تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی – ملکولی

دوره چهارم، شماره شانزدهم، پائیز ۱۳۹۳

Research Article
مقاله تحقیقی

بررسی فیلوژنتیکی گونه Charybdis hellerii (سخت‌پوستان، خرچنگ‌ها) در سواحل بین جزر و مدی چابهار بر اساس توالی ژنی قطعه‌ی ۱ ژن سیتوکروم اکسیداز (CO1)

گیلان عطاران فریمان[۱] ، یاسرفاطمی[۲]

۱. هیئت‌علمی گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردری و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

۲. کارشناسی ارشد ، گروه زیست‌شناسی دریا ، دانشکده علوم دریایی ، دانشگاه دریانوردری و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

چکیده

سابقه و هدف: Charybdis hellerii گونه‌ی بسیار شناخته شده‌ای در اقیانوس هند است. بررسی‌های مولکولی فراوانی بر روی این گونه در سایر نقاط دنیا انجام شده است. در ایران مطالعات مولکولی بر روی خرچنگ‌ها نسبت به مطالعات ریخت‌شناسی سهم بسیار کم‌تری را به‌خود اختصاص داده‌اند. در تحقیق حاضر برای اولین‌بار در ایران به بررسی مولکولی گونه‌ی Charybdis hellerii جنس Charybdis پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها: نمونه‌برداری در سال ۱۳۹۲ در سواحل ماسه‌ای چابهار و در هنگام جزر کامل صورت گرفت. سپس نمونه‌های به آزمایشگاه برای نگهداری در دمای ۲۰- منتقل شدند. برای استخراج DNA برش بافتی از آبشش نمونه‌ها جدا گردید. عمل استخراج DNA با استفاده از روش Hexadecyltrimethylammonium bromide (CTAB) انجام گرفت. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) انجام شد. پس از توالی‌یابی، درخت فیلوژنی گونه‌ی مورد نظر رسم گردید.

یافته‌ها: با بررسی‌های مورفولوژی گونه مورد مطالعه Charybdis hellerii شناسایی گردید و بررسی‌های مولکولی داده‌های مورفولوژی را تأیید کردند. توالی نوکلئوتیدی به‌دست آمده در قطعه‌ی ۱ ژن سیتوکروم اکسیداز (CO1) مورد آنالیزهای مولکولی قرار گرفت. با آنالیزهای انجام‌شده و ترسیم درخت فیلوژنی مشخص شد که گونه‌ی ایرانی با ۹۴ درصد بوت استرپ حمایت با گونه C. hellerii در یک کلاد قرار گرفته است.

نتایج: نتایج حاصل از آنالیز Maximum Liklihood نشان داد که گونه‌ی مورد نظر درکلاد Eubrachyura قرار می‌گیرد که ۹۴ درصد شبیه به Charybdis hellerii است و در یک گروه خواهری قرار گرفتند. آنالیزهای مولکولی نتایج حاصل از بررسی‌های موفولوژی را تأیید می کند.

کلمات کلیدی: Charybdis hellerii، قطعه‌ی ۱ ژن سیتوکروم اکسیداز ، فیلوژنی ، چابهار ، سخت‌پوستان

مقدمه

خرچنگ‌ها از گروه‌های مهم سخت‌پوستان در ناحیه‌ی بین جزر و مدی هستند. آنها یکی از متنوع‌ترین شاخه‌های جانوری

نویسنده مسئول : گیلان عطاران فریمان

پست الکترونیکی: Gilan.attaran@gmail.com

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۱۰/۰۳

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۰۶/۲۱

Archive of SID

www.SID.ir

می‌باشند و حدود ۹۰۰۰ گونه‌ی زنده از آنها در حال حاضر وجود دارد. خرچنگ‌های حقیقی با داشتن حدود ۷۰۰۰ گونه‌ی زنده، ۱۲۷۱ جنس و ۹۳ خانواده، بیشترین تنوع را در بین خرچنگ‌ها دارند (۸ و ۳۵).

