

## บทปฏิบัติการที่ 9

### สับ-ดิวิชันแอสโคมายโคตินา

(Sub-Division Ascomycotina)

ราในสับ-ดิวิชันนี้เป็นเชื้อราในกลุ่มใหญ่อีกกลุ่มหนึ่งที่มีการดำรงชีวิตเป็นแบบแซปโรไฟท์ อาศัยอยู่ใต้ดิน เป็นปรสิตอาศัยอยู่กับสิ่งมีชีวิตอื่น มนุษย์ สัตว์และพืช ฟังพาอาศัยกับสิ่งมีชีวิตอื่น เช่น อาศัยอยู่กับรากของพืชชั้นสูง (mycorrhiza) อาศัยอยู่กับสาหร่าย (lichens) เป็นต้น ราในกลุ่มนี้หลายชนิดเป็นประโยชน์ในด้านการเกษตร การแพทย์ อุตสาหกรรมและการอาหาร

ลักษณะทั่วไปที่ถือว่าเป็นลักษณะเด่น ได้แก่ ระยะเวลาขยายพันธุ์แบบมีเพศ โดยสร้างสปอร์มีเพศเป็นแอสโคสปอร์ (ascospores) ซึ่งบรรจุอยู่ในถุงหุ้มสปอร์ (ascus) จำนวนของแอสโคสปอร์ที่บรรจุอยู่ในถุงหุ้มสปอร์ทั่วไปมี 8 สปอร์ ยกเว้นบางชนิดมีมากกว่า 8 สปอร์ จากลักษณะของถุงหุ้มสปอร์และโครงสร้างพิเศษสามารถจัดชั้นของราในสับ-ดิวิชันแอสโคมายโคตินาออกเป็น 5 ชั้น คือ

1. ชั้น Hemiascomycetes
2. ชั้น Plectomycetes
3. ชั้น Pyrenomycetes
4. ชั้น Discomycetes
5. ชั้น Loculoascomycetes

ชั้น Hemiascomycetes เชื้อราในชั้นนี้สร้างถุงหุ้มสปอร์เจริญมาจากชายโกตเซลโดยตรงปราศจาก ascogenous hyphae และโครงสร้างพิเศษ (ascocarp) ห่อหุ้มแบ่งออกเป็น 2 ลำดับ คือ

1. ลำดับ Endomycetales รวมถึงจุลินทรีย์จำพวกยีสต์และสิ่งมีชีวิตอื่นที่คล้ายคลึงกับยีสต์ ซึ่งมีการดำรงชีวิตเป็นแบบแซปโรไฟท์ ขึ้นอาศัยบนอาหารจำพวกน้ำตาล เช่น ต่อม้ำหวานของดอกไม้และผลไม้ เป็นต้น ลักษณะเด่นของราในลำดับ Endomycetales คือการที่เชื้อราสร้างถุงหุ้มสปอร์และแอสโคสปอร์เจริญมาจากเซลล์ของชายโกตที่เกิดจากการผสมกันแบบมีเพศของเซลล์สองเซลล์ มีวงศ์ที่สำคัญดังนี้ คือ

วงศ์ Ascoideaceae (Diploascaceae) ราในวงศ์นี้สร้างแอสโคสปอร์จำนวนมากในถุงหุ้มสปอร์หนึ่ง ๆ มีจำนวนสปอร์ไม่จำกัด เช่นราในสกุล *Dipodascus* sp.

มีนิวเคลียสได้เพียง 1 อัน ราในวงศ์นี้รวมถึงพวกที่มีลักษณะคล้ายยีสต์และสร้างเส้นใย เช่นราในสกุล *Eremascus* sp., *Endomyces* sp. และ *Endomycopsis* sp.

วงศ์ *Saccharomycetaceae* จัดว่าเป็นพวกยีสต์ที่แท้จริง (true yeast) เนื่องจากตลอดวงจรชีวิตของราในวงศ์นี้ไม่มีการสร้างเส้นใย มีแต่เส้นใยเทียมซึ่งเกิดจากการขยายพันธุ์แบบไม่มีเพศชนิดแตกหน่อ (budding) เท่านั้น ประกอบไปด้วยสกุลที่สำคัญดังนี้ คือ *Schizosaccharomyces* sp., *Saccharomyces* sp. และ *Hansenula* sp.

