

شناسایی مورفولوژیکی و مولکولی دو کفه‌ای *Modiolus sp. PG* (Bivalvia; Mytilidae) در ساحل شیب دراز، جزیره قشم

مرضیه انعام^{۱*}، حسین ذوالقرنین^۲، محمدعلی سالاری علی‌آبادی^۳، بیتا ارچنگی^۴
محمدشریف رنجبر^۵، افشار بارگاهی^۶

- ۱- کارشناس ارشد، گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، ایران، پست الکترونیکی: anam.marzieh@gmail.com
- ۲- دانشیار، گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، ایران، پست الکترونیکی: zolgharain@kmsu.ac.ir
- ۳- دانشیار، گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، ایران، پست الکترونیکی: salari@kmsu.ac.ir
- ۴- دانشیار، گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، ایران، پست الکترونیکی: bita.archngi@gmail.com
- ۵- استادیار، گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، ایران، پست الکترونیکی: sharif.ranjbar@gmail.com
- ۶- دانشیار، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، ایران، پست الکترونیکی: abargahi@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۷/۸/۱۹

* نویسنده مسوول

تاریخ دریافت: ۹۷/۲/۲۹

چکیده

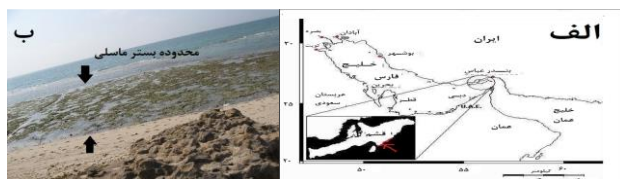
تحقیق حاضر به منظور شناسایی گونه‌های دو کفه‌ای ماسل در سواحل خلیج فارس انجام شد. اتصال محکم ماسلهای در مناطق پر تلاطم بین جزرومدی ناشی از حضور پروتئین‌های چسبنده‌ای است که پتانسیل بالقوه‌ای در حوزه بیومدیkal و صنعت دارند. در ساحل شیب دراز جزیره قشم بسترهای متراکمی از نوعی ماسل یافت شد که مورد شناسایی قرار گرفت. مقایسه ویژگی‌های مورفولوژیکی نمونه با کلید شناسایی و آنالیز مولکولی توالی ژن COI با نرم افزارهای فیلوژنی نشان داد این گونه متعلق به جنس *Modiolus*، زیرخانواده *Modiolinae* و خانواده *Mytilidae* می‌باشد و هم اکنون با نام *Modiolus sp. PG* در بانک داده ای NCBI به ثبت رسیده است.

کلمات کلیدی: ماسل، خلیج فارس، ویژگی‌های مورفولوژیکی، آنالیز مولکولی، *Modiolus sp. PG*

۱. مقدمه

پراکنده شده و به خوبی با زندگی در این محیطها سازگاری یافته‌اند (Distel et al., 2000). ماسلهای مشخصا به کمک ساختار بیسال به صخره و سایر سطوح زیر آب متصل می‌مانند (Pearce and LaBarbera, 2009). به لحاظ اکولوژیکی، این گونه‌ها با تشکیل تجمعاتی در قالب بستر ماسلی (mussel beds) زیستگاه‌های پایدار ویژه‌ای را ایجاد کرده و نقش مهمی در این

ماسلهای دریایی، متعلق به خانواده *Mytilidae*، گونه‌های رایجی از دو کفه‌ای‌ها هستند که در آبهای سراسر دنیا یافت می‌شوند (Bayne, 1976). بسیاری از آنها در آبهای ساحلی جزرومدی و زیر جزر و مدی و برخی نیز در نواحی عمیق اقیانوسی



شکل ۱: موقعیت جغرافیایی منطقه نمونه برداری (الف)، و تصویر بستر ماسلی ساحل شیب دراز (ب)