سواحل دریای عمان و به ویژه سواحل چابهار زیستگاه مهمی برای خرچنگ‌ها می‌باشند. مطالعات سیستماتیکی زیادی بر روی خرچنگ‌های سواحل ایران انجام شده است. با این حال بیشتر این مطالعات بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی آنها صورت گرفته است و مطالعات مولکولی سهم کمتری را به خود اختصاص داده‌اند. از اولین مطالعات جامعی که بر روی خرچنگ‌های خلیج‌فارس صورت گرفته می‌توان به تحقیقات Apel و Spiridonov اشاره کرد (۴). پس از آن Naderloo (۱۸ و۱۹)، Naderloo و همکاران (۳۲-۳۰)، Naderloo و Sari (۲۵-۲۲)، Naderloo و Apel (۲۰)، Naderloo و Ng (۲۱)، Naderloo و Schubart (۲۷-۲۶) و Naderloo و Türkay (۲۹-۲۸) در طی تحقیقات خود مطالعات بسیار جامع و مفیدی را بر روی خرچنگ‌های خلیج‌فارس و دریای عمان انجام دادند . Apel وSpiridonov در سال ۱۹۹۸ بررسی جامعی را بر روی خرچنگ‌های Portunidae در خلیج‌فارس و دریای عمان پرداختند. آنها به تشریح کامل خانواده‌ی Portunidae به خصوص جنس Charybdis پرداختند. جنس Charybdis از خانواده‌ی خرچنگ‌های Portunidae دارای دو زیر جنس Charybdis و Goniohellenus می‌باشد.

Charybdis hellerii از شناخته‌شده‌ترین گونه‌های این جنس است. این‌گونه دارای کاراپاس پهن و گاهی پوشیده از کرک می‌باشد، دارای ۶ دندان جلویی-جانبی تیز است که نوک همه‌ی آنها سیاه است. حاشیه‌ی جلویی Merus دارای ۳ خار مشخص و یک خار کوچک در قسمت انتهایی آن است. Carpus پاهای حرکتی یک خار در حاشیه‌ی پشتی خود دارند. در حاشیه‌ی پشتی propodus یک سری خار ریز وجود دارد (۳).

امروزه روش‌های مولکولی، مانند توالی یابی ژنوم میتوکندری یکی از کاربردی‌ترین روش‌ها برای تعیین رابطه فیلوژنتیکی بین جمعیت‌ها و گونه‌های نزدیک به‌هم محسوب می‌شود (۵). DNA میتوکندریایی (mtDNA) در تشخیص گونه‌ها و ترسیم رابطه فیلوژنتیکی دارای مزایایی از جمله تعداد کپی بالاتر در هر سلول، اندازه کوچک‌تر آن، وراثت‌پذیری مادری، هاپلوئید بودن، عدم وجود نوترکیبی، وجود نواحی حفاظت نشده‌ای مانند ناحیه D-loop برای مطالعات تکاملی گونه‌های وابسته می‌باشد (۴). گونه‌ی Charybdis hellerii (A. Milne Edwards, 1867) در سواحل ایران به خصوص سواحل چابهار پراکنش بالایی دارد (۴). این گونه به لحاظ مورفولوژیکی به خوبی شناخته شده است. با این حال تاکنون مطالعات مولکولی کمی بر روی آن انجام شده است. هدف این تحقیق بررسی مورفولوژی ، فیلوژنی و شناسایی مولکولی این‌گونه بر اساس قطعه‌ی ژنی سیتوکروم اکسیداز ۱ است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

در اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۲ و در هنگام جزر کامل نمونه‌برداری انجام شد. نمونه‌برداری از سواحل صخره‌ای و قلوه‌سنگی خلیج چابهار از ایستگاه‌هایی با شیب کم انجام شد (شکل ۱). سپس نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل و به مدت ۱ ساعت در دمای ۲۰- نگهداری شدند..

www.SID.ir

شکل ۱: محل نمونه‌برداری. خلیج چابهار - دریای عمان

استخراج DNA و توالی‌یابی

به منظور استخراج DNA برش‌های بافتی از آبشش نمونه‌ها جدا گردیده و به خوبی له کرده تا برای عمل لیز شدن بهتر آماده شوند. سپس به تیوب حاوی نمونه‌ها محلول CTAB (2% CTAB, 1.4M NaCl , 0.1% CTAB, 20mM EDTA and 100mM β_mercaptooethanol, TRIS-HCl pH8) اضافه شد. پس از اضافه نمودن پروتیئناز K و β-mercopthonal به DNA استخراج‌شده بسته به اندازه آن ۵۰-۳۰ میکرو لیتر محلول TE standard اضافه گردید. نمونه‌ها در فریزر ۲۰-درجه سانتی‌گراد تا انجام مراحل بعدی نگهداری شد . برای مشخص نمودن کیفیت DNA استخراجی، الکتروفورز انجام شد که از ژل آگارز ۱٪ و از اتیدیوم بروماید برای رنگ‌آمیزی نمونه‌های DNA استفاده گردید. ژل بعد از الکتروفورز به درون دستگاه UV Transluminator منتقل شد و پس عکسبرداری، نمونه DNAهای باکیفیت خوب برای واکنش زنجیره‌ای پلیمراز(PCR) انتخاب گردیدند.

