อนุกรมวิธานเชิงโมเลกุลเผยความหลากหลายที่ซ่อนเร้นในสาหร่ายสีเขียวสกุล *Boodlea* (Chlorophyta: Cladophorales)

ณัฐนันท์ สร้อยทรัพย์[1]
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ลาดยาว จตุจักร กทมฯ 10900
และ Carlos Frederico Gurgel[2*]
Federal University of Santa Catarina, Florianópolis campus, Brazil

บทคัดย่อ

สาหร่ายสีเขียวกลุ่ม Boodlea complex ซึ่งอยู่ในวงศ์ Siphonocladales ประกอบไปด้วยสาหร่าย 4 สกุล ได้แก่ *Boodlea*, *Cladophoropsis*, *Phyllodictyon* และ *Struveopsis* ซึ่งภายในกลุ่มนี้ *Cladophoropsis vaucheriiformis* เป็นที่รู้จักดีว่าเป็นสาหร่ายสีเขียวที่อยู่ร่วมกับฟองน้ำสกุล *Halichondria* จากการศึกษาอนุกรมวิธานเชิงโมเลกุลของสาหร่ายในกลุ่ม *Boodlea* complex เมื่อเร็วๆ นี้ พบว่ามีสาหร่ายในสกุล *Boodlea* อย่างน้อย 4 ชนิดที่อยู่ร่วมกับฟองน้ำ ได้แก่ *Boodlea* sp. 1, sp. 3, sp. 6 และ sp. 7 การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาความหลากหลายของสาหร่ายสีเขียวที่อยู่ร่วมกับฟองน้ำโดยการใช้ nrDNA internal transcribed spacer และนำลำดับดีเอ็นเอของสาหร่าย *Boodlea* จากการศึกษาก่อนหน้าและจากการศึกษาในครั้งนี้มาใช้ในการสร้างแผนภูมิวงศ์วานวิวัฒนาการ ผลการศึกษาพบว่านอกจาก *Boodlea* 4 ชนิดที่มีรายงานว่าอยู่ร่วมกับฟองน้ำ ยังมี *Boodlea* sp. 10 พบร่วมกับฟองน้ำอีกด้วย การศึกษาเพิ่มเติมของสาหร่ายในกลุ่ม *Boodlea* อาจเผยให้เห็นความหลากหลายที่ซ่อนเร้นของสาหร่ายสีเขียวที่อยู่ร่วมกับฟองน้ำมากกว่าที่เคยรายงานเอาไว้

คำสำคัญ : *Cladophoropsis vaucheriiformis* / สาหร่ายที่อยู่ร่วมกับฟองน้ำ / ความหลากหลายที่ซ่อนเร้น / สาหร่ายสีเขียว / Siphonocladales

* *Corresponding Author : carlos.gurgel@adelaide.edu.au*

1 *อาจารย์ประจำภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง*

2 *ผู้ช่วยศาสตราจารย์ประจำ Department of Botany*

DNA Taxonomy Reveals Cryptic Diversity in Sponge-associated *Boodlea* Species (Chlorophyta: Cladophorales)

Nuttanun Soisup[1]

Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Ladyao, Chatuchak, Bangkok 10900

and Carlos Frederico Gurgel[2]

Federal University of Santa Catarina, Florianópolis campus, Brazil

Abstract

Boodlea complex is a group of siphonocladalean green algae consisting of four genera: *Boodlea*, *Cladophoropsis*, *Phyllodictyon* and *Struveopsis*. Within the group, *Cladophoropsis vaucheriiformis* is long known as a green algal species that associates with sponge in the genus *Halichondria*. Recent study in Boodlea complex suggested that there are at least four *Boodlea* species that coexist with sponge (*Boodlea* sp. 1, sp. 3, sp. 6 and sp. 7). In this study, we aimed to explore species diversity of sponge-associate green algae by using nrDNA internal transcribed spacer. DNA sequences of the previously reported *Boodlea* species, together with the newly generated sequences generated in this work, were used to construct phylogenetic trees. The results suggested that apart from four documented sponge-assiciated *Boodlea* species, *Boodlea* sp. 10 also coexist with sponge. Molecular phylogenetic studies of green algae in this group may reveal further cryptic diversity of green algae that coexist with sponge species.

