วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ ปีที่ 3 ฉบับพิเศษ (I): M09/31-35, 2559
Songklanakarin Journal of Plant Science, Vol. 3, Suppl. (I): M09/31-35, 2016

Research article

การพัฒนาโครงสร้างสืบพันธุ์ของสาหร่ายปรสิตพืช *Cephaleuros* Kunze ex E.M.Fries บนพืชอาศัยลองกอง (*Lansium domesticum* Corr.)

Development of Reproductive Structures of Plant Parasitic Algae *Cephaleuros* Kunze ex E.M.Fries on Longkong (*Lansium domesticum* Corr.)

นราสินี ถี่ถ้วน[1] เพ็ญภัสสร บรรจงศิริ[1] นงนาถ พ่อค้า[2] ศิวเรศ อารีกิจ[3] และ อนุรักษ์ สันป่าเป้า[1]
Thithuan, N.[1], Bunjongsiri, P.[1], Phoka, N.[2], Arikit, S.[3] and Sunpapao, A.[1]

[1] ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90110
[1] Department of Pest Management, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hatyai, Songkhla 90110
[2] มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี วิทยาเขตราชบุรี ตำบลรางบัว อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี 70150
[2] King Mongkut's University of Technology Thonburi (Ratchaburi Campus), Ratchaburi 70150
[3] ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว และภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 7310
[3] Rice Science Center and Department of Agronomy at Kamphaeng Saen, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

บทคัดย่อ

สาหร่ายปรสิตพืชสกุล *Cephaleuros* เป็นสาหร่ายที่ก่อให้เกิดโรคจุดสาหร่ายบนพืชอาศัยหลายชนิด โครงสร้างสืบพันธุ์ของสาหร่ายเป็นโครงสร้างที่มีความสาคัญต่อการแพร่กระจายของสาหร่าย และการเข้าสู่พืชอาศัย ซูโอสปอร์งอกเส้นใยและเจริญเป็นทัลลัส ก่อให้เกิดทั้งอาการและหลักฐานทางกายภาพบนพืช และพัฒนาไปเป็นโรคใบจุด เนื่องจากข้อมูลพัฒนาการของโครงสร้างสืบพันธุ์ของสาหร่ายในแต่ละฤดูยังไม่มีรายงาน การศึกษาครั้งนี้เพื่อศึกษาปัจจัยทางกายภาพที่มีผลต่อการพัฒนาโครงสร้างสืบพันธุ์ของสาหร่ายสกุล *Cephaleuros* บนพืชอาศัยลองกอง ทำการนับและวัดขนาดแกมีแทนเจีย ก้านชูสปอร์ สปอแรงเจียของสาหร่าย *Cephaleuros* sp. บนใบลองกอง เปรียบเทียบกับข้อมูลทางกายภาพ ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณน้ำฝนเป็นเวลา 12 เดือน ผลการศึกษาพบว่าแกมีแทนเจียเริ่มปรากฏในเดือนมีนาคม ส่วนก้านชูสปอร์พบในเดือนเมษายน มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (แกมีทและซูโอสปอร์) ในเดือนพฤษภาคมถึงเดือนธันวาคม จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสาหร่าย *Cephaleuros* sp. มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์และพร้อมที่จะเข้าสู่พืชอาศัยในช่วงเดือนพฤษภาคมถึงเดือนธันวาคม ส่วนพัฒนาการของโรคใบจุดอาจพบหลังจากการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ในปีถัดไป ผลจากงานวิจัยนี้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการป้องกันการระบาดของโรคใบจุดสาหร่าย โดยกรรมวิธีที่เหมาะสมต่อไปในอนาคต
คำสำคัญ: สาหร่ายปรสิตพืช โครงสร้างสืบพันธุ์ ลองกอง โรคใบจุดสาหร่าย

