



حضور کلاد D زوگزانتله در مرجان‌های نرم و سخت غالب اطراف جزیره لارک، خلیج فارس

محمد حسن شاه حسینی^{۱*}، پر گل قوام مصطفوی^۲، غلامحسین وثوقی^۳، ساناز آزادبادی^۴

^۱دانشیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرقدس، گروه میکروبیولوژی، آستادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه بیولوژی دریا،

^۲استاد، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ^۳کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه بیولوژی دریا

چکیده

سابقه و هدف: مرجان‌های سخت و نرم خلیج فارس دارای جلبک تک سلولی هم زیستی به نام زوگزانتله می‌باشند که نقش مهمی در تأمین مواد آلی مورد نیاز مرجان‌ها ایفا می‌نماید. آبسنگ‌های مرجانی این ناحیه از خلیج به دلیل قرار گرفتن در عرض‌های جغرافیایی نیمه گرمسیری و وجود دامنه وسیع تغییرات دمای آب و شوری بالا همواره تحت تأثیر تنش‌های محیطی می‌باشند. این تنش‌ها می‌تواند منجر به تغییر زوگزانتله‌های همزیست با آن‌ها گردد. این مطالعه با هدف شناسایی کلادهای *Symbiodinium* به روش مولکولی و نیز بررسی حضور کلاد D زوگزانتله در مرجان‌های نرم و سخت جزیره لارک در خلیج فارس انجام شده است.

مواد و روش‌ها: ۳ گونه از مرجان‌های نرم شمال و شمال شرق جزیره لارک و ۵ گونه مرجان سخت در شمال جزیره جمع‌آوری گردید. پس از استخراج DNA، زیرواحد بزرگ ریبوزومی ۲۸S با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی مراز (PCR) تکثیر شد. سپس توالی زیرواحد بزرگ ریبوزومی ۲۸S با استفاده از آنالیز فیلوژنی، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: به دنبال تکثیر قطعه‌ای از ژن زیرواحد بزرگ ریبوزومی ۲۸S، توالی ۷۸۰bp به دست آمد. پس از توالی‌یابی قطعه ژنی تکثیر یافته و مقایسه آن با ترادف‌های ژنی موجود در بانک ژنی مشخص گردید که کلادهای هم زیست با مرجان‌های نرم اطراف جزیره لارک، از نوع کلاد D می‌باشند. نتیجه گیری: غالب بودن کلاد D به علت درجه حرارت بالای خلیج فارس و نیز شرایط ناپایدار تنگه هرمز در مرجان‌های نرم و سخت جزیره لارک کاملاً طبیعی می‌باشد.

واژگان کلیدی: *Symbiodinium*، کلاد D، جلبک تک سلولی، خلیج فارس

پذیرش برای چاپ: خرداد ۱۳۹۰

دریافت مقاله: فروردین ۱۳۹۰

مقدمه

زوگزانتله می‌باشد که حضور آن در برخی از مرجان‌ها باعث به وجود آمدن آبسنگ‌های مرجانی می‌گردد (۱).

آبسنگ‌های مرجانی به دلیل داشتن گونه‌های متنوع جانوری اهمیت بسیاری دارند. بنابراین مصون ماندن این موجودات مستلزم حفاظت از اکوسیستم حساس و شکننده مرجان‌ها

مرجان‌ها به دو دسته هرماتیپیک و غیرهرماتیپیک تقسیم می‌شوند. نوع هرماتیپیک دارای جلبک تک سلولی هم زیستی به نام

(* آدرس برای مکاتبه: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرقدس، گروه میکروبیولوژی