Keywords : *Cladophoropsis vaucheriiformis* / Sponge-algal Association / Cryptic Diversity / Green algae / Siphonocladales

* *Corresponding Author : carlos.gurgel@adelaide.edu.au*

1 *Lecturer, Department of Fishery Biology, Faculty of Fisheries.*

2 *Assistant Professor, Department of Botany.*

1. บทนำ

ทั่วโลกมีสาหร่ายที่พบอยู่ร่วมกับฟองน้ำหลายกลุ่ม เช่น [1] สาหร่าย *Ceratodictyon spongiosum* อยู่ร่วมกับฟองน้ำ *Haliclona cymaeformis* และเมื่อเร็วๆ นี้ มีรายงานการพบฟองน้ำชนิดใหม่ Mycale vansoesti sp. nov. จากเกาะชูลาเวซี ประเทศอินโดนีเซียที่อยู่ร่วมกับสาหร่ายในกลุ่ม Coralline red algae [2]

Cladophoropsis vaucheriiformis (Areschoug) Papenfuss (1958: 104, '*vaucheriaeformis*') เป็นสาหร่ายสีเขียวในอันดับ Cladophorales ซึ่งเป็นที่รู้จักกันดีว่า อยู่ร่วมกับฟองน้ำในสกุล *Halichondria* โดยสาหร่าย *Cladophoropsis vaucheriiformis* สามารถพบได้บริเวณเขตร้อนและกึ่งโซนร้อนในแถบตะวันตกของมหาสมุทรแปซิฟิค ขึ้นในเขตน้ำตื้นจนถึงที่ระดับความลึก 1 เมตร [3, 4]

จากการศึกษาสาหร่ายในสกุล *Cladophosopsis* ของ Leliaert และ Coppejans ในปี 2006 [3] ได้ระบุว่า *Cladophoropsis vaucheriiformis* มีสัณฐานที่หลากหลาย เช่น (1) สัณฐานตั้งตรง และกิ่งก้านที่เหมือนนิ้วแตกออกไปในลักษณะที่ไม่แน่นอน (2) สัณฐานตั้งตรง กิ่งก้านที่เหมือนนิ้วแตกออกเป็นสองแฉก (3) สัณฐาณแบนราบไปกับพื้นและมีกิ่งก้านที่เหมือนปุ่มปม (4) สัณฐานตั้งตรง แต่กิ่งที่แตกออกมามีลักษณะขยายใหญ่ และ (5) สัณฐานตั้งตรง แตกกิ่งในลักษณะที่ไม่แน่นอน และมีปลายแหลมนอกจากนั้น ลักษณะการแตกกิ่งของเส้นสายภายในต้นก็มีความหลากหลาย แม้กระทั่งภายในต้นเดียวกัน ซึ่งมีทั้งการแตกแขนงแบบมีหรือไม่มีผนังกั้น แต่พบแบบไม่มีผนังกั้นเป็นส่วนใหญ่ ส่วนของไรซอยด์พบทั้งสองแบบเช่นกัน คือแบบมีหรือไม่มีผนังกั้น

การศึกษาด้านอนุกรมวิธานเชิงโมเลกุลในสาหร่ายสีเขียว 4 สกุล จากวงศ์ Siphonocladales ได้แก่ *Boodlea*, *Cladophoropsis*, *Phyllodictyon* และ *Struveopsis* ของ Leliaert และคณะ [5] โดยการใช้ข้อมูลลำดับดีเอ็นเอในส่วนของ nrDNA (nuclear ribosomal DNA) internal transcribed spacer (ITS) มาสร้างแผนภูมิวิวัฒนาการเชิงโมเลกุล ทำให้พบว่าสาหร่ายทั้ง 4 สกุลนั้น แท้จริงแล้วอยู่ในกลุ่มเดียวกัน โดยให้ชื่อสาหร่ายในกลุ่มนี้ว่า *Boodlea* complex จากผลจากศึกษาดังกล่าวที่มีการใช้ลำดับดีเอ็นเอของสาหร่าย 175 ตัวอย่าง และการวิเคราะห์ผลด้านวิวัฒนาการเชิงโมเลกุลชี้ให้เห็นว่าสาหร่ายในกลุ่มนี้สามารถจำแนกออกเป็น 13 ชนิด ได้แก่ *Boodlea* sp. 1-13

