium จากราเมือกสกุล *Hemitrichia* sp. และ *Arcynia* sp. จากตัวอย่างสไลด์ถาวร วาดภาพพร้อมบรรยายให้ชัดเจน

5. สังเกตลักษณะ hypothallus และ sporangium ของราเมือกในสกุล *Stemonitis* sp. ที่ขึ้นบนห่อนไม้ตามธรรมชาติตัวเปล่า ว่าดรูปแสดงลักษณะที่แท้จริง

6. แยก sporangium จากกลุ่มของราเมือกในข้อ 5 ให้เหลือเพียงอันเดียว mount ลงใน lactophenol และศึกษาลักษณะของ stalk, columella capillitium และสปอร์ภัยในกล้องจุลทรรศน์ ว่าดรูปแสดงรายละเอียดให้ถูกต้อง

7. ศึกษาการออกของสปอร์ *Stemonitis* sp. ด้วยการแยกสปอร์ออกจาก sporangium แล้วเพาะลงบนอาหาร corn meal agar เท่าน้ำกลั่นที่นึ่งผ่าเชือลงไปประมาณ 10 มิลลิลิตร ประมาณ 4-5 วัน ตรวจหา aphanoplasmodium

8. ศึกษาลักษณะโครงสร้างภายในของ *Fuligo* sp. ที่ผ่าตามยาว จากสไลด์การตัวยกล้องจุลทรรศน์ บันทึกรายละเอียดให้ถูกต้อง

9. ให้ศึกษา endoparasitic slime mold 2 ชนิด *Plasmodiophora brassicae* และ *Spongospora subterranea* จากสไลด์การ วัดรูปแสดงลักษณะกลุ่มของเซลล์อยู่ภายในเซลล์พืชให้ชัดเจนและบรรยายรายละเอียดให้ถูกต้อง

คำถานท้ายบท

1. Cellular และ True slime mold เหมือนหรือต่างกันอย่างไร อธิบาย

2. จงบอกลักษณะสำคัญของราเมี๊อกในชั้น Myxomycetes

3. จงสร้าง key ของราเมี๊อคในชั้น Myxomycetes

4. จงอธิบายความหมายของคำต่อไปนี้ให้ถูกต้อง

4.1 Myxamoeba

4.2 Plasmodium

4.3 Aethalium

4.4 Capillitium

4.5 Hypothallus

4.6 Plasmodiocarp

4.7 Protoplasmodium

4.8 Pseudocapillitium

4.9 Elaters

4.10 Sporangium

5. รามีอกมีความสำคัญต่อมนุษย์ สัตว์และพืชอย่างไร