

شناسایی کلادهای زوگزانتله‌های همزیست با گونه‌های مرجان‌های سخت به‌روش مولکولی در حوضچه‌های جزر و مدی جزیره هنگام خلیج فارس

محمدحسن شاه‌حسینی¹، پرگل قوام مصطفوی²، سیدمحمدرضا فاطمی¹،

شاهرخ کاظم پوراوصالو³ و الناز کریمی⁴

¹دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه بیولوژی دریا، تهران، ²دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهر قدس، گروه میکروبیولوژی، شهر قدس، ³دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی گیاهی، تهران، ⁴دانش آموخته کارشناسی ارشد بیولوژی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران

چکیده

با توجه به اهمیت Zooxanthellae در پدیده سفید شدگی جوامع مرجان‌های آبسنگ ساز و به‌منظور روابط زیستی بین مرجان‌های آبسنگ ساز و جلبک‌های همزیست آنها در خلیج فارس و همچنین چگونگی پایداری و بقا مرجان‌ها در برابر شرایط نامساعد و سخت زیست‌محیطی، تعیین و شناسایی تک سلولی‌های دو تاژیکی از جنس *Symbiodinium* به‌عنوان هدف اصلی از انجام این تحقیق در نظر گرفته شده است. 5 گونه مرجان *Siderastrea savignyana*، *Cyphastrea serailia*، *Anomastrea irregulariis*، *Coscinaraea columna*، *Psammocora superficialis* از حوضچه‌های جزر و مدی جزیره هنگام در خلیج فارس (جنوب جزیره قشم) جمع‌آوری گردید. زیر واحد بزرگ ریپوزومی 28s با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) تکثیر شده و سپس آنالیز فیلوژنی سکانس زیر واحد بزرگ ریپوزومی بر اساس نرم‌افزارهای PAUP و Clustal X مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. بر روی مرجان‌های مورد مطالعه در جزیره هنگام دو کلاد متفاوت شناسایی گردید که کلاد D در 3 گونه مرجان *Coscinaraea columna*، *Cyphastrea serailia*، *Anomastrea irregulariis* و کلاد C در 2 گونه *Psammocora superficialis*، *Siderastrea savignyana* وجود داشته است. این مطالعه مشخص نمود که به‌دلیل وجود استرس‌های محیطی و نوسانات شرایط زیستی در ناحیه ساحلی به‌خصوص در حوضچه‌های جزرومدی، وجود کلادهای متفاوت و مقاوم D و C طبیعی به‌نظر می‌رسد.

واژه‌های کلیدی: جزیره هنگام، خلیج فارس، روش مولکولی، زوگزانتله‌های همزیست، مرجان‌های سخت.

مقدمه

بسیار متنوع بوده و نقش مهمی در تأمین انرژی و کربنات کلسیم برای مرجان‌ها و در نتیجه آهکی شدن آنها ایفا می‌کنند تا جایی که برخی از مرجان‌ها برای بقا خود وابسته به تولید اولیه این همزیست‌ها می‌باشند (Trench, 1986). با توجه به مناطق ژنومی متفاوت در زوگزانتله‌ها آنها را در 8 کلاد دسته‌بندی کرده‌اند (A-H) که این کلادها در شاخه‌های متنوعی

مرجان‌های آبسنگ ساز دارای جمعیت‌هایی از جلبک‌های تک سلولی داینوفلاژله از جنس *Symbiodinium* می‌باشند. این جلبک‌های تک‌سلولی که در اصطلاح زوگزانتله (Zooxanthellae) نامیده می‌شوند از نظر رده‌بندی

* - مسئول مکاتبه: karimi.2362@gmail.com

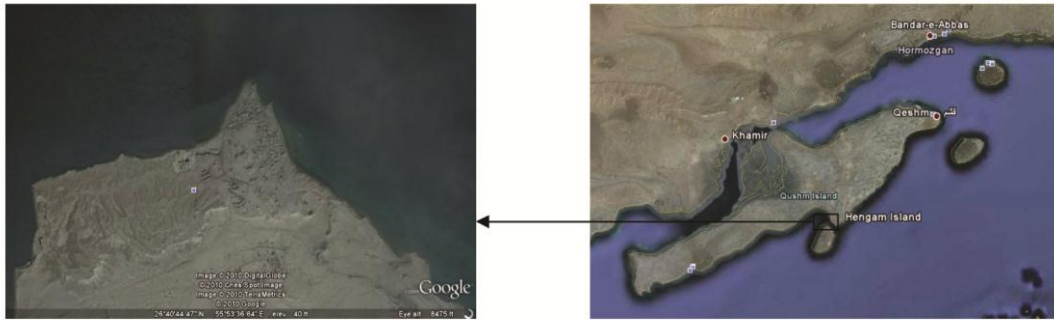
کرده است (Baker و همکاران، 2004). در کل تنوع گونه‌ای و درصد پوشش مرجانی با نزدیک شدن به مناطق ساحلی کاهش می‌یابد که می‌تواند بیانگر این نکته باشد که درصدهای آستانه شرایط محیطی، بقای مرجان‌ها را محدود کرده است (Fouda، 1997). بسیاری از مرجان‌هایی که دچار پدیده سفیدشدگی شده‌اند در نتیجه افزایش دمای آب دریاها می‌باشد و باعث می‌شود که مرجان‌ها زوگزانتله خود را از دست بدهند. سفید شدگی تهدیدی برای تمام آبسنگ‌های مرجانی دنیا محسوب می‌شود (Hoegh-Guldberg، 1999). بزرگترین پدیده سفید شدگی و مرگ و میر مرجان‌ها مربوط به ال نینو سال‌های 1996 و 1998 بود که طی این دوره آبسنگ‌های مرجانی زیادی را تحت تاثیر خود قرار داد (Wilkinson، 2000). بررسی‌ها نشان داده است که *Symbiodinium* ها می‌توانند از نظر فیزیولوژی و سازش با محیط متفاوت عمل کنند که احتمالاً ناشی از تفاوت در گونه‌های میزبان باشد (Huang و همکاران، 2006). شواهد نشان می‌دهد که *Symbiodinium* کلاد D نسبت به سایر کلاهای مشاهده شده نسبت به استرس‌های ناشی از درجه حرارت بالا مقاوم‌تر است (Rown، 2004) بنابراین حضور آنها باعث مقاومت مرجان در برابر سفید شدگی و مرگ و میر کمتر می‌شود (Chen و همکاران، 2003).