จากการศึกษาดังกล่าว พบว่าสาหร่ายที่อยู่รวมกับฟองน้ำ ซึ่งแต่เดิมเชื่อว่ามีชนิดเดียวคือ *Cladophoropsis vaucheriiformis* แท้จริงแล้วมีหลายชนิด ไม่ได้จำเพาะเจาะจงว่าเป็น *C. vaucheriiformis* สาหร่ายที่อยู่รวมกับฟองน้ำนั้น อยู่ในเคลดเดียวกับสาหร่ายที่แต่เดิมถูกจำแนกตามสัณฐาน ให้อยู่ในวงศ์ *Boodlea*, *Cladophoropsis* และ *Phyllodictyon* โดยสาหร่ายที่อยู่ร่วมกับฟองน้ำมีทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ *Boodlea* sp. 1, sp. 3, sp. 6 และ sp. 7

จากที่กล่าวมาข้างต้นทำให้เห็นว่าสาหร่ายสีเขียวที่อยู่รวมกับฟองน้ำมีความหลากหลายมากกว่าที่เคยเชื่อกันในอดีต ในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาความหลากหลายของสาหร่ายสีเขียวในกลุ่ม *Boodlea* complex ที่อยู่รวมกับฟองน้ำโดยใช้เทคนิคทางวิวัฒนาการเชิงโมเลกุล ซึ่งความรู้ดังกล่าวจะเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาในเชิงวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ร่วมกัน รวมทั้งความเข้าใจในความหลากหลายของสาหร่ายที่อยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตอื่น

2. อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

2.1 การเก็บตัวอย่างและสกัดดีเอ็นเอ

ตัวอย่างสาหร่ายสดที่เก็บมาได้จะถูกนำมาเก็บรักษาด้วยซิลิกาเจล เพื่อดูดความชื้นออกจากตัวอย่างให้เร็วที่สุด เพื่อรักษาสภาพของดีเอ็นเอ ข้อมูลของตัวอย่างสาหร่ายและสถานที่เก็บระบุไว้ในตารางที่ 1 ดีเอ็นเอของสาหร่ายถูกสกัดด้วยชุดสำเร็จรูป DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen) ตามวิธีการที่ระบุมาโดยผู้ผลิต

ตารางที่ 1 รายละเอียดของตัวอย่าง สถานที่เก็บ ผู้เก็บและ Accession Number จากฐานข้อมูล GeneBank โดยตัวอย่างทั้งหมดจะถูกเก็บไว้ที่ State Herbarium of South Australia

* Accession Number – to be provided

ตัวอย่าง	สถานที่เก็บ	ผู้เก็บ	Accession Number
6.09.08.2.4	Heron Island, Queensland	John Huisman, Rainbo Dixon, Fred Gurgel	*
15.04.08.2.22	Lizard Island, Queensland	Fred Gurgel	*
27.08.10.1.13	Lizard Island, Queensland	Fred Gurgel, Maria Marklund	*
27.11.09.1.5	Heron Island, Queensland	Fred Gurgel	*
19.05.10.1.24	Ningaloo Reef, Western Australia	Fred Gurgel, Gareth Belton	*
15.05.10.1.20	Ningaloo Reef, Western Australia	Fred Gurgel, Gareth Belton	*
15.05.10.1.27	Ningaloo Reef, Western Australia	Fred Gurgel, Gareth Belton	*

2.2 การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอและการหาลำดับดีเอ็นเอ

ดีเอ็นเอที่สกัดได้ถูกนำมาเพิ่มจำนวนด้วยวิธีพีซีอาร์และไพรเม่อร์ตามวิธีการของ Leliaert และคณะ [5] ซึ่งจะทำการพีซีอาร์สองครั้ง ครั้งแรกใช้ไพรเม่อร์ Pana1FL และ Pana5FL ซึ่งครอบคลุมส่วนปลายของ Small Subunit (SSU) rDNA และ Large Subunit (LSU) rDNA จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาทำพีซีอาร์รอบสอง โดยแบ่งเป็นสองชุด ชุดแรกจะครอบคลุมส่วนของ ITS1 และบางส่วนของ 5.8S ซึ่งจะใช้ไพรเม่อร์ ITS1FL และ ITS2FL ส่วนชุดที่สองจะครอบคลุมส่วนของ 5.8S และ ITS2 ซึ่งจะใช้ไพรเม่อร์ ITS3FL และ Pana4FL ผลิตภัณฑ์จากขั้นตอนพีซีอาร์ที่ได้จะนำไปหาลำดับดีเอ็นเอโดยนำส่ง Australian Genome Research Facility Ltd (AGRF) สาขารัฐ South Australia

2.3 การจัดการลำดับดีเอ็นเอและการวิเคราะห์เชิงวงศ์วานวิวัฒนาการ

ลำดับดีเอ็นเอที่ได้จะถูกนำมาจัดเรียงด้วยโปรแกรม Geneious 5.5.9 [6] จากนั้นจึงทำการวิเคราะห์ทางวิวัฒนาการเชิงโมเลกุล เริ่มต้นจากการหา Nucleotide Substitution Models ที่เหมาะสมกับชุดข้อมูลด้วยการใช้โปรแกรม jModelTest 2.1.4 [7] หลังจากที่ได้ Model ที่เหมาะสม ชุดข้อมูลลำดับดีเอ็นเอจะถูกนำไปวิเคราะห์และสร้างแผนภูมิวงศ์วานวิวัฒนาการโดยวิธี Maximum Likelihood ด้วยโปรแกรม PhyML [8] โดยมี Boostrap support จำนวน 100 รอบ ส่วนการวิเคราะห์และสร้างแผนภูมิด้วยวิธี Bayesian Inference จะใช้โปรแกรม MrBayes [9] โดยตั้งค่าให้มีการวิเคราะห์ 4 ครั้ง รวมทั้งหมด 3,000,000 generations โดยพิมพ์ผลทุกๆ 1,000 generations และ ตั้งค่า burn-in ไว้ที่ 10% เมื่อได้ผลจะตรวจสอบว่าผลที่วิเคราะห์ได้มีข้อมูลเพียงพอหรือไม่ด้วยการตรวจสอบ effective sampling size ว่ามีเกิน 1,000

การหาความแตกต่างระหว่างลำดับดีเอ็นเอ (p-distance) จะคำนวณด้วยโปรแกรม MEGA6 [10] โดยแยกกลุ่มของลำดับดีเอ็นเอตามชนิดที่ Leliaert และคณะ [5] ได้เสนอ เพื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างระหว่างชนิดที่ได้รายงานก่อนหน้า กับลำดับดีเอ็นเอของการศึกษานี้