تلفن: ۰۹۱۲۳۳۰۴۰۶۹

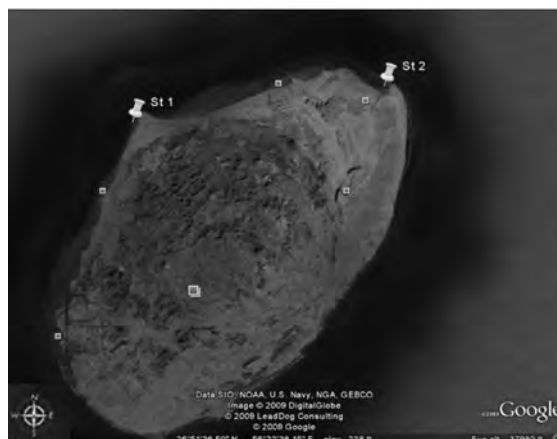
پست الکترونیک: shahhosseiny@yahoo.com

نرم تنان و روزنه داران دیده می شوند. کلادها بر اساس تفاوت های موجود در توالی های مشترک موجود در ژنوم و با استفاده از نرم افزارهای فیلوژنی قابل تعریف می باشند. شناسایی مولکولی سیمبیودیومیوم به طور عمده با استفاده از ژن های کد کننده rDNA ریپوزومی هسته ای (nrDNA) صورت می گیرد. این مطالعات شامل بررسی زیر واحد کوچک ریپوزومی (SSU) (۱۷ و ۱۸)، زیر واحد بزرگ ریپوزومی (LSU) (۱۹-۲۶)، فاصله گره های نسخه برداری شده درونی (ITS1, ITS2) و نواحی ۵/۸S (۱۶، ۲۷-۳۱) می باشد. اخیراً نیز توالی های rDNA کلروپلاستی زیر واحد بزرگ، از روی nrDNA، مورد استفاده قرار گرفته اند (۳۲-۳۴). جامع ترین فیلوژنی های سیمبیودیومیوم در به کارگیری LSU nrDNA به منظور شناسایی تنوع موجود در همه کلادها (به جز کلادهای B و E) توسط پاولوفسکی و پوچون انجام گردید که تا حدی موفقیت آمیز بوده است (۲۳ و ۳۵). به طور کلی از نظر فیزیولوژی انواع سیمبیودیومیوم از یکدیگر متفاوت می باشند و این مساله موجب بقای مرجان در محیط می گردد (۱۵). با این وجود شواهدی وجود دارد که نشان می دهد کلا D نسبت به تنش های ناشی از درجه حرارت بالا مقاومت بیشتری دارد (۳۶) و معمولاً می تواند شرایطی که حیات مرجان ها را به خطر می اندازد بهتر تحمل نماید (۲۲ و ۳۷). در مطالعه حاضر مرجان های نرم و سخت جزیره لارک خلیج فارس مورد بررسی قرار گرفته اند. این خلیج در شمال غربی اقیانوس هند قرار دارد و تنها از طریق تنگه هرمز با آب دریا تبادل دارد. به همین دلیل شدت دامنه تغییرات دمایی زیادی بین فصول تابستان و زمستان در خلیج فارس وجود دارد. از میان جزایر ایرانی خلیج فارس، جزیره لارک به دلیل قرارگیری در تنگه هرمز تا اندازه ای تحت تأثیر آب های سرد ناشی از پدیده فراجوشی دریای عمان است و از تنوع گونه ای بالایی برخوردار می باشد (۱۲).

این مطالعه با هدف شناسایی کلادهای سیمبیودیومیوم به روش مولکولی و نیز بررسی حضور کلا D زوگزانتله در مرجان های نرم و سخت جزیره لارک در خلیج فارس انجام شده است.

می باشد (۱). مرجان های نرم عضو مهمی در اکوسیستم آبسنگ های مرجانی به شمار می آیند (۷-۲). با این وجود مطالعات بسیار کمی بر روی پاسخی که هم زیست مرجان های نرم در برابر تنش های محیطی صورت گرفته است (۸ و ۹). در پدیده سفیدشدگی، مرجان ها جلبک هم زیست خود را از دست می دهند. این پدیده می تواند در اثر شرایط محیطی مانند گرم شدن بیش از حد آب دریا به وقوع بپیوندد (۱۰). آبسنگ های خلیج فارس نیز به همراه آبسنگ های مرجانی زیادی در سراسر جهان پس از ال نینوی سال های ۱۹۹۶ و ۱۹۹۸ میلادی دچار پدیده سفیدشدگی شده اند (۱۱-۱۳).

