

การเป็นปรสิตของสาหร่ายสีเขียว *Cephaleuros* Kunze ex E.M. Fries

Parasitism of green algae *Cephaleuros* Kunze ex E.M. Fries

อนูรักษ์ สันป่าเป้า^{1*}

Anurag Sunpapao^{1*}

บทคัดย่อ: เก็บตัวอย่างสาหร่ายสีเขียวในสกุล *Cephaleuros* บนพืชอาศัยต่างๆ ในเขตภาคใต้ ในระหว่างปี 2556-2558 จัดจำแนกสาหร่ายสกุลนี้ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบทั้งหมด 6 ชนิด คือ *Cephaleuros diffusus* บนพืชอาศัยกระถินณรงค์ *C. expansa* บน พืชอาศัยฝรั่ง *C. karstenii* บนพืชอาศัยโกโก้ *C. pilosa* บนพืชอาศัยมังคุด *C. solutus* บนพืชอาศัยทุเรียน และ *C. virescens* บนพืชอาศัยยี่หุ่ง วิเคราะห์การเป็นปรสิตของสาหร่ายสกุลนี้โดยดูอาการบนพืชอาศัย (symptom on host) ลักษณะการเจริญ (growth habit) บนพืชอาศัย เปอร์เซ็นต์ทัลลัส (thallus) ที่ปกคลุมใบ และเนื้อเยื่อพืชตาย (necrosis) บนใบพืช จากผลการทดลองพบสาหร่าย *C. expansa* และ *C. virescens* ทำให้เนื้อเยื่อพืชรอบๆ ทัลลัสของสาหร่ายเปลี่ยนสี (discoloration) สาหร่ายทุกชนิดมีการเจริญอยู่ระหว่างชั้นคิวติเคิลและอีพิเดอมิส (subcuticular) มีเพียงชนิดเดียวคือ *C. pilosa* พบเส้นใยแทรกอยู่ในเนื้อเยื่อพืช (intramatrical) จากการวัดเปอร์เซ็นต์ทัลลัสที่ปกคลุมใบพืช พบ *C. virescens* มีเปอร์เซ็นต์สูงสุด ส่วน *C. expansa* พบก่อให้เกิดเนื้อเยื่อตายภายใต้ทัลลัสรุนแรงที่สุด โดยพบเนื้อเยื่อตายจากชั้นอีพิเดอมิสชั้นบนไปจนถึงชั้นล่าง

คำสำคัญ: สาหร่าย, ปรสิต, อาการบนพืชอาศัย

ABSTRACT: Plant parasitic green algae in genus *Cephaleuros* were collected in the southern Thailand during 2013-2015. Based on morphology, the algae were identified as *Cephaleuros diffusus* on acacia, *C. expansa* on guava, *C. karstenii* on citrus, *C. pilosa* on mangosteen, *C. solutus* on durian and *C. virescens* on lagerstroemia. Parasitism analyses were conducted on symptom on host, growth habit on host, percentage of upper surface of host plant leaves covered by *Cephaleuros* thallus and necrosis tissues on plant leaves. The results showed that *C. expansa* and *C. virescens* caused discoloration of plant tissue around the thallus. All algae species growth were subcuticular, only *C. pilosa* showed intramatrical in host tissues. In addition, the thallus of *C. virescens* showed the highest percentage of covering host leaves, whereas *C. expansa* caused the most severe necrosis on plant host tissues from upper epidermis to lower epidermis.