3. ผลการศึกษาและวิจารณ์ผล

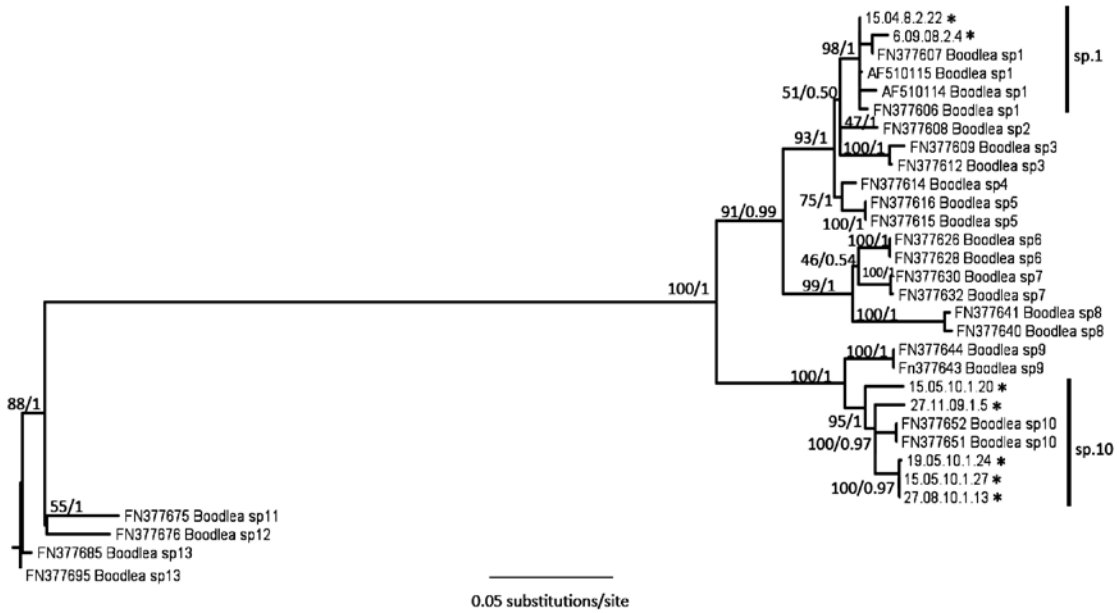
3.1 การจัดเรียงลำดับดีเอ็นเอและวิเคราะห์ผลเชิงวงศ์วานวิวัฒนาการ

ลำดับดีเอ็นเอจำนวน 31 sequences ถูกนำมาวิเคราะห์ โดยประกอบไปด้วยลำดับดีเอ็นเอจากการศึกษานี้

7 sequences และลำดับดีเอ็นเอที่เป็นตัวแทนของชนิดใน *Boodlea* complex ทั้ง 13 ชนิด 24 sequences โดย Nucleotide Substitution Models ที่เหมาะสมกับชุดข้อมูลคือ General Time Reversible (GTR) โดยพิจารณาค่า Gamma ร่วมด้วย

3.2 แผนภูมิวงศ์วานวิวัฒนาการ

แผนภูมิวงศ์วานวิวัฒนาการที่ถูกสร้างด้วยวิธี Maximum Likelihood ได้แสดงในรูปที่ 1 โดยตัวเลขที่อยู่เหนือเคลดคือค่า Boostrap support จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี Maximum Likelihood (ML) ตามด้วยค่า Posterior Probability จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี Bayesian Inference



รูปที่ 1 แผนภูมิวงศ์วานวิวัฒนาการที่วิเคราะห์โดยโปรแกรม PhyML ชื่อที่ตามด้วย * คือตัวอย่างที่มาจากการศึกษาครั้งนี้ ซึ่งรวมกลุ่มอยู่กับ Boodlea sp.1 และ 10 ค่าที่อยู่บนเคลดคือ ค่าสนับสนุนทางสถิติ Boostrap Support จากการวิเคราะห์ Maximum Likelihood และค่า Posterior Probability จากการวิเคราะห์ Bayesian Inference ตามลำดับ

การวิเคราะห์ด้วยวิธี Bayesian Inference ให้แผนภูมิวงศ์วานวิวัฒนาการที่มีลักษณะเช่นเดียวกับวิธี Maximum Likelihood จึงนำเสนอแผนภูมิเพียงภาพเดียวเท่านั้น

จากแผนภาพวงศ์วานวิวัฒนาการพบว่า ตัวอย่างจากการศึกษานี้ 2 ตัวอย่างอยู่ร่วมเคลดเดียวกับ *Boodlea* sp.1 โดยมีค่า Boostrap support และ Posterior Probability คือ 98 และ 1 ตามลำดับ ซึ่งถือเป็นค่าที่ค่อนข้างสูงแสดงให้เห็นว่าตัวอย่างสาหร่ายดังกล่าวควรถูกจัดให้อยู่ในชนิด *Boodlea* sp. 1