در این مطالعه کار بر روی مرجان‌های شمالی خلیج فارس که در منطقه جزرومدی جزیره هنگام واقع شده‌اند، انجام شده است و از آنجایی که شناسایی دقیق جلبک‌های همزیست فقط از طریق روش‌های مولکولی امکان‌پذیر است، در این تحقیق از روش‌های مولکولی برای شناسایی زوگزانتله‌های همزیست با مرجان‌های سخت در برکه‌های جزر و مدی هنگام استفاده شده است. هدف از این مطالعه بررسی تنوع ژنتیکی *Symbiodinium* در گونه‌های

از جانوران مانند گزنه‌سانان، نرم‌تنان و روزنه‌داران دیده می‌شوند (Van Oppen، 2004).

انواع مختلف *Symbiodinium* فیزیولوژی متفاوتی داشته و این مسئله نقش مهمی در بقای مرجانها ایفا می‌کند (Baker، 2003). امروزه بیشتر مطالعات مربوط به تنوع زیستی *Symbiodinium* در دریای کارائیب و اقیانوس آرام انجام شده است. تنها مطالعه صورت گرفته در سواحل ایرانی خلیج فارس بر روی زوگزانتله‌های مرجان‌های سخت غالب اطراف جزیره کیش و لارک بوده که در این مطالعات کلاد D و C90 به‌عنوان کلاهای غالب گزارش شده است (Mostafavi و همکاران، 2007). همچنین بر روی مرجان‌های نرم در سواحل شمالی خلیج فارس در جزیره لارک کلاد D به‌عنوان کلاد غالب گزارش شده است (آزادبادی، 1388). در سواحل جنوبی خلیج فارس نیز مطالعاتی بر روی زوگزانتله‌های مرجان‌های سخت انجام شد که کلاد D، کلاد غالب در این ناحیه بوده است. کلاد A و C نیز در برخی گونه‌ها یافت شده است (Baker و همکاران، 2004).

خلیج فارس دریای حاشیه‌ای و نیمه بسته‌ای است که عمق متوسط آن در حدود 35 متر می‌باشد. کم عمقی در این دریا باعث شده است تا شدیداً تحت تأثیر متغیرهای جوی قرار گیرد. با توجه به احاطه شدن توسط ارتفاعات در ناحیه شمالی (سواحل ایرانی) و سرزمین‌های پست در ناحیه جنوبی (سواحل عربی)، میزان تبخیر در آن تشدید و باعث افزایش تبادلات آبی از تنگه هرمز می‌شود (Hunter، 1985). آبسنگ‌های مرجانی خلیج فارس به‌دلیل قرارگیری در خارج از مرز جغرافیایی 23/5 درجه استوایی دارای ویژگی‌های خاصی هستند. شرایط سخت زندگی در خلیج فارس به‌دلیل بالا بودن میزان شوری، درجه حرارت و کدورت، مرجان‌ها را دچار استرس زیادی



شکل ۱- نقشه منطقه مورد بررسی در شمال جزیره هنگام

آزمایشگاه انتقال داده شدند و در آنجا با کمک بافر DNAB (NaCl 0.4M, EDTA 50 mM, pH=8) و دستگاه شست و شو با هوا (Air Brush) توده لزوج زوگزانتله جدا شد و در لوله‌های فالكون‌های 50 ml در دمای 20- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای استخراج DNA ابتدا نمونه‌ها سانتریفوژ شدند و تشکیل دو فاز متفاوت را دادند، سپس به قسمت ته‌نشین شده بافر DNAB و SDS 10 درصد اضافه و 1/5 ساعت داخل بن ماری گذاشته شد تا دیواره‌های سلولی جلبک پاره شود. سپس به آنها پروتئیناز K اضافه و داخل بن ماری گذاشته شد و از روش CTAB و کلروفرم برای انجام عمل استخراج استفاده شد (Baker, 2001).