Keywords: Algae, parasite, symptom on host

¹ ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112

Department of Pest management, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hatyai, Songkhla 90112

* Corresponding author: anurag.su@psu.ac.th

บทนำ

สาหร่ายสกุล *Cephaleuros* จัดอยู่ในกลุ่มสาหร่ายสีเขียว (green algae) ในไฟลัม Chlorophyta อันดับ Trentepohliales ลักษณะที่สำคัญของสาหร่ายสกุลนี้คือมีลักษณะเป็นเส้นสาย (filaments) ประกอบกันเป็นรูปร่างที่เรียกว่าทาลัส (thallus) อาศัยอยู่แบบกึ่งบนบก (subaerial) และต้องการน้ำในการแพร่พันธุ์ (Suto and Ohtani, 2009) เส้นใยของสาหร่ายสกุลนี้มีรงควัตถุ hematochrom และ β -carotene ซึ่งมีสีส้ม (Thompson and Wujek, 1997) สาหร่าย *Cephaleuros* มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยซุโอสปอร์ (zoospore) กระจกเจริญเข้าไปในเนื้อเยื่อพืชและแบบอาศัยเพศโดยการผสมกันของเซลล์สืบพันธุ์ (gametes) สาหร่ายสกุล *Cephaleuros* ถูกจัดว่าเป็นสาเหตุโรคพืชเนื่องด้วยมีดาร์ซซีพแบบปรสิตต่อพืชอาศัย ก่อให้เกิดความเสียหายบนพืช (Jourbert and Rijkenberge, 1971; Marlatt and Alfieri, 1981) ทำให้เกิดโรคจุดสาหร่าย (algal spot) และเจริญอยู่บนชั้นคิวติเคิล (cuticle) ของพืช สามารถสังเกตเห็นจุดสีส้มถึงน้ำตาล มีลักษณะฟุคคล้ายกำมะหยี่บนใบพืช (Nelson, 2008) นอกจากนี้ยังพบบริเวณกิ่ง และบนผลไม้อีกด้วย สาหร่าย *Cephaleuros* พบมากในเขตร้อนชื้นและกึ่งร้อนชื้น ปัจจุบันพบสาหร่ายสกุลนี้ทั้งหมด 14 ชนิด (Thompson and Wujek, 1997) และพบอีก 3 ชนิดใหม่จากตัวอย่างในประเทศญี่ปุ่น (Suto and Ohtani, 2009) จากทั้งหมด 17 ชนิด สาหร่าย *Cephaleuros virescens* มีพืชอาศัยกว้างและพบมากที่สุด (Brooks, 2004; Suto and Ohtani, 2009; Sunpapao et al. 2015)

ในประเทศไทย Pitaloka et al. (2014) ได้รายงานว่าสาหร่าย *C. solutus* ก่อให้เกิดโรคใบจุดสาหร่ายในทุเรียน นับเป็นรายงานแรกที่ใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) ในการจัดจำแนกในระดับชนิด ต่อมาสาหร่าย *C. virescens* ถูกพบว่าเป็นสาเหตุของ

โรคใบจุดสาหร่ายในยางพารา โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเทคนิคทางชีวโมเลกุลในการจัดจำแนกชนิด (Pitaloka et al. 2015) นอกจากนี้ อนุรักษและคณะ (2558) ได้ศึกษาสัณฐานวิทยาและประเมินความรุนแรงของโรค (disease assessment) โดยกรรมวิธี A four-point necrosis index (Brooks, 2004) ของสาหร่ายปรสิตพืช *C. expansa* ในพืชอาศัยฝรั่ง *C. karstenii* ในพืชอาศัยมะนาว และ *C. virescens* ในพืชอาศัยมะม่วง พบว่าสาหร่าย *C. expansa* มีระดับความรุนแรงของโรคสูงสุดจากการศึกษาพืชอาศัยการแพร่กระจายและความหลากหลายของสาหร่ายสกุล *Cephaleuros* ในเขตพื้นที่ 11 จังหวัดภาคใต้ของประเทศไทยพบว่า *C. virescens* มีพืชอาศัยกว้างที่สุดถึง 17 ชนิดพืช (อนุรักษและคณะ 2558) การศึกษาด้านชีววิทยา อนุกรมวิธาน การเป็นปรสิตและนิเวศวิทยาของสาหร่ายปรสิตพืชในสกุล *Cephaleuros* ในประเทศไทยยังมีน้อย และขาดการรายงานอย่างต่อเนื่องงานวิจัยนี้จึงเน้นศึกษาลักษณะอาการ (symptom) ของพืชที่ตอบสนองต่อสาหร่าย การเจริญ (growth habit) บนพืชอาศัย และการเป็นปรสิต