Abstract

Plant parasitic algae genus *Cephaleuros* is a causal agent of algal spot disease on several host plants. Reproductive structures of these algae are important for algal distribution and host penetration. Zoospores penetrate into host cells and develop the thallus, resulting in symptom and sign on plants, and cause leaf spot disease. However, seasonal development of reproductive structures has been not observed in Thailand before. Therefore, this study aimed to clarify physical factors and development of reproductive structure of *Cephaleuros* sp. on longkong leaves. Dimension of gametangia, sporangiophores and sporangia were measured to compare with physical factors including temperature, relative humidity and rainfall for 12 month (2015). The results showed that gametangia started to develop on March, whereas sporangiophores and sporangia occurred on April. Reproductive cells were found for inoculation on May to December. Disease progress of algal spot may exhibit after release reproductive cells for next year. Our results demonstrated a basic data which may useful for algal disease management by an appropriate way in near future.
Keywords: Plant parasitic algae, reproductive structure, longkong, algal leaf spot disease

บทนำ

การปลูกลองกองในภาคใต้มักพบปัญหาการระบาดของโรคและแมลง โดยเฉพาะในสวนลองกองที่มีการปลูกหนาแน่น ไม่มีการตกแต่งทรงพุ่ม ทำให้ไม่มีการระบายอากาศ ประกอบกับอากาศทางภาคใต้นั้นร้อนชื้น เหมาะแก่การเป็นแหล่งบ่มเพาะโรคและแมลง ส่วนมากโรคที่เกิดกับลองกองมักไม่ก่อให้เกิดผลเสียต่อผลผลิตมากนัก สาหร่ายปรสิตพืชสกุล *Cephaleuros* เป็นอีกสาเหตุหนึ่งของโรคจุดสาหร่าย บนใบและผลของพืชในกลุ่มลองกองและลางสาด (Sunpapao *et al*., 2016b) สาหร่ายสกุลนี้มีโครงสร้างเป็นเส้นใยมาประกอบกันเป็นทัลลัส สามารถสังเกตเห็นเป็นจุดบนส่วนต่าง ๆ ของพืชอาศัย ถ้ามีการระบาดรุนแรงทำให้เกิดใบไหม้ เนื้อเยื่อของพืชอาศัยแห้งตาย (necrosis) เคยมีรายงานการระบาดของสาหร่าย *Cephaleuros parasiticus* ในแปลงปลูกฝรั่งที่จังหวัดสงขลาทำให้ผลผลิตเสียหายทั้งคุณภาพและปริมาณ (Sunpapao *et al*., 2016a)

การสืบพันธุ์ของสาหร่าย *Cepahleuros* มีอยู่ 2 แบบ คือการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศและการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศผลิตซูโอสปอร์ (zoospore) ส่วนการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศผลิตไมโอซูโอสปอร์ (meiozoospore) ซูโอสปอร์ถูกสร้างในโครงสร้างสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศที่เรียกว่าสปอแรงเจีย (sporangia) บนก้านชูสปอร์ ส่วนไมโอซูโอสปอร์ถูกสร้างหลังจากการผสมพันธุ์ของเซลล์สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศหรือแกมีท (gametes) และพัฒนาไปเป็นต้นแคระที่เรียกว่า “dwarf plant” จากนั้นมีการแบ่งเซลล์และสร้างไมโอซูโอสปอร์ขึ้นมา (Thompson and Wujek, 1997) เซลล์สืบพันธุ์ทั้ง 2 แบบมีความสามารถในการเข้าสู่พืชอาศัยได้ทุกเมื่อ ซูโอสปอร์สามารถแพร่ระบาดไปกับน้ำบริเวณผิวใบพืช เมื่อซูโอสปอร์ไปตกอยู่บนพืชอาศัยก็สามารถแทงเส้นใยเข้าไปยังชั้นคิวติเคิลโดยตรงและเจริญเป็นเส้นใยแผ่ออกทุกทิศทาง ทำให้เห็นบนพืชอาศัยเป็นแผลจุด (Thompson and Wujek, 1997) ผลกระทบโดยตรงของสาหร่ายสกุลนี้บนพืชอาศัยคือ บดบังการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช (Safeeulla and Govindu, 1948) ดูดน้ำและธาตุอาหารจากเนื้อเยื่อพืช (Wolf, 1930) ทำให้เนื้อเยื่อพืชใต้ทัลลัสของสาหร่ายแห้งตาย ดังเห็นได้ว่าเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายสกุลนี้ต้องการน้ำในการนำพาซูโอสปอร์ไปยังพืชอาศัย และช่วยในการแพร่พันธุ์สาหร่ายไปยังบริเวณอื่น ๆ ในต้นพืชอาศัยเดียวกันหรือแพร่ไปยังต้นอื่น ๆ ข้างเคียง