นอกจากนั้น ตัวอย่างจากการศึกษาในครั้งนี้อีก 5 ตัวอย่าง พบว่าอยู่ร่วมกับเคลด *Boodlea* sp. 10 โดยมีค่า Boostrap support และ Posterior Probability คือ 95 และ 1 ตามลำดับ ซึ่งถือเป็นค่าที่ค่อนข้างสูงแสดงให้เห็นว่าตัวอย่างสาหร่ายดังกล่าวควรถูกจัดให้อยู่ในชนิด *Boodlea* sp. 10 โดยภายในเคลดดังกล่าวพบเคลดย่อย (subclade) ภายใน เมื่อพิจารณาภายในเคลดย่อยที่ประกอบไปด้วยตัวอย่าง 3 ตัวอย่างจากการศึกษานี้ ได้แก่ 27.8.10.1.13, 15.5.10.1.27 และ 19.5.10.1.24 พบว่าทั้ง 3 ตัวอย่าง มีสองตัวอย่างเก็บจากจุดเดียวกันคือ Ningaloo Reef ทางด้านตะวันตกของออสเตรเลีย ส่วนอีกตัวอย่างถูกเก็บจาก Heron Island ทางด้านตะวันออกของออสเตรเลีย ซึ่งชี้ให้เห็นว่าการรวมกันเป็นเคลดย่อย ไม่ได้สัมพันธ์กับความพื้นที่ที่เก็บ เพราะ

หากเป็นเช่นนั้น ตัวอย่างทั้งสามตัวอย่างจาก Ningaloo Reef ควรอยู่รวมกันในเคลดย่อยดังกล่าว

3.3 ความแตกต่างในลำดับดีเอ็นเอ

ความแตกต่างในลำดับดีเอ็นเอหรือค่า p-distance ของตัวอย่าง *Boodlea* sp. 1 จากการศึกษานี้ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่าง *Boodlea* sp. 1 ตัวอย่างอื่นๆ อยู่ระหว่าง 0-0.025 หากเปรียบเทียบจากรายงานก่อนหน้านี้ [5] พบว่าความแตกต่างภายในชนิดของ *Boodlea* sp.1 อยู่ที่ 0-0.02 เท่านั้น ซึ่งค่าความแตกต่างนี้สูงกว่าที่เคยรายงานไว้ และซ้อนทับกับความแตกต่างระหว่างชนิด ซึ่งระบุว่า ความแตกต่างระหว่างชนิดของ *Boodlea* sp. 1 กับ *Boodlea* sp. 2,3 และ 4 ซึ่งอยู่ร่วมกันในเคลด A ที่ Leliaert และคณะ [5] ได้จัดไว้ คือ 0.02-0.04

ความแตกต่างในลำดับดีเอ็นเอของชนิด *Boodlea* sp. 10 จากการศึกษานี้ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่าง *Boodlea* sp. 10 อื่นๆ อยู่ระหว่าง 0-0.028 ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบจากรายงานก่อนหน้านี้ [5] ที่พบว่าภายใน *Boodlea* sp. 10 นั้น ความแตกต่างภายในชนิดอยู่ที่ 0-0.04 แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างของการศึกษานี้ยังมีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาก่อนหน้า

เมื่อพิจารณาความแตกต่างของลำดับดีเอ็นเอเพื่อจำแนกชนิดของสาหร่ายในกลุ่มนี้ พบว่ามีความคลุมเครือ กล่าวคือ เปอร์เซ็นต์ความแตกต่างของลำดับดีเอ็นเอภายในชนิด (p-distance within species) กับระหว่างชนิด (p-distance between species) มีความทับซ้อนกันอยู่ ทำให้ยากที่จะหาตัวเลขที่แน่นอนเพื่อใช้สำหรับจำแนกชนิดของสาหร่ายในกลุ่มนี้