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR): DNA مورد نظر جهت انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز مورد استفاده قرار می‌گیرد. ژن هدف در اینجا زیر واحد بزرگ ریبوزومی هسته‌ای (Large subunit rRNA LSU) بود و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی با ترادف زیر واکنش PCR انجام شد:

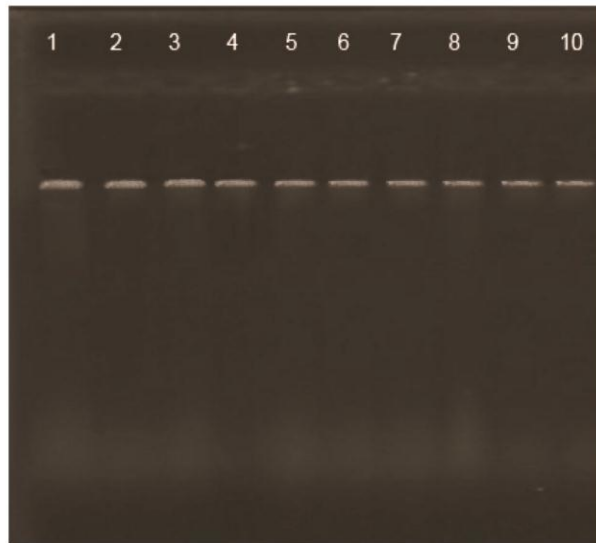
Mos Forward (ATA TAA GTA AGC GGA GGA AAA G)
Mos Reverse (CTT TCG GGT CCT AAC ACA CAT G)

مرجانی جزر و مدی جزیره هنگام در مقایسه با *Symbiodinium* های جوامع مرجانی سراسر جهان است و با توجه به اهمیت زوگزانتله در پدیده سفیدشدگی و به‌منظور درک ارتباط بین مرجان‌های آبسنگ ساز و جلبک‌های همزیست آنها در خلیج فارس و چگونگی پایداری و بقا مرجان‌ها در برابر شرایط زیست محیطی حاد و مزمن باید اقدام به تعیین و شناسایی روش‌هایی برای حفظ این ذخائر با ارزش کرد.

مواد و روش‌ها

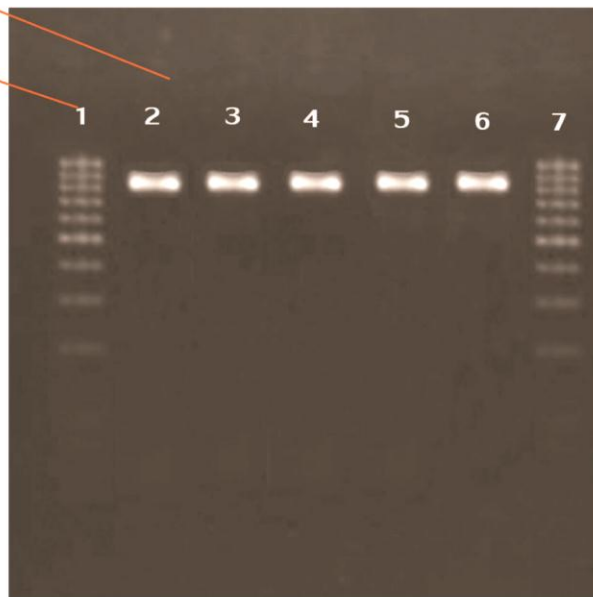
نمونه‌برداری و استخراج DNA: نمونه‌برداری از سواحل بین جزر و مدی جزیره هنگام با تاکید بر سواحل صخره‌ای واقع در 55° 54' 40" تا 55° 54' 55" طول شرقی و 26° 36' 43" تا 26° 41' 15" عرض انجام گرفت (شکل 1). برای انجام این تحقیق ابتدا جنس‌های مورد نظر دارای زوگزانتله، شناسایی شده سپس نمونه‌برداری انجام گرفت و گونه‌های مرجان جمع آوری شده عبارتند از: *C. serailia* که مربوط به خانواده Faviidae و گونه‌های *C. columna*, *S. savignyana*, *A. irregulariis* و *P. superficialis* مربوط به خانواده Siderastreidae می‌باشند. از هر گونه مرجان 3 کلنی مجزا انتخاب و از هر کلنی 3 تکرار مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌ها به

- 1,2 : *Psammocora superficialis*
 3,4 : *Siderastrea savignyana*
 5,6 : *Cyphastrea serailia*
 7,8 : *Anamastrea irregulariis*
 9,10: *Coscinaraea columna*



شکل ۲- DNA استخراجی از زوگزانتله مرجانهای سخت (دو بار تکرار)