เนื่องจากการแพร่ระบาดของโรคใบจุดสาหร่ายนั้นขึ้นอยู่กับเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่าย และปัจจัยทางกายภาพ เช่น อุณหภูมิ ความชื้นและปริมาณน้ำฝน (Muthukumar *et al*., 2014) ซึ่งยังไม่มีข้อมูลรายงานถึงการพัฒนาโครงสร้างสืบพันธุ์ของสาหร่ายสกุลนี้ ในแต่ละฤดูในประเทศไทย งานวิจัยนี้มุ่งเน้นศึกษาพัฒนาการของโครงสร้างสืบพันธุ์ของสาหร่ายสกุล *Cephaleuros* sp. บนพืชอาศัยลองกอง เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการจัดการโรคใบจุดของสาหร่ายต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

สถานที่เก็บตัวอย่างลองกองเพื่อศึกษาพัฒนาการของโครงสร้างสืบพันธุ์สาหร่าย *Cephaleuros* sp. คือ แปลงภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา (7°0’18” N 100°29’58”) เก็บตัวอย่างใบลองกองที่มีอาการจุดสาหร่ายโดยอาศัยลักษณะที่สำคัญและคีย์ชนิดของสาหร่ายสกุล *Cephaleuros* (Wolf, 1930; Thompson and Wujek, 1997) ลอกทัลลัสของสาหร่ายโดยมีดผ่าตัดให้บางที่สุดออกจากผิวใบลองกอง วางลงบนสไลด์แก้ว หยดน้ำกลั่นลงไป ศึกษาโครงสร้างสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศประกอบไปด้วยแกมีแทนเจีย แกมีทและโครงสร้างสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศคือ ก้านชูสปอร์ สปอแรงเจีย และซูโอสปอร์ ทำการบันทึกการปรากฏของโครงสร้างเหล่านี้ บันทึกภาพ บันทึกการปลดปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ ในแต่ละเดือนเป็นเวลา 12 เดือน (มกราคม - ธันวาคม 2558) ทำทั้งหมด 30 ตัวอย่าง (n=30) และนำข้อมูลมาสร้างกราฟการพัฒนาของโครงสร้างสืบพันธุ์สาหร่าย

รวบรวมข้อมูลปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ โดยอาศัยข้อมูลอุตุนิยมวิทยาประจาวัน จากสถานีอุตุนิยมวิทยาสงขลา กลุ่มงานอากาศเกษตรคอหงส์ ศูนย์วิจัยการยางคอหงส์ ตำบลคอหงส์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา ซึ่งทำการตรวจอากาศผิวพื้นทุกวัน วันละ 8 เวลาทุก 3 ชั่วโมง (01.00, 04.00, 07.00, 10.00, 13.00, 16.00, 19.00 และ 22.00 น.) นำมาหาค่าเฉลี่ยรายวัน และสรุปตามรายเดือนเป็นเวลา 12 เดือน (มกราคม 2558 – ธันวาคม 2558) เปรียบเทียบการพัฒนาโครงสร้างสืบพันธุ์ของสาหร่ายแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ กับข้อมูลปัจจัยทางกายภาพ ได้แก่ ปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิและความชื้น

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเก็บตัวอย่างใบลองกองที่มีสาหร่ายปกคลุม สามารถแบ่งออกเป็น 2 ช่วงฤดูคือช่วงฤดูร้อน (กุมภาพันธ์ - พฤษภาคม) และช่วงมรสุม (มิถุนายน - มกราคม) พบแผลบนใบลองกองสีส้มสด มีการพัฒนาของโครงสร้างที่ยื่นออกมาจากทัลลัส มีก้านชูสปอร์และเซลล์ซีเต้ในช่วงมรสุม ส่วนในช่วงฤดูร้อนพบแผลมีสีคล้ำกว่าช่วงฤดูมรสุม ไม่มีการสร้างโครงสร้างที่ยื่นออกมาจากทัลลัส (Fig. 1) โครงสร้างสืบพันธุ์ของสาหร่ายบนใบลองกองประกอบไปด้วยโครงสร้างสำหรับสร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศหรือแกมมีแทนเจีย (Fig. 2A) และโครงสร้างสำหรับสร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศคือก้านชูสปอร์ และสปอแรงเจีย (Fig. 2B) เมื่อหยดน้ำกลั่นลงบนสไลด์ที่มีตัวอย่างของสปอแรงเจียจะพบซูโอสปอร์ว่ายน้ำอยู่ (Fig. 2C) ส่วนแกมมีทมีลักษณะกลม มีแฟลก เจลลา (flagella) 2 หาง (Fig. 2D) จากนั้นถ้าไม่มีการผสมพันธุ์กันแกมีทจะแตกออกและเสียสภาพไป (Fig. 2F) Thompson และ Wujek (1997) ได้อธิบายไว้ว่าสาหร่าย *Cephaleuros* มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศที่เรียกว่า isogamy คือ