واکنش زنجیره‌ای پلیمر از (PCR)

برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز از دو پرایمر جهت تکثیر قطعه ژنی سیتوکروم اکسیداز واحد ۱ به طول ۷۱۰ جفت باز استفاده گردید که پرایمرها در این مطالعه LCO1490 با توالی (۵'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') و HCO2198 با ترتیب نوکلوتیدی(۵'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3') بودند (8). مواد مورد استفاده در واکنش، شامل 15_{ng}DNA , 10 x PCR Buffer, $Mgcl_2$ 25mM ، dNTP 10mM ، 2.5uTaq DNA polymerase و دو پرایمر F و R ذکرشده در بالا بود. واکنش زنجیره‌ای پلی مراز توسط دستگاه ترموسایکلر Ependorfمدل 5331 در ۳۵ سیکل و با برنامه حرارتی زیر انجام گرفت. واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه، اتصال در دمای ۵۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و تکثیر در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه صورت گرفت. یک مرحله واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و یک مرحله تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه برای ۱۰ دقیقه نیز انجام شد(۷).

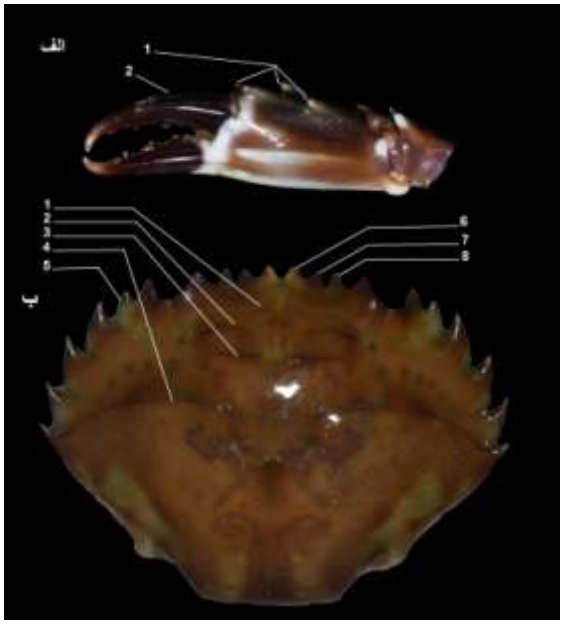
Archive of SID
www.SID.ir

آنالیزهای فیلوژنتیکی

کروماتوگرام های حاصل از تعیین توالی نمونه‌ها و هم ردیف-گرایی آنها با استفاده از نرم‌افزارهای BioEdit (۱۰) و ClustalX7.0 (۱۱) انجام گرفت. ماتریس داده‌های حاصله به وسیله‌ی نرم‌افزار MEGA۵ (12) تجزیه و تحلیل گردیدند. توالی ژنی گونه خرچنگ ایرانی با توالی ژنی ۲۱ گونه خرچنگ دیگر از بانک ژن مقایسه شد و گونه Armadillidium vulgare به عنوان group out در نظر گرفته شد. آنالیز فیلوژنی گونه‌ی مورد مطالعه با استفاده از روش Maximum likelihood (ML) انجام گرفت .