از آن جایی که جداسازی و کشت این نوع جلبک های تک سلولی به آسانی امکان پذیر نیست، لذا شناسایی گونه آن ها با توجه به ویژگی های ریخت شناسی کار بسیار پیچیده ای می باشد. درحقیقت تنوع واقعی سیمبیودیومیوم (Symbiodinium) در طبیعت بسیار وسیع تر از طبقه بندی ریخت شناسی است. از این رو تمامی اطلاعات موجود بر پایه مطالعات ژنتیک مولکولی بنا نهاده شده است. بنابراین به منظور شناسایی دقیق جلبک های هم زیست نیز باید از روش های مولکولی استفاده نمود. بر همین اساس امروزه انواع سیمبیودیومیوم به ۸ کلا D مجزا شامل کلادهای A، B، C (۱۴)، D، E (۱۵)، F، G، H (۱۶) تقسیم بندی شده اند. هر کلا D می تواند شامل یک یا چند گونه سیمبیودیومیوم باشد. از طرفی این کلادها در شاخه های متنوعی از جانوران مانند مرجانیان،



شکل ۱: مناطق نمونه برداری در جزیره لارک که با نشانه St 1 و St 2 علامت گذاری شده است.

مواد و روش ها

و Mos Forward: 5'-ATATAAGTAAGCGGAGGAAAAG-3'
 Mos Reverse: 5'-CTTTCGGGTCTAACACACATG-3'
 بودند (۳۹). واکنش PCR با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل: ۲/۵ میکرولیتر (10x) PCR buffer، ۱/۵ میکرولیتر $MgCl_2$ ، ۰/۵ میکرولیتر dNTPs، ۱/۵ واحد (۰/۳ میکرولیتر) آنزیم *Taq DNA Polymerase*، ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر (10mM) و ۱ میکرولیتر از نمونه DNA انجام گردید.

سپس واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر Corbett با شرایط دمایی ۳۰ ثانیه واسرشت شدن در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد، اتصال در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه، طویل شدن در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه و در نهایت طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد. محصول PCR در زل آگاروز ۱/۵ درصد واجد اتیدیوم بروماید منتقل و پس از الکتروفورز به وسیله دستگاه الکتروفورز مورد بررسی قرار گرفت (۳۹).

ج) توالی یابی و آنالیز فیلوژنی: توالی یابی DNA به صورت دوطرفه با استفاده از دستگاه ABI 3730 XL (شرکت آمریکایی Applied Biosystem)، در کشور کره جنوبی به روش ختم زنجیره Dideoxy-Chain Termination انجام گرفت. ۳ توالی ژنی از زوگزانته مرجان های نرم جزیره لارک و ۵ توالی ژنی از مرجان های سخت به دست آمد.

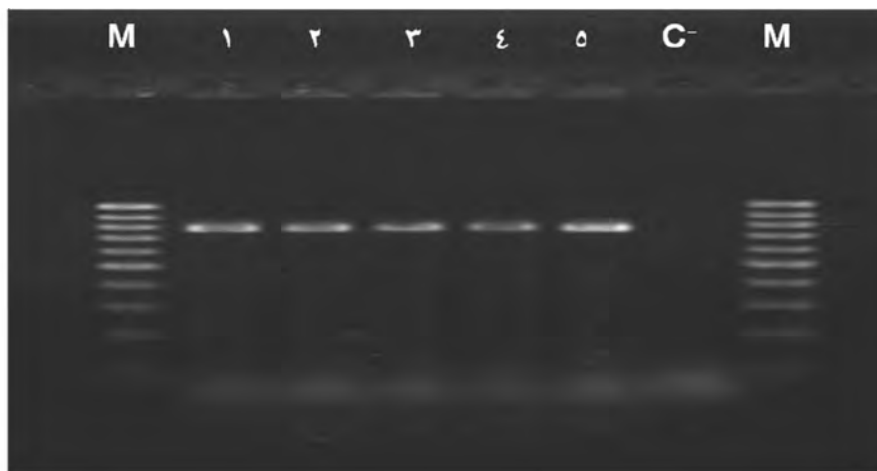
توالی های سیمبیودیوم از ۸ گونه مرجان مورد آنالیز فیلوژنی

الف) نمونه برداری و استخراج DNA: مرجان های نرم و سخت مورد بررسی در این مطالعه با غواصی از دو ایستگاه در شمال و شمال شرق جزیره لارک به نام های S1 (طول جغرافیایی ۲۶°۵۲'۳۵/۱۴" شمالی و عرض جغرافیایی ۳۶°۲۴'۳۶/۴۷" و S2 (طول جغرافیایی ۲۶°۵۳'۲۱/۰۷" شمالی و عرض جغرافیایی ۳۶°۲۱'۵/۸۲" شرقی) در ماه های مهر و بهمن سال ۱۳۸۷ و نیز اردیبهشت ماه ۱۳۸۸ در دو عمق مختلف جمع آوری گردیدند (شکل ۱).