เซลล์สืบพันธุ์ที่มีขนาดเท่ากันมาเข้าคู่กัน โดยพันรัดส่วนแฟลกเจลลาและดึงส่วนตัวเข้ามาผสมกัน และเจริญเป็นต้นพืชแคระ “dwarf plant” บนพืชอาศัย ถ้าไม่มีการเข้าคู่ผสมพันธุ์กัน แกมีทจะว่ายน้ำได้ชั่วขณะหนึ่งและเสียสภาพไป

จากการวิเคราะห์ข้อมูลปัจจัยทางกายภาพที่สัมพันธ์กับการพัฒนาโครงสร้างสืบพันธุ์ของสาหร่ายสกุลนี้เป็นระยะเวลา 12 เดือน ตั้งแต่เดือนมกราคม ถึงเดือนธันวาคม 2559 พบว่าปัจจัยปริมาณน้ำฝนมีความแตกต่างกันโดยมีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยสูงในช่วงเดือน พฤษภาคม สิงหาคม และพฤศจิกายน (Fig. 3) แต่มีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยมากกว่า 100 มิลลิเมตร ในเดือนเมษายนถึงเดือนธันวาคม จากการวิเคราะห์การสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศพบว่ามีการสร้างโครงสร้างเหล่านี้ในช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนธันวาคม พบมีการปลดปล่อยซูโอสปอร์ในช่วงเดือนกรกฎาคมถึงเดือนธันวาคม (Fig. 4) ซึ่งมีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยมากกว่า 150 มิลลิเมตร สำหรับการพัฒนาโครงสร้างสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศพบว่ามีการสร้างแกมีแทนเจียในช่วงเดือนมีนาคมถึงเดือนธันวาคม ส่วนการปลดปล่อยแกมีทพบในช่วงเดือนสิงหาคมถึงเดือนกันยายน (Fig. 4) ซึ่งมีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยมากกว่า 200 มิลลิเมตร จะเห็นได้ว่าการปลดปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ทั้งสองชนิดจะอยู่ในช่วงฝนตกชุก ติดต่อกันเป็นเวลานานหลายวัน ทำให้ปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศสูงมากกว่า 80% เกิดหยดน้ำเกาะตามผิวใบ ช่วยส่งเสริมการปลดปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ เซลล์สืบพันธุ์สามารถแพร่กระจายโดยฝน และหยดน้ำที่เกาะตามใบของพืชอาศัย โดยเฉพาะซูโอสปอร์สามารถว่ายน้ำอย่างอิสระ เมื่อว่ายน้ำไปเจอพืชอาศัยก็สามารถงอกเส้นใยแทงเข้าไปยังชั้นคิวติเคิลและพัฒนาไปเป็นทัลลัสของสาหร่ายปกคลุมพืชอาศัยนั้น ๆ

จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า ในภาคใต้ของประเทศไทยสามารถพบจุดสาหร่ายบนลองกองได้ตลอดทั้งปี แต่จะมีการโครงสร้างเซลล์สืบพันธุ์จนสมบูรณ์ (perfect reproductive structure) พร้อมที่จะปลดปล่อยเซลล์สืบพันธุ์เข้าสู่พืชในช่วงฤดูมรสุม (เดือนพฤษภาคม – เดือนธันวาคม) จากนั้นจะเริ่มปลดปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ในเดือนสิงหาคม สอดคล้องกับการศึกษาของ Wolf (1930) ซึ่งได้รายงานว่าสาหร่ายในเขตกึ่งร้อน (subtropical zone) มีการสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์ (ก้านชูสปอร์ สปอร์แรงเจีย) ในช่วงต้นฤดูฝน (เดือนพฤษภาคม) และจากการศึกษาของ Muthukumar และคณะ (2014) ในประเทศอินเดีย พบว่าสาหร่ายมีการสร้างก้านชูสปอร์ในช่วงฤดูมรสุม (มิถุนายน – ธันวาคม) และพบเซลล์สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ ซูโอสปอร์ในเดือนเมษายน ในปีถัดไป ส่วนการศึกษาในเขตอบอุ่น (temperate zone) Suto และ Ohtani (2013) ได้ศึกษาพัฒนาการของโรคจุดสาหร่าย พบว่าสาหร่าย *C. microcellularis* มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (แกมีท) ในช่วงปลายเดือนมีนาคมถึงพฤษภาคม ส่วนแกมีทของ *C. aucubae, C. bilophus, C. japonicus* และ *C. virescens* พบในเดือนเมษายนถึงปลายเดือนกรกฎาคม ส่วนเซลล์สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (ซูโอสปอร์) ของ *C. bilophus, C. japonicus* และ *C. virescens* พบกลางเดือนพฤษภาคมถึงต้นเดือนสิงหาคม แสดงให้เห็นความแตกต่างของการเจริญ การพัฒนาโครงสร้างสืบพันธุ์ และช่วงระยะเวลาในการเข้าสู่พืชของสาหร่ายในแต่ละภูมิภาค ซึ่งมีความแปรผันตามความชื้นสัมพัทธ์และปริมาณน้ำฝน จากความรู้ที่ได้ในงานวิจัยนี้จึงสามารถนำไปใช้ในการคาดคะเนการระบาด และกำหนดแนวทางในการป้องกันการแพร่ระบาดของสาหร่ายปรสิตพืชได้ในอนาคต

สรุปผล

สาหร่ายปรสิตพืช *Cephaleuros* sp. บนพืชอาศัยลองกองในเขตพื้นที่การศึกษาแปลงภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ มีการพัฒนาโครงสร้างสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศในเดือนเมษายนถึงเดือนธันวาคม และปลดปล่อยซูโอสปอร์พร้อมเข้าสู่พืชอาศัยในฤดูกาลถัดไป ส่วนโครงสร้างสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศเริ่มพบในเดือนมีนาคมถึงเดือนธันวาคมและจะปลดปล่อยแกมีทสำหรับผสมพันธุ์กันในช่วงเดือนสิงหาคมและกันยายน

เอกสารอ้างอิง

Muthukumar, T., Uma, E. and Priyadharsini, P. 2014. Occurrence of foliicolore parasitic alga *Cephaleuros virescens* on cultivated ornamental plants in southern India. Botanica Lithuanica 20: 87-98.

Safeeulla, K.M. and H.C. Govindu. 1948. Some new hosts from *Cephaleuros*. J. Mysore Uni. Section B. 11: 47- 49.

Sunpapao, A., N. Thithuan, P. Bunjongsiri, and S. Arikit. 2016a. *Cephaleuros parasiticus*, associated with algal spot disease on *Psidium guajava* in Thailand. Australasian Plant Dis. Notes 11: 1-4.

Sunpapao, A., Thithuan, N., Pitaloka, M.K. and Arikit, S. 2016b. Algal leaf spot of *Lasium parasiticum* caused by *Cephaleuros* sp. in Thailand. J. Plant Patho. 98(2): 369.

Suto, Y. and S. Ohtani. 2013. Seasonal development of five Cephaleuros species (Trentepohliaceae, Chlorophyta) on the leaves of woody plants and the behavior of their gametes and zoospore. Phyco. Res. 61: 105-115.

Thompson, R.H. and D.E. Wujek. 1997. Trentepohliales, *Cephaleuros*, *Phycopeltis* and *Stomatochroon*, morphology, taxonomy and ecology, 1st edn. Enfield Publishing and Distribution, united State of America, pp. 149

Wolf, F.A. 1930. A parasitic alga, *Cephaleuros virescens* Kunze, on citrus and certain other plants. J. Mitchell Soc. 45: 187-205.