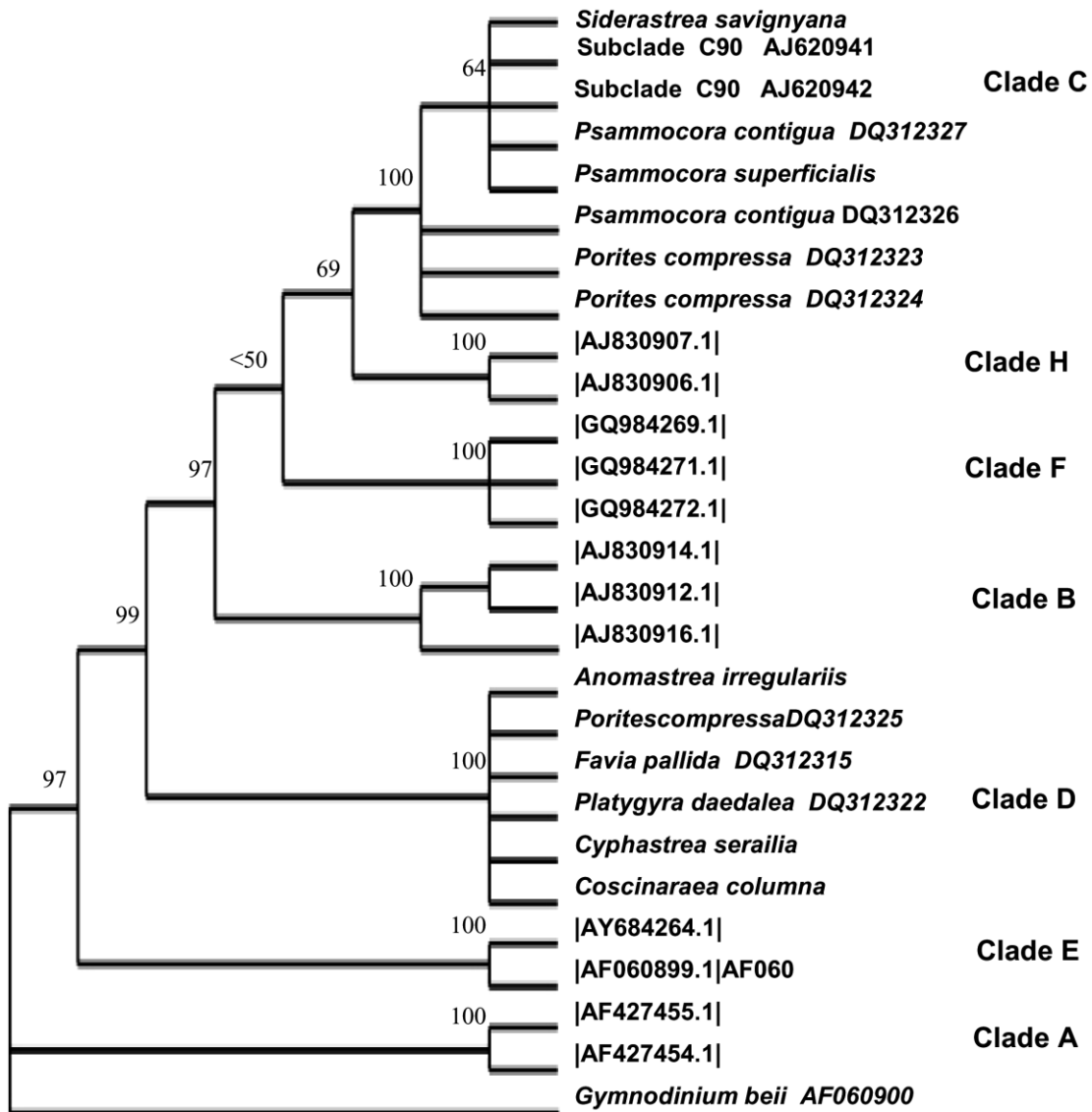
- 780 bp
 500 bp
- 1, 7: Ladder 100 bp
 2: *Psammocora superficialis*
 3: *Siderastrea savignyana*
 4: *Cyphastrea serailia*
 5: *Anamastrea irregulariis*
 6: *Coscinaraea columna*



شکل ۳- محصولات RCP حاصل از زوگزانتله مرجانهای سخت

30 سیکل و یک مرحله نهایی ساخت رشته مکمل به مدت 5 دقیقه در 72 درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. سپس محصول PCR بدست آمده بر روی ژل آگارز 1/5 درصد در کنار سایز مارکر فرمتاس (100 bp DNA Ladder) الکتروفورز و با اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شد (Baker, 2001).

واکنش PCR شامل 1 μ l از DNA الگو، 0/5 μ l از dNTP، 0/5 μ l از Taq DNA Polymerase (Cinnagen Ampli-Taq)، 0/3 μ l از واکنش در حجم کل 25 μ l استفاده شد و این حجم واکنش در دستگاه ترموسایکلر با پروفایل حرارتی 30 ثانیه در 94 درجه سانتی‌گراد، یک دقیقه در 64 درجه سانتی‌گراد، 30 ثانیه در 72 درجه سانتی‌گراد برای



شکل 4- درخت Maximum Parsimony از زنتوپ‌های DNA ریوزومی s28 از مرجان‌های جزیره هنگام (اعداد شاخه‌ها ارزش‌های Bootstrap یا حدود اطمینان کلادها را نشان می‌دهد)