اتصال جانور به سطح بستر بسیار محکم بوده و برای جمع آوری آنها می بایست از قلم فلزی یا وسیله ای شبیه آن استفاده کرد. تعداد ۲۰ نمونه از این دوکفه ای جمع آوری شده و در الکل اتیلیک خالص نگهداری و به آزمایشگاه منتقل گردید. جهت شناسایی مورفولوژیک، گوشته صدف ها خارج و شکل ظاهری کفه ها مورد بررسی و تصویر برداری قرار گرفت. در جمعیت موجود دو نمونه متفاوت مشاهده شد که جهت بررسی ژنتیکی از بافت آبشش آنها DNA مربوطه استخراج شد (Porebski, 1997). کیفیت DNA استخراجی روی ژل آگارز ۱٪ مورد بررسی قرار گرفت. واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) جهت تکثیر قطعه حدوداً ۶۵۰ جفت بازی از ژن زیر واحد I سیتوکروم اکسیداز، COI، با استفاده از جفت پرایمرهای یونیورسال (Folmer et al., 1994) (جدول ۱) و با برنامه حرارتی جدول ۲ انجام شد.

جدول ۱: توالی پرایمرها

توالی آغازگر	نام پرایمر
5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'	F (LCO 1490)
5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'	R (HCO 2198)

جدول ۲: برنامه حرارتی PCR

مراحل	درجه حرارت (سانتی گراد)	زمان	تعداد سیکل (چرخه)
واسرشته سازی اولیه	۹۵	۵ دقیقه	۱
واسرشته سازی	۹۵	۴۵ ثانیه	
اتصال آغازگر	۵۵	۳۰ ثانیه	۳۰
بسط	۷۲	۱ دقیقه	
بسط نهایی	۷۲	۷ دقیقه	۱

هر واکنش در حجم ۲۵ میکرولیتر حاوی ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR (۱۰x)، یک میکرولیتر $MgCl_2$ (۵۰mM)، نیم میکرولیتر dNTPs (۱۰mM)، نیم میکرولیتر آنزیم Taq پلیمرز و یک میکرولیتر DNA استخراجی بود. کیفیت محصول PCR روی ژل آگارز بررسی گردید. محصول PCR ژن COI در مقایسه با نشانگر، طولی معادل ۶۵۰-۷۰۰ جفت باز را نشان داد (شکل ۲).

اکوسیستم‌ها ایفا می کنند (Hirst et al, 2012). بطوریکه بسترهای ماسلی از نظر تنوع زیستی با جنگل‌های گرمسیری برابری می کنند (Seed et al., 2000). از منظر اقتصادی نیز بسیاری از ماسل‌های دریازی جزو منابع غذایی انسان به شمار می آیند (Pawiro, 2010). بعلاوه به عنوان نشانگرهای زیستی در آلودگی‌های زیست محیطی شناخته می شوند.

تاکسونومی ماسل‌های دریایی خانواده Mytilidae غالباً بر اساس ویژگی‌های مورفولوژیکی بوده و به دلیل اختلافات تشخیصی کم، غالباً گیج کننده است (Morton, 2015). چراکه تاثیر عوامل محیطی زیستگاه و شیوه زندگی مستقیماً در شکل ظاهری کفه‌ها نمایان شده و مورفولوژی متنوعی را بین گونه‌ها پدید می آورد (Stanley, 1970). لذا در سیستم‌های طبقه بندی ارائه شده توسط افراد مختلف، اتفاق نظر دیده نمی شود (-Soot Ryen, 1969, Bernard et al., 1993, Bieler et al., 2010). رسیدن به داده‌های قابل استناد و مطمئن جهت بازآرایی ارتباطات فیلوژنتیکی میان ماسل‌های دریایی به مدارک بیشتری نیاز دارد (Liu et al., 2018). طی سال‌های اخیر، بارکد گذاری DNA، به عنوان روشی برای شناسایی تاکسون‌ها به شکل چشمگیری در میان تاکسونومیست‌ها، اکولوژیست‌ها و زیست شناسان تنوع زیستی، مورد توجه قرار گرفته است. این روش ابزار قدرتمندی برای شناسایی گونه‌های جانوری است و می تواند به عنوان مکمل تاکسونومی سنتی مورد استفاده قرار گیرد (Hebert et al., 2003). اگرچه بررسی‌های سیستماتیک (Tajalipour and Mirzabagheri et al., 2015) و منطقه ای (Tajalipour, 1994) در مورد دوکفه‌ای‌های سواحل خلیج فارس انجام شده است، اما مطالعه‌ای که به شناسایی ژنتیکی ماسل‌هایی از خانواده Mytilidae پردازد دیده نمی شود. در مطالعه حاضر گونه‌ای از این خانواده با پراکنش بالا در سواحل جزیره قشم به لحاظ ژنتیکی و مورفولوژیکی مورد بررسی قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

نمونه برداری از ساحل صخره ای مجاور به روستای شیب دراز (N:26°41'8", E: 55°55'10.8") در ضلع جنوبی جزیره قشم انجام شد. تجمعات گسترده و متراکم ماسلی در لابه لای درز و شکاف این بستر یافت می شوند (شکل ۱).