گونه های مرجانی نرم جمع آوری شده شامل: *Sarcophyton* گونه های مرجانی سخت مورد بررسی شامل: *Sinularia sp.*، *Sinularia erecta*، *minusculum*، *Cyphastrea*، *Favia pallida*، *Stylophora sp*، *microphthalma* و *Platygyra daedalea* و *Porites compressa* بودند.

در ابتدا نمونه های جمع آوری شده از مرجان های نرم در هاون کوبیده شدند و به کمک آب دیونیزه به صورت هموزن در آمدند. در مورد مرجان های سخت نیز توده زوگزانته با استفاده از دستگاه Air Brush و بافر DNAB جداسازی شد. سپس با استفاده از روش CTAB و کلوفرم، DNA از توده زوگزانته استخراج گردید (۱۵).

ب) واکنش زنجیره ای پلی مرز: با استفاده از پرایمرهای اختصاصی سیمبیودیوم به نام MOS، قطعه ای از ژن زیر واحد بزرگ ریوزومی ۲۸S آن تکثیر گردید. توالی پرایمرهای به کار رفته در این مطالعه شامل:



شکل ۲: محصول PCR از قطعه ژن ریوزومی ۲۸S تکثیر شده هر ۵ کلنی (M). مارکر (۱۰۰۰bp)، ستون های ۱ تا ۵) محصول PCR حاصل از ۵ گونه، ستون ۶) کنترل منفی.

نمونه برداری شده از اوکتاکرالها (*Leptogorgia rigida*، *Eugorgia aurantiaca* و *Pacificorgia gracilis*) فاقد زوگزانتله بوده اند (۴۰). به نظر می رسد که کلاد D از نظر انتشار تا حدی تصادفی عمل می نماید. در سال ۱۹۹۹، بیکر و همکاران حضور کلاد D، سیمبیدینیوم را در مرجان سخت *Stephanocoenia intersepta* در عمق ای متوسط گزارش نمودند. در حالی که اگر این گونه در آب های کم عمق قرار گیرد دارای کلاد A و چنانچه در آب های عمیق قرار گیرد دارای کلاد C خواهد بود. همچنین کلاد D در گونه *Montastraea franksi* که در تایوان در اعماق زیاد قرار گرفته است غالب می باشد (۲۵). این امر نشان می دهد که کلاد D در موقعیتی حضور می یابد که سایر کلادها، همزیستی در آن شرایط را نمی پسندند. تالر (Toller) و همکاران در بررسی خود مرجانی را از آب های عمیق به آب های کم عمق انتقال دادند. در اثر این جابجایی کلنی مرجان دچار پدیده سفید شدگی شد. اما پس از بهبودی، وجود کلاد D در کلنی های بهبود یافته اثبات گردید (۲۵).

با توجه به شرایط پر استرس خلیج فارس برای آبسنگ های مرجانی و ال نینوی سال های ۱۹۹۶ و ۱۹۹۸، همچنین افزایش ناگهانی دما در آگوست سال ۲۰۰۷، سفیدشدگی عظیمی در آب های ایران رخ داده است (۱۲). شاید بهبودی های پس از این پدیده های سفیدشدگی موجب ظهور کلاد D به عنوان کلاد غالب در آبسنگ های مرجانی ایران شده است و یا شاید حتی قبل از پدیده ال نینوی ۱۹۹۶، کلاد D همزیست ثابت و دائمی در این ناحیه بوده است.