کلاد B (GQ984269, GQ984271, GQ984272)	توالی یابی و آنالیز فیلوژنی: تعیین ترادف DNA در هر دو جهت با استفاده از روش ختم زنجیره (Dideoxy Chain Termination) و توسط کمپانی ماکروژن در کشور کره انجام شد. سکانس‌های مورد استفاده در این جا عبارتند از :
کلاد C (AJ620941, AJ620942, DQ312326, DQ312327, DQ312324, DQ312323)	کلاد A
کلاد D (DQ312325, DQ312322, DQ312315)	(AF427455, AF427454)

کلا D E	0/880 و طول درخت (Tree length) برابر با 619 گام است (شکل 3).	(AY684264, AF060899)
کلا F	در بررسی‌های انجام شده در این آزمایش کلاهای <i>Symbiodinium</i> متعلق به گروه کلاهای D و C می‌باشند که در گونه‌های <i>A. irregulariis</i> , <i>C. columna</i> و <i>C. serailia</i> کلا D و در گونه‌های <i>P. superficialis</i> و <i>S. savigniana</i> کلا C مشاهده شده است.	(AJ830916, AJ830912, AJ830914)
کلا G		(AJ872107, AJ872108)
کلا H		(AJ830907, AJ830906)

و درخت بر ریشه *Gymnodinium* (AF060900) رسم گردید.

توالی‌یابی به صورت مستقیم در مورد محصولات PCR به دست آمده از پرایمرهای MOS انجام شد. سکانس‌ها در بانک ژنی مورد مقایسه قرار گرفت. تجزیه و تحلیل فیلوژنی سکانس‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای PAUP و Clustal X انجام شد.

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر که بر روی برخی از مرجان‌های آبسنگ ساز در حوضچه‌های جزرو مدی جزیره هنگام انجام شد دو نوع کلا متفاوت شناسایی شده است. این گونه‌ها عبارتند از: *S. savigniana*, *A. irregulariis*, *C. columna* و *P. superficialis* که در دو گونه اول کلا C و در سه گونه بعدی کلا D غالب‌ترین جمعیت *Symbiodinium*‌ها را در این ناحیه داشته‌اند.

کار بر روی تنوع زوگزانته در مرجان‌های آبسنگ ساز حاشیه شمالی خلیج فارس توسط Mostafavi و همکاران (2007) بر روی 8 گونه مرجان *Cyphastrea microphthalma*, *Acropora clathrata*, *Favia pallida*, *Platygyra daedalea*, *Turbinaria reniformes* و *Psammocora contigua*, *Pavona decussate* و *Porites compressa* جزایر کیش و لارک صورت گرفت که در جزیره کیش کلاهای D و C₉₀ غالب بوده است. همچنین در جزیره لارک 5 گونه: *F. pallida*, *C. microphthalma*, *A. clathrata* و *P. compressa* مورد بررسی قرار گرفتند و کلا D، کلا غالب در این گونه‌ها بوده است (Mostafavi و همکاران، 2007)

نتایج

DNA‌های استخراج شده از جلبک‌های همزیست با 5 گونه مرجان *C. serailia*, *A. irregulariis*, *S. savigniana* و *P. superficialis* و *C. columna* خالص بوده و فاقد پروتئین در چاهک می‌باشد و برای انجام واکنش PCR مناسب می‌باشد (شکل 2).

پس از انجام شدن واکنش PCR بر روی ژن RNA ریبوزومی *Symbiodinium 28s* محصولی به اندازه 780 جفت باز برای پرایمرها MOS به دست آمد که کاملاً خالص و بدون هیچ گونه باند اضافی بود. باندهای به دست آمده از 5 گونه مرجان تقریباً یکسان و در حدود (+++) دیده شد (شکل 3).

از نتایج درخت MP (Maximum Parsimony) مشخص شد که ضریب سازگاری یا CI (Consistency Index) برابر با 0/698، ضریب گروه‌پذیری یا RI (Retention Index) برابر با

و *Psammocora contigua* دارای کلاسد C₉₀ می‌باشند. این کلاسد نوعی از کلاسد C می‌باشد که تنها در فرامینفراهای شرق اقیانوس آرام یافت شده است (Pochon و همکاران، 2004). بر روی گونه *Psammocora superficialis* که از خانواده Siderastreidae می‌باشد مطالعه‌ای در شرق اقیانوس آرام بوسیله روش RFLP صورت گرفت که مشخص کرد این گونه دارای کلاسد C می‌باشد (Baker و Rowan، 1997). این گونه مرجان نیز در تحقیق حاضر مورد بررسی قرار گرفت و همین نتیجه به دست آمد. همچنین با بررسی‌های انجام شده بر روی 86 گونه از مرجان‌های آبسنگ ساز در استرالیا (Great Barrier Reef) بیشتر از 85 درصد از آنها متعلق به کلاسد C بودند و باقیمانده مرجان‌ها دارای کلاسد A، B و D بودند (Lajeunesse و همکاران، 2003). کلادهای C بیشتر در عرض‌های جغرافیایی گرمسیری وجود دارند و نشان‌دهنده مقاومت این کلاسد در برابر درجه حرارت‌های بالا است. این کلاسد در اقیانوس آرام غالب است (Baker و Rowan، 1997). یکی از ویژگی‌های کلاسد C مقاومت آن در برابر سفیدشدگی می‌باشد و احتمالاً تحمل درجه حرارت‌های بالا را نیز داشته باشد (Rowan و همکاران، 1997).