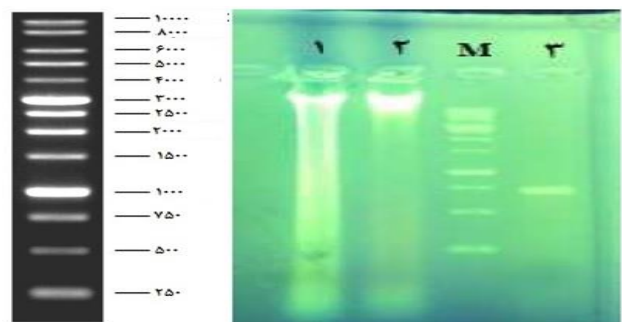
Dinesen) Modiolinae (Kenk and Wilson, 1985) و اخیرا (and Morton, 2014) مورد بررسی قرار گرفته است. در مطالعه حاضر پس از بررسی مناطق مختلفی از سواحل خلیج فارس یک گونه دوکفه‌ای ماسل در ناحیه جزر و مدی ساحل صخره‌ای روستای شیب دراز جزیره قشم یافت و جمع آوری شد. این گونه بستر ماسلی وسیعی را ایجاد کرده که به لحاظ غنای گونه‌ای بسیار متنوع است. نمونه جمع آوری شده و مورد بررسی مورفولوژیکی و مولکولی قرار گرفت.

۱-۳ بررسی مورفولوژیکی

در جمعیت مورد بررسی بجز رنگ کفه، سایر توصیفات تاکسونومیک (ویژگیهای ظاهری) یکسان است. بطوریکه رنگ کفه‌ها در اکثر نمونه‌ها قهوه‌ای و در تعداد اندکی آبی تیره متمایل به سیاه بود. پوسته براقی روی کفه‌ها را پوشانده و وجود یک نوار روشن تر سراسری در طول کفه از آمبون تا پایین انتهای عقبی از ویژگی‌های برجسته این جمعیت می‌باشد. رنگ کفه در زیر این نوار سراسری (ناحیه شکمی) روشن‌تر و در بالای آن (ناحیه پشتی) تیره‌تر است. تمام ناحیه پشتی پوشیده از خارهای مو مانند، بلند و صاف بوده که ذرات ریزی در بین آنها تجمع یافته اند که با گذشت زمان و رشد پوسته، این خارها نیز به تدریج از بین می‌روند (شکل ۳، الف و ب).

بطور کلی کفه‌های صدف متقارن و با طرح کلی مثلث شکل است. طول کفه در نمونه‌های جمع آوری شده از ۳۰ تا ۸۰ میلی متر متغیر و عمدتا ۴۰ تا ۵۰ میلی متر مشاهده شد. کفه‌ها ضخیم و متورم و آمبون بسیار نزدیک به انتهای جلویی کفه قرار دارد. برآمدگی‌های آمبون به خوبی توسعه یافته‌اند (شکل ۳، ب و ج). سطح داخلی کفه‌ها صاف و براق بوده و سطح خارجی دارای شیارها و خطوط متحدالمرکز با آمبون است که نشان دهنده میزان سن و رشد سالیانه صدف است. حاشیه کفه‌ها کاملا صاف و بدون دندان می‌باشند. رباط لولایی از انتهای جلویی آمبون تا برآمدگی پشتی امتداد یافته است (شکل ۳، ج). حاشیه پشتی کفه مشخصا محدب بوده درحالیکه حاشیه شکمی اندکی مقعر و محل خروج پای صدف در آن مشخص است و رشته‌های بیسال از این ناحیه خارج شده اند (شکل ۳، د).