การทับซ้อนกันระหว่างเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างของลำดับดีเอ็นเอภายในชนิด (p-distance within species) กับระหว่างชนิด (p-distance between species) นั้นพบได้ในสาหร่ายสีเขียวหลายกลุ่ม [11, 12] แต่อย่างไรก็ดี การศึกษาความหลากหลายของสาหร่าย โดยเฉพาะในกลุ่มที่มีความยืดหยุ่นทางสัณฐานวิทยา (phenotypic plasticity) นั้น การศึกษาในด้านวิวัฒนาการเชิงโมเลกุลจะเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพในการช่วยในการจำแนกชนิดและความใกล้ชิดในเชิงวิวัฒนาการของสาหร่ายได้ดีกว่าการใช้สัณฐานเพียงอย่างเดียว

3.4 ความหลากหลายของสาหร่ายสีเขียวที่อยู่ร่วมกับฟองน้ำ

การศึกษานี้พบว่านอกจาก *Boodlea* sp. 1, sp. 3, sp. 6 และ sp. 7 แล้ว ยังมี Boodlea sp. 10 อยู่ร่วมกับฟองน้ำ นอกจากนั้นยังพบว่าสาหร่ายสีเขียวกลุ่มที่อยู่รวมกับฟองน้ำ ยังพบรูปแบบที่อยู่เป็นอิสระได้อีกด้วย โดยสมาชิกของ *Boodlea* sp. 10 หากจำแนกทางสัณฐานจะประกอบไปด้วยสกุล *Boodlea*, *Phyllodictyon* และ *Cladophoropsis* จึงเป็นที่น่าสนใจว่า *Cladophoropsis vaucheriiformis* ที่เข้าใจแต่เดิมว่ามีเพียงชนิดเดียวที่อยู่กับฟองน้ำได้ อาจมีความหลากหลายมากกว่าที่นักวิทยาศาสตร์เคยคาดการณ์ [3, 4] จากการศึกษานี้และการศึกษาของ Leliaert และคณะ [5] มีตัวอย่างจากออสเตรเลีย แอฟริกา และมัลดีฟ ตัวอย่างจากประเทศไทยและประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ที่พบสาหร่ายที่อยู่รวมกับฟองน้ำเช่นกัน ยังไม่ได้รับการศึกษา ซึ่งหากมีการศึกษาที่ครอบคลุมมากขึ้น อาจพบความหลากหลายของสาหร่ายที่อยู่รวมกับฟองน้ำมากขึ้น

4. สรุปผลการทดลอง

จากผลการศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายสีเขียวในกลุ่ม *Boodlea* complex ทำให้พบว่าวิธีทางวิวัฒนาการเชิงโมเลกุลสามารถใช้ในการจำแนกและเผยให้เห็นความหลากหลายที่ซ่อนเร้น โดยเฉพาะสาหร่ายที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาค่อนข้างซับซ้อนและยืดหยุ่น การศึกษานี้พบว่ามี *Boodlea* sp. 10 ที่สามารถอยู่ร่วมกับฟองน้ำ นอกจากที่เคยรายงานว่า *Boodlea* sp. 10 นั้นพบเฉพาะที่อยู่เป็นอิสระ

5. ข้อเสนอแนะ

นอกจากการศึกษาความหลากหลายของสาหร่าย การศึกษาความหลากหลายและชนิดของฟองน้ำก็มีความสำคัญเช่นกัน เพราะจะช่วยอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างสาหร่ายสีเขียวและฟองน้ำที่อยู่ร่วมกันกลุ่มนี้ ว่ามีความจำเพาะหรือมีวิวัฒนาการร่วมกันในแบบใด เนื่องจากมีการศึกษาในเชิงสารออกฤทธิ์ของสาหร่ายที่อาศัยอยู่ร่วมกับฟองน้ำกลุ่มนี้ พบว่ามีสารออกฤทธิ์ที่มีประโยชน์ เช่น ออกฤทธิ์ต้านมะเร็งเม็ดเลือดขาว [13] และต่อต้านเซลล์

เนื้องอก [14] หากมีการศึกษาและเข้าใจชีววิทยาของสาหร่ายและฟองน้ำที่อยู่ร่วมกันกลุ่มนี้ จะเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาด้านอื่นๆต่อไป

6. เอกสารอ้างอิง

1. Trautman, D.A. and Hinde, R., 2002, "Sponge /algal Symbioses : A Diversity of Associations," in *Symbiosis : Mechanisms and Model Systems*, Kluwer Academic Publishers, Netherlands.