کلادهای *Symbiodinium* مقاومت‌های مختلفی در برابر سفیدشدگی دارند و در بین کلادها کلاسد D بیشترین مقاومت را دارد و این‌طور گزارش شده است که ترتیب مقاومت کلادها به صورت زیر می‌باشد (Glynn، 2006): A < B < C < D.

بسیاری از مرجان‌ها برای بقاء خود وابسته به جلبک همزیست خودشان هستند، ولی اگر این جلبک تحت فشار و استرس در درجه حرارت‌های بالاتر از حد نرمال قرار گیرد، بر مکانیسم فتوسنتزی *Symbiodinium* تأثیر مخربی گذاشته و منجر به از بین رفتن *Symbiodinium*

مطالعاتی که Baker و همکاران (2004) بر روی زوگزانته‌های همزیست با گونه‌های مرجانی در حاشیه جنوبی خلیج فارس در سواحل عربستان انجام دادند مشخص کرد که کلاسد غالب در آبسنگ‌های مرجانی این ناحیه کلاسد D می‌باشد و کلادهای A و C نیز شناسایی شدند که کلاسد غالب در حدود 63 درصد از کل آبسنگ‌های مرجانی این ناحیه را پوشش می‌دهد (Baker و همکاران، 2004).

شناسایی زوگزانته‌های همزیست بر روی 3 گونه *Simularia erecta*، *Sarcophyton minusculum* و *Simularia* sp. از مرجان‌های نرم غالب در جزیره لارک نیز انجام شد که کلاسد غالب در این گونه‌ها D گزارش شد (آزادبادی، 1388). غالب بودن کلاسد D در خلیج فارس می‌تواند نشانی از سازش این کلاسد در برابر فاکتورهای نامساعد محیطی آب‌های خلیج فارس باشد. یکی از مهمترین ویژگی‌هایی که می‌توان مشخصه کلاسد D دانست مقاومت این کلاسد در برابر درجه حرارت‌های بالا است (Rowan، 2004). بر اساس آزمایشات انجام شده مشخص گردیده است که سیستم فتوسنتزی کلاسد D مقاومت بالاتری را در برابر حرارت‌های زیاد نسبت به سایر کلادها نشان می‌دهد (Brown و Coles، 2003). در نتیجه غالبیت کلاسد D در خلیج فارس که تحت تأثیر تغییرات شدید دمایی و محیط خشک اطرافش است دور از ذهن نمی‌باشد.

در سال 2004 بر اساس مطالعاتی که بر روی سواحل جنوبی خلیج فارس در حاشیه عربستان انجام شده بود مشخص شد که کلاسد C به صورت همزیست با *Psammocora* و *Porites* نیز وجود دارد (Baker و همکاران، 2004). همچنین Mostafavi و همکاران (2007) در سواحل شمالی خلیج فارس بر روی جزیره کیش و لارک مطالعاتی داشتند که مشخص شد دو گونه *Porites compressa*

یک سری از سازش‌هایی باشند تا بتوانند با استرس‌های ناشی از زمان جزر مقابله کنند. استخرهای جزرومدی نمی‌توانند یک زیستگاه جزر و مدی را از خود نشان بدهند، زیرا در زمان سیکل جزرومد در معرض هوا قرار نمی‌گیرند و مقداری آب دریا در گودال‌ها باقی می‌ماند ولی با این حال فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی در استخرهای جزرومدی تغییر می‌کند. سه فاکتور فیزیکی که در استخرهای جزرومدی بسیار متنوع است عبارتند از: دما، شوری، تراکم اکسیژن (Nybakken, 2000). بر روی مرجان‌های نمونه‌برداری شده در زمان جزر چیزی در حدود کمتر از یک متر آب قرار داشته که با کاهش آب در زمان جزر در این حوضچه‌ها میزان نفوذ نور به آنها متفاوت خواهد بود و میزان دمای آب بالا خواهد رفت که این یکی از استرس‌هایی می‌باشد که مرجان با آن مواجه است و همانطور که اشاره شد، بالا رفتن دما سبب خارج شدن جلبک همزیست شده و موجب سفیدشدگی و در نهایت مرگ میزبان می‌شود. چون این موجودات ساعاتی از شبانه روز را در مجاورت استرس‌های محیطی سپری می‌کنند، باید بتوانند سازش خود را با داشتن کلاد مقاومی نشان دهند و گونه‌های مورد بررسی به‌خوبی نشان دادند که با داشتن کلاد مقاوم D و C در حوضچه‌های جزرومدی می‌توانند در برابر استرس‌های ناشی از محیط در زمان جزر مقاومت داشته باشند. با توجه به این که تاکنون شناسایی کلاهای زوگزانته‌های همزیست با مرجان‌ها در حوضچه‌های جزر و مدی در ایران و همچنین در سایر نقاط جهان صورت نگرفته و این تحقیق برای اولین بار است که انجام می‌شود، در نتیجه به‌دلیل عدم وجود تحقیقات مشابه، در حال حاضر امکان مقایسه نتایج حاصله وجود ندارد.