تعیین توالی توسط شرکت Bioneer کره انجام شد. کروماتوگرام‌های حاصل از تعیین توالی با نرم افزار BioEdit (Hall, 1999) اصلاح و توالی اسیدآمینه‌ای آنها با نرم افزار CLC Sequence Viewer v.6. بررسی شد. توالی‌ها تحت شماره‌های دسترسی AB905421 (ایزوله ۱، نمونه قهوه‌ای رنگ) با نام *Modiolus sp. PG 1* (ایزوله ۲، نمونه سیاه رنگ) با نام *Modiolus sp. PG 2* در بانک ژنی NCBI ثبت گردیدند. جهت بررسی روابط فیلوژنتیکی با سایر گونه‌های جنس *Modiolus* از نرم افزار MEGA v.6 استفاده شد (Tamura et al, 2013).

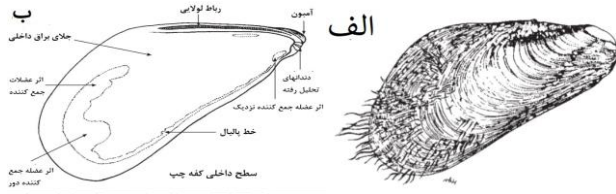


شکل ۲: تصویر ژل آگارز، چاهک ۱ و ۲ کیفیت DNA استخراجی، چاهک ۳ کیفیت محصول PCR، چاهک M نشانگر ۱kb

۲. نتایج و بحث

خانواده Mytilidae به لحاظ زیستگاه، تغذیه و استراتژیهای تولید مثلی یکی از متنوع ترین خانواده دوکفه‌ای‌ها بشمار می‌آید. با این حال گونه‌های اندکی از این خانواده از نظر بیولوژی و ریخت شناسی مورد مطالعه قرار گرفته اند. اتصال محکم ماسل‌ها به سطح بستر توسط رشته‌های ظریف بیسال سبب عدم جابجایی آنها در جریان‌های شدید جزر و مدی شده و بسترهای ماسلی پایا با عمر طولانی را بوجود آورده است. خانواده Mytilidae از سه زیر خانواده بزرگ *Mytilinae*، *Modiolinae* و *Bathymodiolinae* تشکیل شده که است (Carter et al, 2011). اعضای تیبیک این سه زیر خانواده شامل *Mytilus edulis* و *Modiolus modiolus* و *Bathymodiolus thermophiles* بوده که به ترتیب در نواحی جزر و مدی، زیر جزر و مدی و جریان‌های آبگرم عمیق زندگی می‌کنند. شناسایی مورفولوژیکی سه زیر خانواده *Mytilinae* (Seed et al. 2000) و *Bathymodiolinae*

آنالیز مولکولی نیز با توالی یابی بخشی از ژن زیر واحد I سیتوکروم اکسیداز میتوکندریایی و انجام BLAST در بانک داده NCBI صورت پذیرفت.



شکل ۴: تصویر شماتیک از ماسل‌های خانواده Mytilidae به همراه برخی توصیفات مورفولوژیک از جمله موقعیت آمونها، لیگامان و جلای نقره‌ای داخل کفه در گزارشات FAO

۲-۳ بررسی مولکولی

در بررسی مولکولی، پس از دریافت توالی‌ها، به منظور رسم درخت فیلوژنی، تعداد ۹ توالی مربوط به ژن COI از سایر گونه‌های جنس *Modiolus* و همچنین گونه *Mytilus edulis* از زیرخانواده Mytiloidea به عنوان برون گونه از بانک ژنی NCBI بازیابی شد (جدول ۳). مجموعه توالی‌ها با کمک نرم افزار Clustal W (Higgins, 1994) هم تراز گردید.

جدول ۳: توالی‌های مورد استفاده در آنالیز فیلوژنی و شماره دسترسی آنها

Accession Number	شماره دسترسی	نام گونه (Species)
DQ917604		<i>Modiolus areolatus</i>
KR084927		<i>Modiolus barbatus</i>
DQ264392		<i>Modiolus brasiliensis</i>
GQ480316		<i>Modiolus comptus</i>
KP243079		<i>Modiolus kurilensis</i>
GQ480322		<i>Modiolus metcalfei</i>
KX713479, FJ890501		<i>Modiolus modiolus</i>
KC429094		<i>Modiolus rumphii</i>
AB972412		<i>Modiolus sp. PG isolate: 2</i>
AB905421		<i>Modiolus sp. PG isolate: 1</i>
EU915581		<i>Mytilus edulis</i> (outgroup)