วิธีการศึกษา

เก็บตัวอย่างและจัดจำแนกตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา

เก็บตัวอย่างสาหร่ายชนิดต่างๆ ดังนี้ *C. diffusus* จากพืชอาศัยกระถินณรงค์ *C. expansa* จากพืชอาศัยฝรั่ง *C. karstenii* จากพืชอาศัยมะนาว *C. pilosa* จากพืชอาศัยมังคุด *C. solutus* จากพืชอาศัยทุเรียน และ *C. virescens* จากพืชอาศัยยี่ไข่ง ลอกทาลัสของสาหร่ายด้วยใบมีดผ่าตัด นำไปศึกษาได้กล้องจุลทรรศน์ ตรวจดูลักษณะการเจริญ (growth habit) ของสาหร่ายแต่ละชนิด และเทียบเคียงลักษณะต่างๆ กับคีย์ (key) ชนิดของสาหร่ายในอันดับ Trentepohliales (Thompson and Wujek, 1997)

การเป็นปรสิตของสาหร่าย *Cephaleuros* บนพืชอาศัย

เนื่องจากการทดสอบการเป็นสาเหตุโรคพืชตามสมมติฐานของ Koch นั้น ไม่สามารถใช้ได้กับสาหร่ายปรสิตพืช ดังนั้นการเป็นปรสิตของสาหร่ายสีเขียวในสกุล *Cephaleuros* จึงสามารถวัดได้ 2 กรรมวิธี (Brooks, 2004) กรรมวิธีที่ 1 วัดเปอร์เซ็นต์ที่ลัสของ *Cephaleuros* spp. ที่ปกคลุมบนใบของพืชอาศัย (Percentage upper leaf surface of plant host covered by *Cephaleuros*) โดยแบ่งเป็น 3 ระดับ คือ ระดับเบา ($\leq 5\%$) ระดับปานกลาง ($6 - 25\%$) และระดับรุนแรง ($>25\%$) ส่วนกรรมวิธีที่ 2 วัดเนื้อเยื่อตาย (necrosis) ภายใต้อัลลาสของสาหร่าย โดยมีระดับความรุนแรง 4 ระดับ (a – four point necrosis index) คือ ระดับ 0 ไม่เกิดเนื้อเยื่อตายใต้อัลลาสของสาหร่าย ระดับ 1 มีเนื้อเยื่อตายใต้อัลลาสของสาหร่ายเพียง 1 ชั้นเซลล์ ระดับ 2 มีเนื้อเยื่อตายใต้อัลลาสของสาหร่ายมากกว่า 1 ชั้นเซลล์ ไม่มีการพองหรือยุบตัวของเยื่อเยื่อ และระดับ 3 มีเนื้อเยื่อตายใต้อัลลาสของสาหร่ายทุกชั้นเซลล์ของพืช มีการยุบตัวของเนื้อเยื่อเป็นโพรง (shot hole)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