و در نتیجه باعث سفیدشدگی مرجان (Bleaching) می‌شود (Goulet, 2006).

آب‌سنگ‌های مرجانی در خلیج فارس به‌دلیل قرارگیری در عرض‌های جغرافیایی بالا تحت تأثیر درجه حرارت زیاد (Fadlallah و Coles, 1991؛ Downing, 1985؛ Shinn, 1976)، شوری و کدورت هستند (Sheppard و Sheppard, 1991) و بیشتر در معرض سفیدشدگی قرار می‌گیرند. آب‌سنگ‌های مرجانی ایران در طی سال‌های 98-1996 میلادی. پس از بروز پدیده‌ی ال نینوی جهانی در معرض سفیدشدگی شدیدی قرار گرفتند (Wilkinson, 2000) و همچنین در مرداد سال 1386 بر اثر افزایش ناگهانی دما، پدیده سفیدشدگی عظیمی در آب‌های شمال خلیج فارس رخ داد که تأثیر کمی بر روی جنوب خلیج فارس نیز داشته است.

بقای متفاوت مرجانها می‌تواند به‌مقاومت کلنی مرجان‌ها، مقاومت زوگزانته و یا مقاومت هر دو بستگی داشته باشد (Brown و همکاران, 2002). آیا غالبیت کلاد D در خلیج فارس می‌تواند به‌دلیل حضور این کلاد پس از پدیده سفیدشدگی باشد؟ و یا آیا اینکه این کلاد قبل از پدیده سفیدشدگی نیز به‌دلیل وجود شرایط استرس‌زا در خلیج فارس به‌عنوان همزیست غالب با مرجان‌ها وجود داشته است؟ ولی چون در مورد شناسایی کلاها تا قبل از سال 2004 میلادی. تحقیقی در خلیج فارس صورت نگرفته در نتیجه نمی‌توان به درستی و با قاطعیت سوالات مورد نظر را پاسخ داد.

در این مطالعه مرجان‌های نمونه‌برداری شده از حوضچه‌های موجود در پهنه جزرومدی می‌باشند که این مناطق دارای شرایط محیطی خاصی می‌باشند. موجوداتی که در این مناطق به سر می‌برند باید دارای

منابع

- 1- آزادبادی، س. 1388. شناسایی کلاهای زوگزانتله‌های همزیست با مرجان‌های نرم غالب اطراف جزیره لارک، خلیج فارس، ایران، پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران.
2. Baker, A.C., Rowan, R., Knowlton N., 1997. Symbiosis ecology of two Caribbean acroporid corals. In: Lessios HA, MacIntyre IG (eds). Proceedings of the 8th International Coral Reef Symposium, Vol. 2. Smithsonian Tropical Research Institute, Balboa, Panama, pp.1295-1300.
3. Baker, A.C., 2001. Reef corals bleach to survive change. *Nature*, 411, 765-766.
4. Baker, A.C., 2003. Flexibility and specificity in coral-algal symbiosis: diversity, ecology and biogeography of *Symbiodinium*. *Annu Rev Ecol Evol Syst.* 34, 661-689.
5. Baker, A.C., Starger, C.J., McClanahan, T.R., and Glynn, P.W., 2004. Corals adaptive response to climate change. *Nature*. 430, 741.
6. Brown, B.E., Downs, C.A., Dunne, R.P., and Gibb, S.W., 2002. Exploring the basis of thermotolerance in the reef coral *Goniastrea aspera*. *Mar Ecol Progr Ser* 242, 119–129.
7. Chen, C.A., Lam, K.K., Nakano, Y., and Tsai, W.S., 2003. Stable association of a stress-tolerant zooxanthellae, *Symbiodinium* clade D, with the low-temperate tolerant coral *Ouastrea crispata*, (*Scleractinia; Faviidae*) in subtropical nonreefal coral communities. *Zool Stud.* 42, 540-550.
8. Coles, S.L., and Fadlallah, Y.H., 1991. Reef coral survival and mortality at low temperatures in the Arabian Gulf: new species-specific lower temperature limits. *Coral Reefs.* 9, 231-237.
9. Coles S.L., and Brown B.E., 2003. Coral bleaching capacity for acclimatization and adaptation. *Adv Mar Biol.* 46, 183–223.
10. Downing, N., 1985. Coral reef communities in an extreme environment: the northwest Arabian Gulf. In: Gabrie C. Salvat B. Lacroix C. Toffart, J.L. (eds). Proceedings of the 5th International Coral Reef Congress, Vol. 6, Antenne Museum-EPHE Moorea, Tahiti, French Polynesia, pp. 343-348.
11. Fouada M., 1997. Overview on Land-Based sources and activities affecting the marine environment in ROPME Sea Area (DRAFT). (Prepared for UNEP AND ROPME).
12. Glynn, P.W., 2006. Coral reef bleaching: facts, hypotheses and implication. *Global Change Biol.* 2, 495-509.
13. Goulet, D., 2006. Most corals may not change their symbionts. *Marine Ecology Progress Series* 321, 1-7.
14. Hoegh-Guldberg, O., 1999. Climate change, coral bleaching, and the future of the world's coral reefs. *Mar Fresh W Res.* 50, 839-866.
15. Huang, H., Dong, Z.J., Huang, L.M., and Zhang, J.B., 2006. Restriction fragment length polymorphism analysis of large subunit rDNA of symbiotic dinoflagellates from scleractinian corals in the Zhubi Coral reef of the Nansha Islands. *J Integr Plant Biol.* 48, 148-152.
16. Hunter, J., 1985. A review of the residual circulation and mixing processes in the KAP Region with reference to application modeling techniques. Proceeding of the Symposium /Workshop on oceanographic modeling of the Kuwait Action Plan (KAP) Region. UNEP Regional Seas Reports and Studies, No. 70, 173-120.
17. LaJeunesse, T.C., Loh WKW, van Woessik R., Hoegh-Guldberg O., Schmidt G.W., and Fitt W.K., 2003. Low symbiont diversity in southern Great Barrier Reef corals, relative to those of the Caribbean. *Limnol Oceanogr* 48, 2046-2054.
18. Mostafavi, P.G., Fatemi, M.R., Shahhosseiny, M.H., Hoegh_Guldberg, O., and Kok Weng Loh, W., 2007. Predominance of Clade D *Symbiodinium* in shallow water Reef – Building coral off Kish and Larak Islands (Persian Gulf, Iran) *Marine Bio* 153, 25-34.
19. Nybakken, J.W., 2000. *Marine Biology, An Ecological Approach.* Addison Wesley. 481p.
20. Pochon, X., LaJeunesse, T.C., and Pawlowski, J., 2004. Biogeographic partitioning and host specialization among foraminiferan dinoflagellate symbionts (*Symbiodinium*; Dinophyta). *Mar Biol.* 146, 17-27.
21. Rown, R., 2004. Thermal adaption in reef coral symbionts. *Nature.* 430, 742.