بررسی تاریخچه تکاملی به روش رابطه خویشاوندی، Neighbor-Joining و با در نظر گرفتن شباهت ژنتیکی انجام شد (Saitou and Nei, 1987). تست فیلوژنی به روش بوت استرپ با ۵۰۰ تکرار انجام شد و درصد تکرار برای هر دو شاخه مشتق شده از یک جد مشترک روی شاخه‌ها نشان داده شده است (Felsenstein, 1985). فاصله تکاملی با توجه به میزان جایگزینی بازها در هر موقعیت با روش Tajima-Nei محاسبه و مقیاس شاخه‌ها با توجه به این فاصله تکاملی برآورد شد.



شکل ۳: ویژگی‌های مورفولوژیکی. خارهای پشتی، جلای سطح داخلی کفه (الف)؛ موقعیت آمون‌ها، تقارن کفه‌ها و ترکیب رنگ و نوار روشن (ب)؛ موقعیت رابط لولایی و حاشیه صاف کفه‌ها (ج)؛ رشته‌های بیسال (د)

توصیف‌هایی نظیر موقعیت و شکل آمونها، خارهای پشتی، دواير متحد‌المركز رشد سالیانه، جلای داخلی کفه‌ها و رنگبندی کفه‌ها از جمله موارد مهم شباهت این گونه با سایر گونه‌های جنس *Modiolus* است. چنانچه با توصیف‌هایی نظیر کلید شناسایی FAO (<http://www.fao.org/docrep/009/w7191e/>) (w7191e15.pdf) (Dinesen and Morton, 2014) و Flyachinskaya (Flyachinskaya and Naumov, 2003) از جنس *Modiolus* مطابقت داشته لذا نمونه مورد بررسی از خانواده Mytilidae، زیرخانواده Modiolinae و جنس *Modiolus* تشخیص داده شد (شکل ۴). بعلاوه دکتر مهدی تجلی پور، توصیفات مشابهی از این گونه دارد و پراکنش آن را در بندر کنگ و لنگه و جزیره کیش، هرمز و قشم گزارش کرده است (Tajalipour and Tajalipour, 1994). این گونه در سواحل بوشهر نیز مشاهده شده که در گزارشات مربوط به فون جانوران دریایی اداره محیط زیست این استان آمده است.

شناسایی سیستماتیک Mytilidae و طبقه بندی تاکسونومیکي آنها عمدتاً بر اساس ویژگی‌های ظاهری پوسته صدف افراد بالغ صورت می‌گیرد (Huber, 2010). اما با توجه به اینکه شکل پوسته در اثر عواملی چون سن، جنسیت، نوع تغذیه و ویژگی‌های زیستگاهی دست خوش تغییرات می‌شود (Coan et al., 2000)، ادغام نتایج مورفولوژیکی با داده‌های حاصل از شناسایی ژنتیکی اطلاعات جامعی در اختیار قرار می‌دهد (Soot-Ryen, 1955). در این مطالعه علاوه بر توصیف ریخت شناسی، بررسی و

بودن این بستر ماسلی یافت شده می‌باشد. موجودات دریایی متنوعی نظیر انواعی از حلزون‌ها و خرچنگ‌ها، ستاره‌های دریایی، توتیاها، کرم‌های پرتار، اسیدین، هیدروزئین‌ها، جلبکها، ... مشاهده شد که به صورت گونه‌های همراه از این بستر به عنوان زیستگاه استفاده می‌کنند. این بستر عمر طولانی داشته و بسیار پایدار است بطوریکه در طول فصول سرد و گرم طی چندین بار مراجعه در سال‌های ۹۱ تا ۹۴ با کمترین تغییرات از لحاظ مساحت بستر و تراکم ماسل‌ها مشاهده شد.