از آن جایی که جزیره لارک در تنگه هرمز واقع شده است، در تنش ناشی از کشند (جزر و مد) و نوسانات دما و شوری می باشد. از طرفی کلاد D نیز در شرایطی با مرجان ها همزیست می شوند که سایر کلادها در آن شرایط تمایلی به همزیستی ندارند (۲۵). بنابراین با توجه به شرایط تنگه هرمز، همچنین بروز پدیده سفیدشدگی در سال های اخیر در آبسنگ های مرجانی ناحیه شمالی خلیج فارس به دلیل افزایش دمای محیط، حضور کلاد D بر روی ۸ گونه از مرجان های نرم و سخت غالب اطراف جزیره لارک امری دور از ذهن نمی باشد.

روش مولکولی بر روی گونه های مختلف مرجان های نرم و سخت جزیره لارک در خلیج فارس انجام گردید تا بتوان آن ها را در اعماق مختلف با یکدیگر مقایسه نمود. یافته های ما نشان دهنده حضور غالب کلاد D بر روی مرجان های اطراف جزیره لارک بوده است. بر همین اساس مصطفوی (Mostafavi) و همکاران در سال ۲۰۰۷، با استفاده از روش PCR-Sequence، مطالعه ای بر روی ژن RNA ریپوزومی ۲۸S سیمبیدینیوم زوگزانتله ۵ گونه از مرجان های غالب اطراف جزیره لارک و نیز ۷ گونه از مرجان های آبسنگ ساز اطراف جزیره کیش انجام دادند. نتایج آن ها غالب بودن کلاد D در این گونه ها را نشان داد (۳۹).

بیکر (Baker) و همکاران در سال ۲۰۰۴، زوگزانتله های همزیست با گونه های مرجانی خلیج فارس را در سواحل عربستان مورد بررسی قرار دادند. آن ها با استفاده از پرایم های اختصاصی سیمبیدینیوم و به کمک تکنیک PCR-RFLP بر روی ژن زیر واحد بزرگ ریپوزومی هسته ای (LSU) موفق به شناسایی کلادهای A، C و D شدند. همچنین کلاد D به عنوان کلاد غالب آبسنگ های مرجانی این ناحیه معرفی گردید (۱۰).

در سال ۲۰۰۵، ون اپن (Van Oppen) به منظور ارزیابی تنوع زوگزانتله، مطالعه ای بر روی ۱۱۴ گونه از ۶۹ جنس اوکتاکرال های قرار گرفته در آبسنگ های عظیم سدی استرالیا، دریای کارایب و اقیانوس آرام شرقی انجام داد (۴۰). او در این مطالعه از روش های PCR-Cloning و توالی یابی به منظور آنالیز ژنتیکی منطقه ITS1 (Internal transcribed spacer) استفاده نمود. یافته های او غالب بودن کلادهای C و D در مرجان های نرم آبسنگ های سدی عظیم استرالیا را نشان داد. همچنین کلادهای A، B و G نیز به ندرت مشاهده شدند. کلادهای غالب مرجان های سخت این ناحیه نیز D-C و به ندرت B-A معرفی گردیدند.

در آبسنگ های سدی عظیم استرالیا، از میان مرجان های نرم تنها گونه *C. koellikeri* دارای کلاد D و گونه *Nephtea sp.* دارای کلادهای B و C بوده است. غالب ترین نمونه های مرجان نرم دریای کارایب کلاد B و به ندرت کلاد C نیز گزارش شده است. از طرفی در مرجان های سخت این ناحیه کلادهای C-B-A و به ندرت D نیز دیده شده است. در اقیانوس آرام شرقی هر سه گونه

مرجان های نرم و سخت جزیره لارک کاملاً طبیعی می باشد. از طرفی کلاد D نیز در شرایطی با مرجان ها هم زیست می شوند که سایر کلادها در آن شرایط تمایلی به هم زیستی ندارند. بنابراین با توجه به شرایط تنگه هرمز، همچنین بروز پدیده سفیدشدگی در سال های اخیر در آبسنگ های مرجانی ناحیه شمالی خلیج فارس به دلیل افزایش دمای محیط، حضور کلاد D بر روی ۸ گونه از مرجان های نرم و سخت غالب اطراف جزیره لارک امری طبیعی است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر قدس به دلیل تامین پشتیبانی مالی، پرسنل موسسه ایرانیان ژن فناوری بابت کمک های تکنیکی و علمی و همین طور دکتر سید محمد رضا فاطمی به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند.