2. ลำดับ *Taphrinales* เชื้อราในลำดับนี้มีลักษณะโคโลนีและการขยายพันธุ์แบบไม่มีเพศบนอาหารเลี้ยงเชื้อคล้ายคลึงกับยีสต์ โดยทั่วไปราในลำดับนี้เป็นปรสิตกับพืชชั้นสูง สร้างเส้นใยชนิดที่มีนิวเคลียส 2 อัน เจริญอยู่ระหว่างเซลล์พืชแล้วเส้นใยดังกล่าวจะขาดหรือหลุดออกเป็นท่อนๆ มีลักษณะคล้าย chlamydospores ของเชื้อราทั่วไป อนุกรมสปอร์และแอสโคสปอร์ถือกำเนิดมาจากเซลล์ที่มีลักษณะคล้าย chlamydospores นี้ ได้แก่ราในสกุล *Taphrina* sp.

## วิธีปฏิบัติ

1. ให้นักศึกษาตรวจลักษณะของเชื้อรา สกุลต่อไปนี้ *Schizosaccharomyces* sp., *Saccharomyces* sp., *Hansenula* sp. และ *Nematospora* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แล้ววาดรูปแสดงรายละเอียดต่างๆ เท่าที่พบ

2. ให้ศึกษารูปร่างลักษณะของ *Taphrina deformans* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรค peach leaf curl จากสไลด์ถาวร ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แล้ววาดรูปแสดงรายละเอียดต่างๆ ดังนี้ ascus, ascospore, ascogenous cell และ hymenium

จาก ๓๓ ascosporidia คือผลึกคัพภะที่มีลักษณะเป็นรูปรีหรือรูปไข่

### 3. ศึกษาการแยกเชื้อยีสต์จากแหล่งธรรมชาติ

3.1 แยกจากผลไม้ต่างๆ โดยนำผลไม้สุกมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว และนำมาลากลบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) ซึ่งเติมสารละลายกรด tartaric 10 เปอร์เซ็นต์ หลังจากหลอมเหลวแล้ว จนมีความเป็นกรดเป็นด่างประมาณ 3.5 นำมาบ่มที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เลือกย้ายโคโลนีของยีสต์ที่เกิดขึ้นเก็บไว้ใน PDA slant

จาก ๓๔ ผลการทดลองในการแยกเชื้อยีสต์จากผลไม้สุก

**ผลการทดลอง**

3.2 แยกจากอากาศบริเวณสวนผลไม้ต่างๆ โดยการเปิดจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารแข็ง ซึ่งใน 1 ลิตรประกอบไปด้วย beef extract 3 กรัม peptone 5 กรัม yeast extract 2 กรัม glucose 20 กรัม grape juice 30 มิลลิลิตร agar 20 กรัม และผสม rose bengal 0.03 กรัม เพื่อป้องกันการเจริญของแบคทีเรียและการแพร่ขยายโคโลนีของเชื้อรา วางบนขาตั้งสูงจากพื้นดินประมาณ 18 นิ้ว เป็นเวลา 4 นาที จึงปิดจานเลี้ยงเชื้อ นำมาบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง เก็บโคโลนีของเชื้อยีสต์ที่ได้ลงบน PDA slant

### ผลการทดลอง

## คำถามท้ายบท

1. มีนักเชื้อราวิทยาบางคนกล่าวว่า ราในวงศ์ *Ascoideaceae* เป็นเชื้อราที่อยู่ระหว่างกลางของเชื้อราใน Sub-Division *Ascomycotina* และ *Zygomycotina* นักศึกษาเห็นด้วยหรือไม่ จงแสดงเหตุผล

2. การสืบพันธุ์แบบมีเพศและไม่มีเพศเกิดขึ้นได้อย่างไรในยีสต์ อธิบาย

3. Ascosporegenous yeasts และ Anascosporegenous yeasts หมายความว่าอย่างไร

4. จงกล่าวถึงวงจรชีวิตของยีสต์แบบ haplobiontic, diplobiontic และ haplo-diplobiontic

5. สภาพการเกิด binucleate condition ของเชื้อรา *Taphrina deformans* เกิดขึ้นได้  
อย่างไร อธิบาย