نتایج

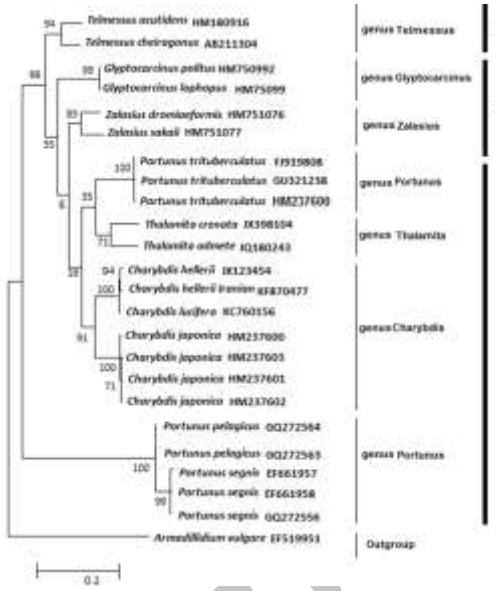
با انجام بررسی‌های مورفولوژیکی مشخص شد که، میانگین طول نمونه‌ها برای جنس نر بین ۷۰ تا ۱۰۰ میلی‌متر و برای جنس ماده بین ۵۰ تا ۷۰ میلی‌متر به‌دست آمد. کاراپاس پهن بوده پوشیده از کرک و یا فاقد آن است. در قسمت جلویی کاراپاس برآمدگی‌های متقاطع و منظمی دیده می‌شود. دارای یک جفت frontal کوتاه است، mesogastric به شکل منحنی به هم پیوسته‌ای است. metagastric به‌هم پیوسته است و یا در قسمت میانی دارای شکاف باریکی است. قسمت epibranchial دارای یک خمیدگی خفیفی است. فرانت (بجز در قسمت مدار بیرونی) کمی کوتاه‌تر از حاشیه‌ی خلفی است. دندانه‌های میانی گرد بوده و تا حدودی نسبت به دندانه‌های submedian تیزترند. دندانه‌های submedian گرد و مثلثی می‌باشند. دندانه‌های کناری به وسیله‌ی یک شکاف عمیق از دیگر دندانه‌ها جدا می‌شوند. حاشیه‌ی جلویی- جانبی پهن و دارای شش دندانه است که همه‌ی آن‌ها تیز و دارای نوک سیاه می‌باشند. بخش پایه‌ای آنتن‌ها دارای برآمدگی برجسته و دندانه‌دار می‌باشند. چنگک‌ها نسبتاً قطور، حاشیه‌ی جلویی merus پهن و دارای ۳ تا خار تیز است و در قسمت انتهایی خود نیز دارای یک خارچه می‌باشند. سطح خارجی manus دارای ۳ تا costae است. سطح داخلی آن دارای یک costae متوسط (گاهی ریز) است، هم‌چنین ممکن است یک costae ریز در حاشیه‌ی پایینی سطح داخلی دیده شود. حاشیه‌ی عقبی propodus نیز تا دارای یک سری خار تا سقف ۱۰ تا می‌باشند. سطح شکمی جنس نر و ماده دارای چندین costae متقاطعی هستند که در بخش چهارم شکم وجود دارند و حدود نیمی از این بخش را به خود اختصاص داده‌اند. سوراخ تناسلی جنس ماده به شکل سوراخ کلید می‌باشد.



شکل ۲: Charybdis hellerii الف : چنگک (۱) خارهای manus (۲) داکتیلوس. ب: (۱) برآمدگی‌های frontal (۲) برآمدگی‌های protogastric (۳) برآمدگی‌های mesogastric (۴) برآمدگی‌های epibranchial (۵) دندانه‌های حاشیه‌ی جلویی جانبی (۶) دندانه‌های میانی front (۷) دندانه‌های submedian ناحیه‌ی front (۸) دندانه‌های جانبی front.

نتایج آنالیزهای مولکولی و ترسیم درخت فیلوژنی به روش Maximum likelihood سه کلاد را که در این مطالعه به نام کلادهای A، B و C نشان داده‌شده است که گونه‌ی مورد مطالعه در کلاد A که گونه‌های متعلق به خانواده Portunidae است، قرار می‌گیرد و با ۹۴ درصد بوت استرپ (boot strap) حمایت می‌شود (شکل شماره ۳). کلادهای نشان داده شده در شکل هر سه رابطه خویشاوندی نزدیکی باهم دارند و جز کلاد Podotremata که از گروه‌های راسی خرچنگ‌های حقیقی می‌باشند هستند.

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۳: درخت فیلوژنی شامل ۲۲ گونه خرچنگ بر اساس توالی ژنی قسمتی از ژن CO1 با استفاده از آنالیز Maximum Liklihood. اعداد boot strap با 1000 replication را نشان می‌دهد. گونه‌ی Armadillidium vulgare به عنوان group out در نظر گرفته شده است.