از این رو حضور کلاد D در خلیج فارس به دلیل تأثیر شرایط خشکی اطراف آن و نیز تغییرات دمایی، کاملاً طبیعی به نظر می رسد. در مجموع نتایج به دست آمده در مطالعات نشان می دهد که کلاد D می تواند یک هم زیست فرصت طلب برای زیستگاه های حاشیه ای و یا دچار تنش باشد. از طرفی می تواند در فرآیند بهبود جوامع پایدار مرجان های سفید شده نقش بسزایی داشته باشد (۱۹، ۲۲، ۲۵ و ۴۱). در آبسنگ های سدی عظیم استرالیا ۳ گونه از جنس *Sarcophyton* و ۲ گونه از جنس *Sinularia* مورد بررسی قرار گرفته اند و پژوهش های انجام شده حضور کلاد C را تأیید می نماید. با توجه به این که در این منطقه کلاد های C و D غالب می باشند، حضور کلاد C بر روی اوکتاکرال های این منطقه امری طبیعی به نظر می رسد (۴۰). بر خلاف مرجان های سخت، مرجان های نرم فاقد کالبد اسکلتی برای حفاظت از خود می باشند. بنابراین چنانچه دچار پدیده سفیدشدگی شوند و یا شرایط تنش زا برای مرجان هم چنان ادامه پیدا کند، از کالبد آن ها چیزی باقی نمی ماند. به همین دلیل در مورد میرش مرجان های نرم پس از سفیدشدگی اصطلاح ذوب شدن را به کار برده اند (۴۲).

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان می دهد که غالب بودن کلاد D به علت درجه حرارت بالای خلیج فارس و نیز شرایط ناپایدار تنگه هرمز در

References

1. Nybakken JW. Marine Biology, An Ecological Approach. Wesley. 2000; 481p.
2. Goldberg WM. The ecology of the coral-octocoral communities on the southeast Florida coast: geomorphology, species composition, and zonation. Bull Mar Sci. 1973; 23: 465-488.
3. Kinzie RA. The zonation of West Indian gorgonians. Bull Mar Sci. 1973; 23: 93-154.
4. Kinzie RA. Plexaura homomalla: the biology and ecology of a harvestable marine resource. Stud Trop Oceanogr. 1974; 12: 22-28.
5. Muzik K. Octocorallia (Cnidaria) from Carrie Bow Cay, Belize. Smithson Contrib Mar Sci. 1982; 12: 303-310.
6. Lasker HR, Coffroth MA. Octocoral distributions at Carrie Bow Cay, Belize. Mar Ecol Prog Ser. 1983; 13: 21-28.
7. Fabricius KE, Alderslade P. Soft corals and sea fans: a comprehensive guide to the tropical shallow water genera of the Central west Pacific, the Indian Ocean and the Red Sea. Australian Institute of Marine Science, Townsville. 2001.
8. Fabricius KE. Tissue loss and mortality in soft corals following mass-bleaching. Coral Reefs. 1999; 18: 54.
9. Strychar KB, Coates M, Sammarco P W, Piva T J. Loss of Symbiodinium from bleached soft corals *Sarcophyton ehrenbergi*, *Sinularia* sp. and *Xenia* sp. J Exp Mar Biol Ecol. 2005; 320: 159-177.
10. Baker AC, Starger C J, McClanahan T R, Glynn P W. Corals' adaptive climate change. Nature. 2004; 430(7001): 741