สาหร่ายสีเขียวในสกุล *Cephaleuros* จัดเป็นสิ่งมีชีวิตที่ก่อให้เกิดโรคจุดสาหร่าย (algal spot) พบบนใบลำต้นและผลของพืชหลายชนิด Pitaloka และคณะ (2014) ได้รายงานไว้ว่า สาหร่ายสกุล *Cephaleuros* ที่พบในประเทศไทยคือ *C. solutus* เป็นสาเหตุของโรคจุดสาหร่ายในทุเรียน นับเป็นรายงานแรกที่ใช้ศักยภาพของสาหร่ายสกุลนี้ (Thompson and Wujek, 1997) ในการจัดจำแนกต่อมา มีรายงานการค้นพบสาหร่ายสกุลนี้อีก 5 ชนิดในประเทศไทย คือ *C. diffusus*, *C. expansa*, *C. karstenii*, *C. pilosa* และ *C. virescens* (Sunpapao and Pitaloka, 2015; Sunpapao et al. 2015; Sunpapao et al., 2016) นอกจากนี้ยังพบว่าสาหร่าย *C. virescens* มีพืชอาศัยกว้างที่สุด (อนุรักษ์ และ คณะ 2558) ส่วนสาหร่าย *C. expansa* ทำความ

เสียหายให้กับพืชอาศัยมากที่สุด (อนุรักษ์ และ คณะ 2558)

การศึกษาอาการใบจุดของสาหร่ายในพืชอาศัยแต่ละชนิดพบว่า อัลลาสของสาหร่ายที่เจริญบนใบพืชอาศัยมีรูปแบบที่แตกต่างกัน ตั้งแต่กลมไปจนถึงไม่เป็นระเบียบ (circular to irregular) ลักษณะขอบแผลมีทั้งแบบเรียบ (entire) หยัก (crenate) และคล้ายเส้นใย (filamentous) นอกจากนี้ยังพบการเปลี่ยนแปลงสี (discoloration) รอบๆ อัลลาสของสาหร่ายในพืชอาศัยฝรั่งและยี่เข่ง โดยในยี่เข่งรอบๆ ขอบแผลของอัลลาสเปลี่ยนเป็นสีม่วง (Figure 1) จากการวัดเปอร์เซ็นต์ของอัลลาสบนใบพืชอาศัยของสาหร่ายทั้ง 6 ชนิดที่เก็บได้จากพืชอาศัยที่ต่างกัน พบว่าสาหร่าย *C. virescens* มีความผันแปรของจำนวนอัลลาส โดยมีเปอร์เซ็นต์ของอัลลาสบนใบพืชอาศัยจากน้อยกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ไปจนถึงมากกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสาหร่าย *C. expansa* และสาหร่าย *C. karstenii* มีเปอร์เซ็นต์อัลลาสของสาหร่ายที่ปกคลุมบนใบของพืชอาศัยมากกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าสาหร่าย *C. virescens* ก่อให้เกิดความเสียหายบนพืชอาศัยมากกว่าสาหร่ายชนิดอื่นในสกุลเดียวกัน (Table 1)

เมื่อตัดเนื้อเยื่อตามขวางของพืชอาศัยแต่ละชนิดของสาหร่ายทั้งหมด 30 ชิ้นเนื้อเยื่อต่อชนิดของสาหร่าย ($n = 30$) วัดการเกิดเนื้อเยื่อตาย (necrosis) ใต้อัลลาสของสาหร่าย พบการเจริญของอัลลาสสาหร่ายทุกชนิดบนชั้นคิวติเคิลของใบพืช (subcuticular) พบสาหร่าย *C. pilosa* มีการเจริญของเส้นใย (filaments) แทรกเข้าไปยังเซลล์พืช (intramatrix) ซึ่งเป็นลักษณะจำเพาะของสาหร่ายชนิดนี้ (Thompson and Wujek, 1997) จากการประเมินความรุนแรงของสาหร่ายโดยวิธี A-four point necrosis index พบว่าสาหร่ายแต่ละชนิดมีความรุนแรงต่างกัน โดย *C. expansa* บนพืชอาศัยฝรั่งมีความรุนแรงสูงสุดที่ระดับ 3 พบเนื้อเยื่อตายทุกชั้นเซลล์ตั้งแต่ชั้นอพิเดอมิสชั้นบนไปจนถึงอพิเดอมิสชั้นล่าง เนื้อเยื่อด้านในยุบตัวเป็นรู ส่วนสาหร่ายที่เหลือมีความรุนแรงรองลงมาอยู่ในระดับ 2 คือพบเนื้อเยื่อตายใต้อัลลาสของสาหร่ายมากกว่า 1 ชั้นเซลล์ (Figure 2, Table 2)