۴. نتیجه‌گیری

امروزه اهمیت اکولوژیکی، اقتصادی و زیست فناورانه دوکفه‌ای‌های ماسل از خانواده Mytilidae بر کسی پوشیده نیست. لذا در تحقیق حاضر بر آن شدیم تا حضور نمونه‌ای از ماسل‌های این خانواده متعلق به جنس *Modiolus* که به وفور در ساحل شیب دراز جزیره قشم یافت می‌شود را مورد بررسی قرار دهیم. این گونه هم‌اکنون با نام *Modiolus sp. PG* در بانک داده‌ای NCBI به ثبت رسیده است. بدیهی است با انجام تحقیقات بیشتر در سایر سواحل حوزه خلیج فارس می‌توان به وجود گونه‌های دیگری از این خانواده پی برد و با بررسی‌های مورفولوژیکی و مولکولی آنها روابط خویشاوندی قابل استنادی را ارائه کرد.

۵. سپاسگزاری

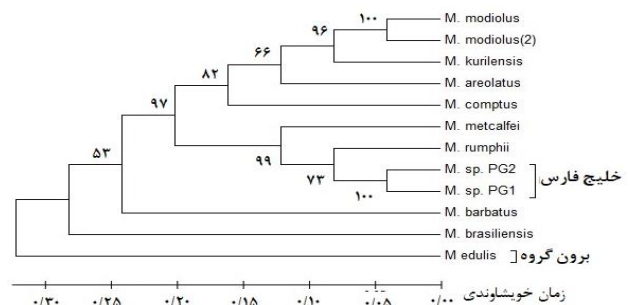
بدین وسیله نویسندگان مراتب تشکر و قدر دانی خود را از تمامی افرادی که به هر نحو در امر اسکان و نمونه برداری همکاری داشته‌اند به ویژه ریاست پژوهشکده زیست پزشکی خلیج فارس، ریاست محترم اداره محیط زیست شهرستان قشم و همچنین مهندس محمد غواصی به عمل می‌آورند.

منابع

Bayne, B.L., 1976. *Marine Mussels, Their Ecology and Physiology*. Cambridge University Press, Cambridge, Eng.; New York. 506PP
Bernard, F.; Cai, Y.Y.; Morton, B., 1993. *Catalogue of the living marine bivalve mollusks of China*. Hong Kong

(Tajima and Nei, 1984). با حذف موقعیت‌های Gap و Missing، برای مجموعاً ۳۸۵ موقعیت، آنالیز تکاملی در MEGA اجرا شد (Tamura et al, 2013).

در نمودار رسم شده (شکل ۵) دو ایزوله از گونه ایرانی *M. sp. PG* در یک کلاد قرار گرفته و فاصله تکاملی آنها به دلیل طول کم شاخه‌ای که از آنها مشتق می‌شوند بسیار کم است. این امر طبیعی بوده زیر میزان شباهت آنها پس از انجام BLAST، ۹۹/۳۷٪ برآورد شد و این یعنی از ۶۳۹ نوکلئوتید، تنها در ۴ نوکلئوتید اختلاف دارند. این کلاد با بوت استرپ ۱۰۰ درصد حمایت شده است. گونه ایرانی *M. sp. PG* با گونه *M. rumphii* و *M. metcalfei* با حمایت ۹۹ درصد بوت استرپ مونوفایلتیک بوده و در یک کلاد قرار می‌گیرند. مجموع طول کل شاخه‌ها (SBL) که بیانگر مقدار کلی فاصله تکاملی می‌باشد با توجه به مقیاس نشان داده شده در پایین نمودار، مجموعاً ۱/۷۸۶ محاسبه شده است.



شکل ۵: موقعیت گونه‌های خلیج فارس نسبت به سایر گونه‌های *Modiolus* روی درخت فیلوژنی مدل Neighbor-joining

ماسل‌ها علاوه بر اینکه به عنوان غذا در بسیاری از نقاط جهان مصرف می‌شوند و از این نظر دارای اهمیت اقتصادی می‌باشند، اهمیت اکولوژیکی بالایی نیز دارند. مطالعات فراوان پیرامون دوکفه‌ای *Modiolus modiolus* نشان داده که بسترهای ماسلی ایجاد شده توسط گونه‌های جنس *Modiolus* زیستگاه‌های مناسبی برای گونه‌های متنوع جلبکی و جانوری ایجاد می‌کند (Rees et al., 2008; Sanderson et al., 2008; Ragnarsson and Burgons, 2012; Mair et al., 2000; Göransson and Karlsson, 1998). بطوریکه در شبکه حفاظت منابع طبیعی اروپا (NATURA 2000 به عنوان زیستگاه ریف بیوژنیک در نظر گرفته شده‌اند (Connor et al., 2004). مشاهدات ما از پوشش زیستی متنوع منطقه نمونه برداری نیز در راستای این مطالعات و بیانگر بیوژنیک