22. Rown, R., Knowlton, N., Baker, A., and Jara, J., 1997. Landscape ecology of algal symbionts creates variation in episodes of coral bleaching. *Nature* 388, 265-269.
23. Shepperd, C., and Shepperd, A. 1991. Corals and coral communities of Arabia Fauna of Saudi Arabia 12, 3-170.
24. Shinn, E.A., 1976. Coral reef recovery in Florida and the Persian Gulf. *Environ. Geol.* 1, 241-254.
25. Trench R.K., 1986. Dinoflagellates in non-parasitic symbioses. In: Taylor FJR (ed) *Biology of dinoflagellates*. Blackwell, Oxford, pp. 530-570.
26. Van Oppen M.J.H., 2004. Mode of zooxanthellae transmission does not affect zooxanthellae diversity in acroporid corals. *Mar Biol.* 144, 1-7.
27. Wilkinson C., 2000. The 1997-98 mass coral bleaching and mortality events: 2 years on. In: Wilkinson C.R.(ed) *Status of coral reefs of the world: 2000*. Australian Institute of Marine Science, Townsville, pp. 21-34.

Archive of SID

Identification of symbiotic zooxanthellae clades of scleractinian coral species by PCR method in intertidal pools, Hengam Island-Persian Gulf

**M.H. Shahhosseiny¹, P. Ghavam Mostafavi², S.M.R. Fatemi¹,
Sh. Kazempour Osaloo³ and *E. Karimi⁴**

¹Dept. of Marine Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, ²Dept. of Microbiology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, ³Dept. of Plant Biology, Faculty of Biological Science, Tarbiat Modares University, Tehran, ⁴M.Sc. Graduated in Marine Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran

Abstract

Considering the importance of Zooxanthellae in bleaching phenomenon, and in order to understand the correlation between Coral reefs and symbiosis algae in the Persian Gulf and strength of reefs against environmental conditions, Symbiotic algae were studied. Materials and Methods: Samples of coral species (*Siderastrea savignyana*, *Coscinaraea columna*, *Anomastrea irregulariis*, *Cyphastrea serailia*, and *Psammocora superficialis*) were collected from intertidal pools of Hengam Island in Iranian side of the Persian Gulf (south of Qeshm Island-Hormozgan province). Partial 28S nuclear ribosomal (nr) DNA of *Symbiodinium* were amplified by Polymerase Chain Reaction (PCR) and then PCR products were analyzed the phylogenetic analyses of the LSU DNA sequences based on PAUP and Clustal X software. Results: The results showed that there are at least two clades of *Symbiodinium* from Hengam Island corals, Clade D was detected from *C. columna*, *A. irregulariis*, *C. serailia* species while clade C just found in *S. savignyana*, *P. superficialis*.

Conclusion: This study showed that the persistence of clade D and clade C *Symbiodinium* in Hengam Island is due to high environmental stresses in the intertidal pools.

Keywords: Hengam Island; Persian Gulf; PCR; Symbiotic zooxanthellae; Scleractinian corals.

*Corresponding Author; Email: karimi.2362@gmail.com