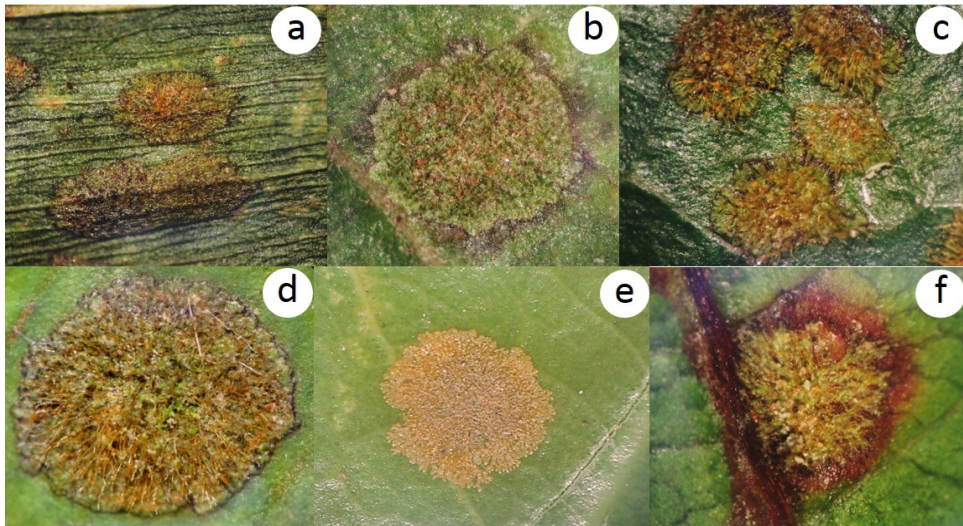


Figure 1 Symptoms on host infected by *Cephaleuros* species; a) *C. diffusus* on acacia, b) *C. expansa* on guava, c) *C. karstenii* on cacao, d) *C. pilosa* on mangosteen, e) *C. solutus* on durian and f) *C. virescens* on lagerstroemia. Discoloration around the thalli are observed on guava and lagerstroemia hosts.

Table 1 Percentage upper surface covered by *Cephaleuros* species on host leaves

Algal species	No. of host affect at each level of area covered		
	$\leq 5\%$	6-25%	> 25
<i>C. diffusus</i>	- ^a	1	-
<i>C. expansa</i>	-	-	1
<i>C. karstenii</i>	2	2	1
<i>C. pilosa</i>	1	-	-
<i>C. solutus</i>	-	1	-
<i>C. virescens</i>	8	4	6
Total	11	8	8

^aNo hosts recorded for the algal species at this level

Table 2 Necrosis index of plants caused by *Cephaleuros* species

sAlgal species	No. of host affected at each level of necrosis			
	0	1	2	3
<i>C. diffusus</i>	- ^a	-	1	-
<i>C. expansa</i>	-	-	1	1
<i>C. karstenii</i>	-	3	2	-
<i>C. pilosa</i>	-	-	1	-
<i>C. solutus</i>	-	-	1	-
<i>C. virescens</i>	4	10	2	2
Total	4	13	8	3