11. Goreau T, McClanahan T, Hayes R, Strong A. Conservation of coral reefs after the 1998 global bleaching event. *Cons Biol.* 2000; 14(1): 5-15.
12. Wilkinson C. The 1997-98 mass coral bleaching and mortality events: 2 years on. In: Wilkinson CR (ed) *Status of coral reefs of the world: 2000.* Australian Institute of Marine Science, Townsville, 2000; pp 21-34.
13. Glynn PW, Colley SB. A collection of studies on the effects of the 1997-98 El Niño-Southern Oscillation events on corals and coral reefs in the eastern tropical Pacific. *Bull Mar Sci.* 2001; 69(1): 1-288.
14. Rowan R, Powers DA. A molecular genetic classification of zooxanthellae and the evolution of animal-algal symbiosis. *Science.* 1991a; 251: 1348-1351
15. Baker AC. Flexibility and specificity in coral-algal symbiosis: diversity, ecology and biogeography of Symbiodinium. *Annu Rev Ecol Evol Syst.* 2003; 34: 661-689.
16. Pochon X, LaJeunesse TC, Pawlowski J. Biogeographic partitioning and host specialization among foraminiferan dinoflagellate symbionts (Symbiodinium; Dinophyta). *Mar Biol.* 2004; 146: 17-27.
17. Brown BE, Dunne RP, Goodson M S, Douglas A E. Experience shapes the susceptibility of a reef coral to bleaching. *Coral Reefs.* 2002; 21: 119-26.
18. Rowan R, Powers DA. Ribosomal RNA sequences and the diversity of symbiotic dinoflagellates (zooxanthellae). *Proc Natl Acad Sci USA.* 1992; 89(8): 3639-43.
19. Baker AC. Symbiosis ecology of reef-building corals. Ph.D dissertation, of Miami, 1999; pp. 120.
20. Loh W, Sakai K, Hoegh-Guldberg O. Coral zooxanthellae diversity in bleached reefs. *Proc. Int Coral Reef Symp., 9th, Bali,* p. 2000; 33.
21. Pochon X, Pawlowski J, Zaninetti L, Rowan R. High genetic diversity and relative specificity among Symbiodinium-like endosymbiotic dinoflagellates in soritid foraminiferans. *Mar Biol.* 2001; 139: 1069-1078.
22. van Oppen MJH, Willis B L, van Vugt HWJA, Miller D J. Examination of species boundaries in the *Acropora cervicornis* group (Scleractinia, Cnidaria) using nuclear DNA sequence analyses. *Mol Ecol.* 2000; 9: 1363-1373.
23. Pawlowski J, Holzmann M, Fahrni JF, Pochon X, Lee JJ. Molecular identification of algal endosymbionts in large miliolid foraminifera: 2. Dinoflagellates. *J Eukaryot Microbiol.* 2001; 48: 368-73.
24. Savage AM, Goodson MS, Visram S, Trapido-Rosenthal H, Wiedenmann J, Douglas A E. Molecular diversity of symbiotic algae at the latitudinal margins of their distribution: dinoflagellates of the genus Symbiodinium in corals and sea anemones. *Mar Ecol Prog Ser.* 2002a; 244: 17-26.
25. Toller WW, Rowan R, Knowlton N. Zooxanthellae of the *Montastraea annularis* species complex: Patterns of distribution of four taxa of Symbiodinium on different reefs and across depths. *Biol Bul.* 2001b; 201: 348-59.
26. Wilcox TP. Large subunit ribosomal RNA systematic of symbiotic dinoflagellates: morphology does not recapitulate phylogeny. *Mol Phylogenet Evol.* 1998; 10:436-448.
27. Brown BE, Dunne RP, Goodson MS, Douglas A E. Bleaching patterns in reef corals. *Nature.* 2000; 404: 142-43.
28. Brown BE, Dunne RP, Goodson MS, Douglas AE. Experience shapes the susceptibility of a reef coral to bleaching. *Coral Reefs.* 2002; 21: 119-26.
29. Hunter CL, Morden CW, Smith CM. The utility of ITS sequences in assessing relationships among zooxanthellae and corals. *Proc. Int. Coral Reef Symp., 8th, Panama.* 1997; 2: 1599-1602.
30. LaJeunesse TC. Investigating the biodiversity, ecology and phylogeny of endosymbiotic dinoflagellates in the genus Symbiodinium using the ITS region: In search of a "species" level marker. *J Phycol.* 2001; 37: 866-80.
31. LaJeunesse TC. Diversity and community structure of symbiotic dinoflagellates from Caribbean coral reefs. *Mar Biol.* 2002; 141: 387-400.
32. Santos SR, Taylor DJ, Kinzie RA, Hidaka M, Sakai K, Coffroth MA. Molecular phylogeny of symbiotic dinoflagellates inferred from partial chloroplast large subunit (23S)-rDNA sequences. *Mol. Phylogenet Evol.* 2002a; 23: 97-111.
33. Santos SR, Taylor DJ, Kinzie RA, Sakai K, Coffroth MA. Evolution of length variation and heteroplasmy in the chloroplast rDNA of symbiotic dinoflagellates (Symbiodinium, Dinophyta) and a novel insertion in the universal core region of the large subunit rDNA. *Phycologia.* 2002b; 41: 311-18.
34. Santos SR, Gutierrez-Rodríguez C, Coffroth MA. Phylogenetic identification of symbiotic dinoflagellates via length heteroplasmy in domain V of chloroplast large subunit (cp23S)-rDNA sequences. *Mar Biotechnol.* 2003a; 5: 134-40.
35. Pochon X, Pawlowski J, Zaninetti L, Rowan R. High genetic diversity and relative specificity among Symbiodinium-like endosymbiotic dinoflagellates in soritid foraminiferans. *Mar Biol.* 2001; 139:1069-78.
36. Rowan R. Thermal adaptation in reef coral symbionts. *Nature.* 2004; 430: 742.