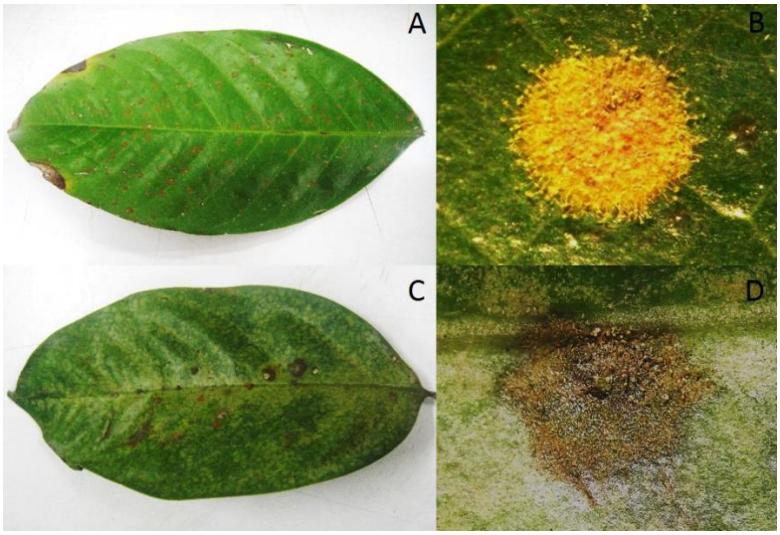

Figure 1 Lesion caused by *Cephaleuros* sp. on longkong leaves: A: lesions on longkong leaf during monsoon, B: algal thallus composed of erect system and perfect reproductive structure during monsoon, C: lesion on lonkong leaf during summer, D: algal thallus, reproductive structures are not produced during summer.

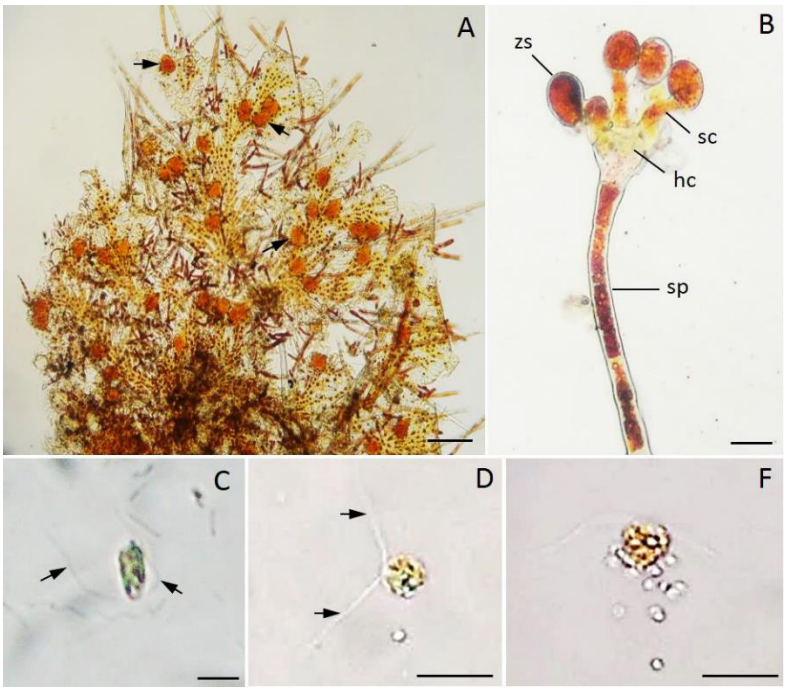

Figure 2 Morphological characters of *Cephaleuros* sp. A: algal thallus represents sexual reproductive organs (gametangia, arrows), B: asexual reproductive organ, sporangiophore bear head cell (hc), sulfultory cell (sc) and zoosporangia (zs), C: zoospore with flagella (arrows), D: gamete with flagella (arrows) and F: denatured gamete. bars, A = 50, B = 20, C, D, E = 10 µm.