- Flyachinskaya, L.P.; Naumov, A.D., 2003. Distribution and larval development in the horse mussel *Modiolus modiolus* (Linnaeus, 1758) (*Bivalvia, Mytilidae*) from the White Sea. *Proceedings of the Zoological Institute*, 299: 39-50.
- Folmer, O.; Black, M.; Hoeh, W.; Lutz, R.; Vrijenhoek, R., 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3: 294-297.
- Food and Agriculture Organization. <http://www.fao.org/docrep/009/w7191e/w7191e15.pdf>
- Göransson, P.; Karlsson, M., 1998. Knähagen Reef – Pride of the Öresund. A 100 Year Perspective of Biological Diversity in a Marine Coastal Area. Helsingborg: Report to the Malmöhus County Board and the Environmental Agency of Helsingborg City. Swedish. 58P.
- Hall, T.A., 1999. BIOEDIT: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis for Windows 95/98/NT. *Nucleic Symposium Series (London)*, 41:95-98.
- Hebert, P.D.N.; Cywinska, A.; Ball, S.L.; De Waard J.R., 2003. Identification of birds through DNA barcodes. *PloS Biology*, 10: 1657-1663. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020312>
- Higgins, D.; Thompson, J.; Gibson, T.; Thompson, J.D.; Higgins, D.G.; Gibson, T.J., 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22: 4673-4680. <https://doi.org/10.1093/nar/22.22.4673>
- Huber, M., 2010. *Compendium of Bivalves*. Hackenheim: ConchBooks. 901PP.
- Kamrani E.; Behzadi S.; Hashemipour F., 2013. Identification and Survey of *Bivalvia* and *Gastropoda* University Press. 146PP.
- Bieler, R.; Carter, J.G.; Coan, E.V., 2010. Classification of bivalve families. In: Bouchet, P.; Rocroi, J.P.; Bieler, R.; Carter, J.G.; Coan, E.V. (Eds.), *Nomenclature of bivalve families with a classification of bivalve families*. *Malacologia*. 1–184PP. <https://doi.org/10.4002/040.052.0201>
- Carter, J.G.; Altaba, C.R.; Anderson, L.C.; Araujo, R.; Biakov, A.S.; Bogan EA, et al. (45 additional authors), 2011. *Paleontological Contributions*, 4. A Synoptical Classification of the *Bivalvia* (Mollusca). Lawrence, KS: Paleontological Institute, the University of Kansas, 47P.
- Coan, E.V.; Scott, P.V.; Bernard, F.R., 2000. *Bivalve seashells of western north America*. Marine bivalve mollusks from arctic Alaska to Baja California. Santa Barbara, CA: Santa Barbara museum of natural history monographs 2, 764P.
- Connor, D.W.; Allen, J.H.; Golding, N.; Howell, K.L.; Lieberknecht, L.M.; Northen, K.O., 2004. The marine habitat classification for Britain and Ireland. Joint Nature Conservation Council, 49P.
- Dinesen G.E.; Morton, B., 2014. Review of the functional morphology, biology and perturbation impacts on the boreal, habitat-forming horse mussel *Modiolus modiolus* (*Bivalvia: Mytilidae: Modiolinae*). *Marine Biology Research*, 10: 845-870. <https://doi.org/10.1080/17451000.2013.866250>
- Distel, D.L.; Baco, A.R.; Chuang, E.; Morrill, W.; Cavanaugh, C.; Smith, C.R., 2000. Do mussels take wooden steps to deep-sea vents? *Nature*, 403: 725-726. <https://doi.org/10.1038/35001667>
- Felsenstein, J., 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*, 39: 783-791. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1985.tb00420.x>