2. Calcinai, B., Cerrano, C, Totti, C., Romagnoli, T. and Bavestrello, G., 2006, "Symbiosis of *Mycale* (*Mycale*) *vansoesti* sp. nov. (Porifera, Demospongiae) with a Coralline Alga from North Sulawesi (Indonesia)," *Invertebrate Biology*, 125 (3), pp. 195–204.

3. Leliaert, F. and Coppejans, E., 2006 "A revision of *Cladophoropsis* Børgesen (Siphono-cladales, Chloro- phyta)," *Phycologia*, 45 (6), pp. 657-679.

4. Guiry, M.D. and Guiry, G.M., 2015, AlgaeBase, World-wide Electronic Publication, National University of Ireland, Galway, http://www.algaebase.org; searched on 24 March 2015.

5. Leliaert, F., Verbruggen, H., Wysor, B. and De Clerck, O., 2009, "DNA Taxonomy in Morphologically Plastic Taxa : Algorithmic Species Delimitation in the *Boodlea* Complex (Chlorophyta: Cladophorales)," *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 53 (1), pp. 122–133.

6. Drummond, AJ., Ashton, B., Buxton, S., Cheung, M., Cooper, A., Duran, C., Field, M., Heled, J., Kearse, M., Markowitz, S., Moir, R., Stones-Havas, S., Sturrock, S., Thierer, T. and Wilson, A., 2010, Geneious v5.5, Available at http://www.geneious.com. [Accessed 21 June 2012].

7. Posada, D., 2008, "jModelTest : Phylogenetic Model Averaging," *Molecular Biology and Evolution*, 25 (7), pp. 1253-1256.

8. Guindon, S., Lethiec F., Duroux, P. and Gascuel, O., 2005, "PHYML Online,a Web Server for Fast Maximum Likelihood-based Phylogenetic Inference," *Nucleic Acids Research*, 33, pp. 557-559.

9. Ronquist, F. and Huelsenbeck, J.P., 2003, "MrBayes 3 : Bayesian Phylogenetic Inference under Mixed Models," *Bioinformatics*, 19 (12), pp. 1572-1574.

10. Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. and Kumar, S., 2013, "MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0," *Molecular Biology and Evolution*, 30 (10), pp. 2725-2729.

11. De Clerck, O., Verbruggen, H., Huisman, J.M., Faye, E.J., Leliaert, F., Schils, T. and Coppejans, E., 2008, "Systematics and Biogeography of the Genus *Pseudocodium* (Bryopsidales, Chlorophyta), including the Description of *P. Natalense* sp. nov. from South Africa," *Phycologia*, 47 (2), pp. 225-235.

12. Leliaert, F. and Coppejans, E., 2007, "Systematics of Two Deep-water Species from the Indo-West Pacific : *Struvea gardineri* A.Gepp & E.Gepp and *Phyllodictyon orientale* (A.Gepp & E.Gepp) Kraft & M.J.Wynne (Siphonocladales, Chlorophyta)," *Botanical Journal Linnean Society*, 153 (2), pp. 115-132.

13. Harada, H. and Kami, Y., 1998, "Dose-Dependent Selective Cytotoxicity of Extracts from Marine Green Algae, *Cladophoropsis vauchriaeformis*, Against Mouse Leukemia L1210 cells," *Biological Pharmaceutical Bulletin*, 21 (4), pp. 386–389.

14. Harada, H., Noro, T. and Kamei, Y., 1997, "Selective Antitumor Activity *in vitro* from Marine Algae from Japan Coasts," *Biological Pharmaceutical Bulletin*, 20 (5), pp. 541-546.