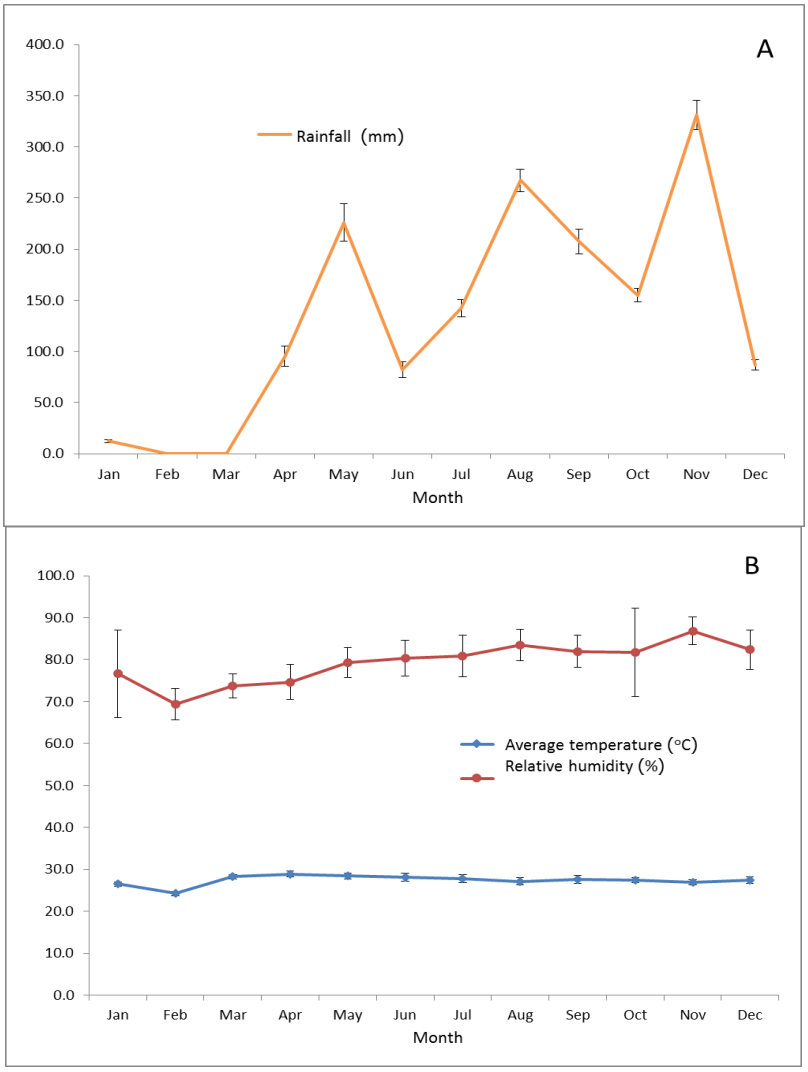

Figure 3 Meteorological parameters of the study site A: rainfall, B: relative humidity and average temperature.

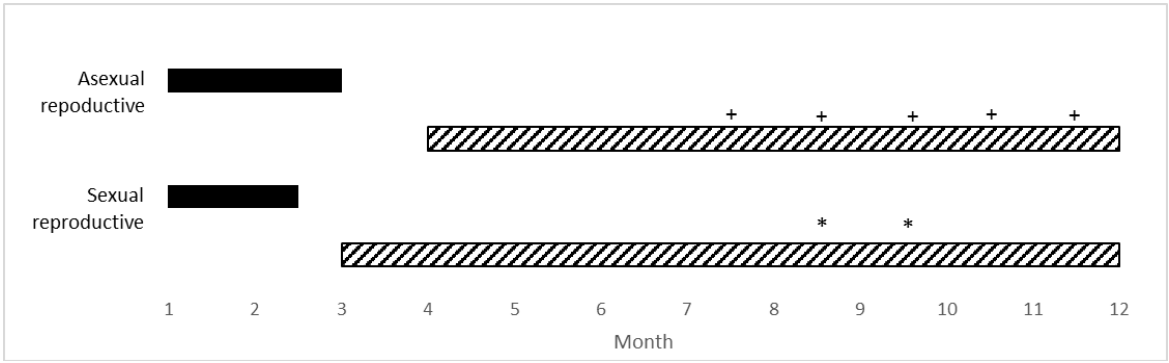

Figure 4 Development of reproductive structure and release of reproductive cells on longkong leaves ■ imperfect reproductive structure, ▨ perfect reproductive structure , $^{+}$ asexual reproductive cells (zoospore), * sexual reproductive cells (gamete).