^aNo hosts recorded for the algal species at this level

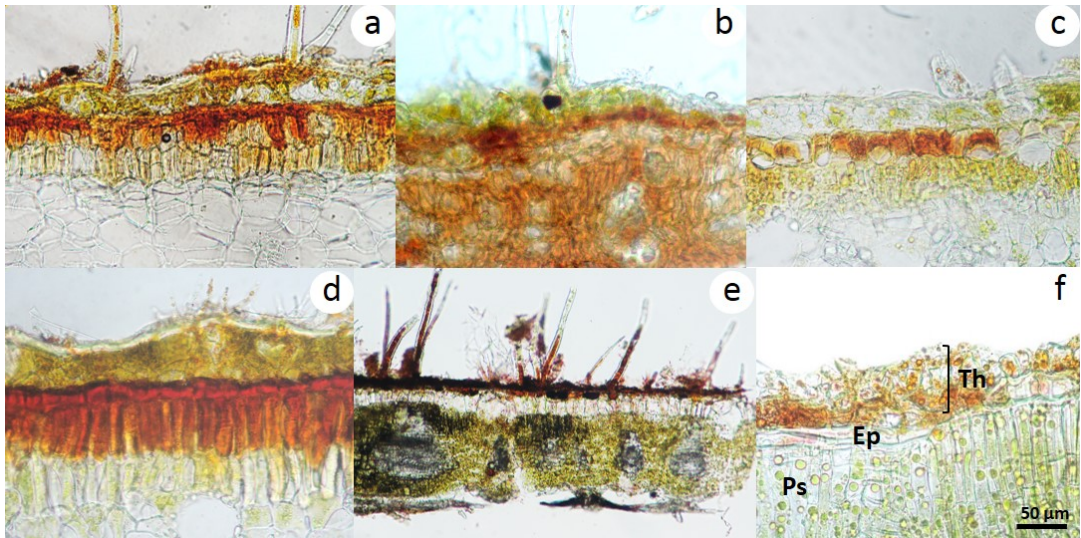


Figure 2 Transverse section and necrosis index of several host plants infected with *Cephaleuros* species, a) *Cephaleuros diffusus* on acacia, b) *C. expansa* on guava, c) *C. karstenii* on cacao, d) *C. pilosa* on mangosteen, e) *C. solutus* on durian and f) *C. virescens* on lagerstroemia. Ep = epidermis, Ps = palisade cells and Th = thallus.

สาหร่ายปรสิตพืชในสกุลนี้สามารถเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ได้ Suto และ Ohtani (2011) ได้เพาะเลี้ยงสาหร่ายสกุลนี้บนอาหาร Bold's basal medium (BBM) และ Algal culture medium (CA) เพื่อศึกษาสัณฐานวิทยาของเส้นใยสาหร่าย ส่วนการจัดจำแนกสาหร่ายระดับโมเลกุลจำเป็นที่จะต้องเพาะเลี้ยงสาหร่ายบนอาหารสังเคราะห์เพื่อนำมาสกัดดีเอ็นเอและเพิ่มปริมาณยีน 18s small subunit (SSU) rRNA แต่การวิเคราะห์ระดับโมเลกุลนั้นยังมีข้อจำกัดเนื่องจากจำนวนข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของสาหร่ายสกุลนี้ในฐานข้อมูล GenBank (National Center for Biotechnology Information) ยังมีน้อย ไม่สามารถนำมาเปรียบเทียบในระดับชนิดได้ ในการจัดจำแนกชนิดของสาหร่ายจึงเน้นลักษณะทางสัณฐานวิทยา อาการบนใบพืช และลักษณะการเจริญเติบโตของสาหร่ายบนพืชอาศัยนั้นๆ

สรุป

จากการเปรียบเทียบลักษณะอาการ (symptom) ลักษณะการเจริญเติบโต (growth habit) และการเป็นปรสิต (parasitism) ของสาหร่ายสกุล *Cephaleuros* ที่พบในเขตภาคใต้พบว่า สาหร่ายทุกชนิดมีการดำรงชีวิตแบบปรสิตบนพืชอาศัยโดยเจริญปกคลุมพืชอาศัยและทำให้เกิดเซลล์หรือเนื้อเยื่อตายภายใต้ทลล์ของสาหร่าย แต่เนื่องจากมีรายงานว่าสาหร่ายสกุลนี้สามารถเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ได้ จึงจัดได้ว่าสาหร่ายสกุล *Cephaleuros* เป็นปรสิตเทียม (facultative parasite)