37. Chen CA, Lam KK, Nakano Y, Tsai WS. Stable association of a stress-tolerant zooxanthellae, Symbiodinium clade D, with the low-temperate tolerant coral *Ouastrea crispata*, (Scleractinia; Faviidae) in subtropical non-reefal coral communities. *Zool Stud.* 2003; 42: 540-550.
38. Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 1994; 22(22): 4673-80.
39. Ghavam-Mostafavi PG, Fatemi MR, Shahhosseiny MH, Hoegh-Guldberg O, Loh WK. Predominance of clade D symbiodinium in shallow-water reef-building corals of Kish and Iarak islands (Persian Gulf, Iran). *Mar Biol*; 2007; 153: 25-34.
40. vanOppen MJH. Diversity of algal endosymbionts (zooxanthellae) in octocorals: the role of geography and host relationships *Molecular Ecology.* 2005; 14: 2403 - 241.
41. Baker AC. Reef corals bleach to survive change. *Nature.* 2001; 411: 765-66.
42. Benayahu Y, Loya Y. Competition for space among coral-reef sessile organisms at Eilat, Red Sea. *Bull Mar Sci.* 1981; 31: 514-522.



Presence of clade D Zooxanthellae in dominant sclerectinian and soft corals in Larak island, Persian Gulf

Mohammad Hassan Shahhosseiny¹, Pargol Ghavam Mostafavi²,
Gholamhossein Vosughi³, Sanaz Azadbody²

¹Associate Professor, Department of Microbiology, Islamic Azad University, Qods Branch, Tehran, Iran.

²Assistant Professor, Department of Marine Biology, Marine Science and Technology, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran.

³Professor, Veterinary Faculty, Tehran University, Tehran, Iran.

⁴M.Sc., Department of Marine Biology, Marine Science and Technology, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran.

Abstract

Background and Objectives: Dominant sclerectinian and soft corals contain the symbiotic single cell called zooxanthellae which have important role in preparing organic material for coral requirements. The coral reefs of this area in the gulf are always under effects of environmental conditions, such as subtropical latitude, temperature and salinity variations, changing symbiotic zooxanthellae. The aims of this study was identification of *Symbiodinium* clades and presence of clade D in sclerectinian and soft corals of Larak island by molecular methods.

Materials and Methods: Three soft coral species and five sclerectinian coral species were collected from north and north east of Larak island, respectively. After DNA extraction, partial 28S ribosomal DNA of *Symbiodinium* were amplified by polymerase chain reaction (PCR). Then PCR products were analyzed by phylogenetic analyses of the partial 28S ribosomal sequence.

Results: To follow amplification of 28S large ribosomal subunit gene, the 780 bp PCR products were sequenced and were compared to the gene bank. The results showed that all the symbiotic clades of soft corals in Larak Island belonged to clade D.

Conclusion: Dominance of clade D in sclerectinian and soft corals in Larak island due to of high temperature in the Persian Gulf and unstable condition of Hormoz strait is normal and natural.

Keywords: *Symbiodinium*, Clade D, Unicellular Algae, Persian Gulf