- Research, 72:55-63.
<https://doi.org/10.1016/j.seares.2012.05.011>
- Rees, E.I.S.; Sanderson, W.G.; Mackie, A.S.Y.; Holt, R.H.F., 2008. Smallscale variation within a *Modiolus modiolus* (Molluscs: Bivalvia) reef in the Irish Sea. III. Crevice, sediment infauna and epifauna from targeted cores. Marine Biological Association UK, 88: 151-156.
<https://doi.org/10.1017/S0025315408000052>
- Saitou, N.; Nei, M., 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. Molecular Biology and Evolution, 4: 406-425.
- Sanderson, W.G.; Holt, R.H.F.; Kay, L.; Ramsay, K.; Perrins, J.; McMath, A.J., 2008. Small-scale variation within a *Modiolus modiolus* (Mollusca: Bivalvia) reef in the Irish Sea. II. Epifauna recorded by divers and cameras. Marine Biological Association, UK, 88: 143-149.
<https://doi.org/10.1017/S0025315408000040>
- Seed, R.; Richardson, C.A.; Smith, K., 2000. Marine mussels, their evolutionary success, ecological significance and use as chronometers of environmental change. In: Harper, E.M.; Taylor, J.D.; Crame, J.A. (Ed.), The Evolutionary Biology of the Bivalvia. Special Publications 177. London. The Geological Society. 465-478PP.
<https://doi.org/10.1144/GSL.SP.2000.177.01.32>
- Soot-Ryen, T., 1955. A report on the family Mytilidae (Pelecypoda). Allan Hancock Pacific Expedition, 20: 1-175.
- Soot-Ryen, T., 1969. Superfamily Mytilacea Rafinesque, 1815. In: Moore, R.C. (Ed.), Treatise on invertebrate paleontology, Mollusca. Geological Society of America Inc. and University of Kansas Press. Lawrence. Kansas. 271-280PP.
- Tajalipour, M.; Tajalipour, G., 1994. Supplementary study of Mollusks systematic and distribution in the Iranian Persian Gulf Coasts. Iran Fisheries Research and in Bandar Abbas Coastal Waters (Persian Gulf). Oceanography, 13:53-60. (In Persian)
- Kenk, V.C.; Wilson, B.R., 1985. A new mussel (Bivalvia: Mytilidae) from hydrothermal vents in the Galapagos Rift zone. Malacologia 26:253-271.
- Liu, J.; Liu, H.; Zhang, H., 2018. Phylogeny and evolutionary radiation of the marine mussels (Bivalvia: Mytilidae) based on mitochondrial and nuclear genes. Molecular Phylogenetics and Evolution, 126: 233-240.
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.04.019>
- Mair, J.M.; Moore, C.G.; Kingston, P.F.; Harris, D.B., 2000. A review of the status, ecology and conservation of horse mussel *Modiolus modiolus* beds in Scotland. Edinburgh: Scottish Natural Heritage Commissioned Report No. F99PA08. 89PP.
- Mirzabagheri, D.; Nabavi, M.B.; Mehvari, A.; Karami, K., 2015. A Study on Distribution Patterns of Bivalves in Rocky Shore of Hormuz Island. Journal of Marine Science and Technology, 14: 86-100. (In Persian)
- Pawiro, S., 2010. Bivalves: global production and trade trends. In: Rees, G.; Pond, K.; Kay, D.; Bartram, J.; Santo Domingo, J. (Eds.), Safe Management of Shellfish and Harvest Waters. IWA Publishing. London. UK. 11-19PP.
- Pearce, T.; LaBarbera, M., 2009. A comparative study of the mechanical properties of Mytilid byssal threads. The Journal of Experimental Biology, 212: 1442-1448.
<https://doi.org/10.1242/jeb.025544>
- Porebski, S.; Bailey, L.G.; Baum, R.B., 1997. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. Plant Molecular Biology Reporter, 15: 8-15.
<https://doi.org/10.1007/BF02772108>
- Ragnarsson, S.A.; Burgos, J.M., 2012. Separating the effects of a habitat modifier, *Modiolus modiolus* and substrate properties on the associated megafauna. Sea

- Tamura, K.; Stecher, G.; Peterson, D.; Filipski, A.; Kumar, S., 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30: 2725-2729.
<https://doi.org/10.1093/molbev/mst197>
- Training Organization, 403PP. (In Persian)
- Tajima, F.; Nei, M., 1984. Estimation of evolutionary distance between nucleotide sequences. *Molecular Biology and Evolution*, 1: 269-285.