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนส่วนหนึ่งจาก สถานวิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ คณะทรัพยากรธรรมชาติ ระยะที่

เอกสารอ้างอิง

- อนุรักษ์ สันป่าเป้า, Mutiara K. Pitaloka, นราสินี ถี่ถ้วน, อรณิชา ตันติพลานนท์ และวสันต์ เพชรรัตน์. 2558. สันฐานวิทยา และความรุนแรงของสาหร่ายปรสิตพืช *Cephaleuros* Kunze. แก่นเกษตร. 43(ฉบับพิเศษ): 189-194.
- อนุรักษ์ สันป่าเป้า, Mutiara K. Pitaloka และวสันต์ เพชรรัตน์. 2558. พืชอาศัย การแพร่กระจายและความหลากหลายของสาหร่ายปรสิตพืช *Cephaleuros* Kunze ในเขตภาคใต้ของประเทศไทย. แก่นเกษตร. 43(ฉบับพิเศษ): 928-932.
- Brooks, F. E. 2004. Plant-Parasitic Algae (Chlorophyta: Trentepohliales) in American Samoa. Pacific Sci. 58: 419-428.
- Joubert, J.J., and F.H.J. Rijkenberg. 1971. Parasitic green algae. Annu. Rev. Phytopathol. 9: 45-64.
- Marlatt, R.B., and Jr. S. A. Alfieri. 1981. Hosts of a parasitic alga, *Cephaleuros* Kunze, in Florida. Plant Dis. 65: 520-522.
- Nelson, S.C. 2008. *Cephaleuros* species, the plant parasitic green algae. Plant Disease. Cooperative Extension Service, College of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawai'i at Mānoa, August 2008, PD-43: 1-6.
- Pitaloka, M.K., V. Petcharat, and A. Sunpapao. 2014. *Cephaleuros solutus* Karsten, as a causal agent of durian (*Durio zibethinus* Murray) algal leaf spot disease in Thailand. Khon Kaen Agr. J. 42(Suppl.3): 644-648.
- Pitaloka, M.K., V. Petcharat, S. Arikrit, and A. Sunpapao. 2015. *Cephaleuros virescens*, the cause of an algal leaf spot on Para rubber in Thailand. Australasian Plant Dis. Notes 10: 1-4.
- Sunpapao, A., and M.K. Pitaloka. 2015. A new record of plant parasitic green algae, *Cephaleuros diffusus* (Trentepohliaceae, Chlorophyta), on *Acacia auriculiformis* hosts in Thailand. Biodiversitas 16(2): 116-120.
- Sunpapao, A., M.K. Pitaloka, and S. Arikrit. 2015. The genus *Cephaleuros* Kunze ex E.M. Fries (Trentepohliales, Ulvophyceae) from southern Thailand. Nova Hedwigia. 101(3-4): 451-462.
- Sunpapao, A., M.K. Pitaloka, and S. Arikrit. 2016. Algal leaf spot associated with *Cephaleuros virescens* (Trentepohliales, Ulvophyceae) on *Nephelium lappaceum* in Thailand. Biodiversitas. 17(1): 31-35.
- Suto, Y., and S. Ohtani. 2009. Morphology and taxonomy of five *Cephaleuros* species (Trentepohliaceae, Chlorophyta) from Japan, including three new species. Phycologia. 48: 213-236.
- Suto, Y. and S. Ohtani. 2011. Morphological features and chromosome numbers in culture of five *Cephaleuros* species (Trentepohliaceae, Chlorophyta) from Japan. Phyco. Res. 59: 42-51.
- Thompson, R.H., and D.E. Wujek. 1997. Trentepohliales, Cephaleuros, Phycopeltis and Stomatochroon: Morphology, Taxonomy and Ecology. 1st Edition. Enfield Publishing and Distribution. United States of America. 149 pp.