بحث

درخت حاضر بر اساس توالی نوکلئوتیدی قطعه‌ی ۱ ژن سیتوکروم اکسیداز ۲۲ گونه از خرچنگ‌های حقیقی ترسیم گشته است. گونه‌ی Armadillidium vulgare از رده‌ی جور پایان و خانواده‌ی Armadillidiidae به عنوان group out در نظر گرفته شد. خرچنگ‌ها در دو کلاد اصلی خرچنگ‌های حقیقی و خرچنگ‌های کاذب قرار می‌گیرند (۳۴). خرچنگ‌های حقیقی با داشتن ۴ جفت پای حرکتی که به راحتی قابل‌مشاهده هستند، مشخص می‌شوند. این در حالی است که خرچنگ‌های کاذب ۳ جفت پای حرکتی واضح دارند و جفت چهارم در سطح زیرین بدن قرار دارد و به حالت چسبیده قرار گرفته است که به سختی قابل مشاهده است (۳۴). تحقیقات زیادی در دست است که نشان‌دهنده پارافایلیتیک بودن خرچنگ‌های کاذب و خرچنگ‌های حقیقی است (۳۶، ۱۷، ۱۶، ۹، ۶، ۲). در خرچنگ‌های حقیقی سطح شکمی متقارن بوده و به شدت تحلیل رفته است، یوروپودها غالباً دیده نمی‌شوند، پروپودهای ۲ تا ۵ ساده و به منظور حرکت استفاده می‌شوند، چشم‌ها در کنار آنتن‌ها قرار می‌گیرند، ماده‌ها فاقد پلوپود ۲ تا ۵ هستند، لاروها دارای کاراپاس کروی که در قسمت شکمی خود یک خار تیز و مستقیم را حمل می‌کنند. این در حالی است که خرچنگ‌های کاذب، سطح شکمی فاقد تقارن مارپیچی یا متقارن است، جفت پنجم پروپودها اغلب تحلیل رفته و نقش حرکتی ندارد و جاندار از آن برای پاک‌کردن آبشش‌ها استفاده می‌کند، پلوپودها تحلیل رفته و یا وجود ندارند، چشم‌ها بین آنتن‌ها قرار دارند، لارو ناپلیوس آنها طویل و خار تیز و مستقیم در قسمت جلویی دیده می‌شود(۳۴). خرچنگ‌های حقیقی خود در دو گروه اصلی Eubrachyura و Podotremata قرار می‌گیرند، وضعیت قرارگیری این دو گروه نسبت به‌هم همیشه مورد بحث قرار دارد. کلاد Podotremata به واسطه‌ی قرارگیری gonoporeها بر روی کوکسای پروپودها شناخته می‌شوند (۱). در تحقیقات مختلف Podotremata نسبت به Eubrachyura در وضعیت پارافایلی، مونوفایلی و پلی فایلی قرار می‌گیرند. به عنوان مثال این دو گروه در مطالعات Gouinot و همکاران (۹) و Mclay (۱۷) مونوفایلی، در مطالعات Martin و Davis (۱۶)، Ahyong و Omeally (۲) و Brosing و همکاران (۶) پارافایلی و در تحقیق Spears و همکاران (۳۶) در حالت پلی فایلیتیک قرار می‌گیرند، در این مطالعه تمام گونه‌های خرچنگ در کلاد Eubrachyura قرار گرفتند.

کلاد B را خانواده‌ی Xanthidae تشکیل می‌دهد. خانواده‌ی Xanthidae دارای چنگکی با نوک قاشق مانند است، بخش‌های سوم تا پنجم شکمی جنس ماده غیر متحرک، این بخش‌ها کاملاً به‌هم چسبیده‌اند ولی ممکن است شکاف‌هایی نیز در بین آنها قابل مشاهده باشد. در این خانواده Gonopod اول در جنس نر بسیار کشیده شده است و به شکل S است و نوک ساده‌ای دارد. Chia و Ng در سال ۱۹۹۴ جنس Glyptocarcinus را از زیر خانواده‌ی Eumedonidae جدا کرده و آن را در زیر خانواده‌ی جدید Antrocarcininae قراردادند (۳۳). جنس Glyptocarcinus دارای کاراپاس ۶ وجهی بوده که در حاشیه جلویی کناری خود دارای ۳ دندانه است. در

Archive of SID
www.SID.ir

تحقیق Lai و همکاران در سال ۲۰۱۱ گونه‌های جنس Glyptocarcinus در یک کلاد خواهری قرار گرفتند (۱۳) که بر اساس نتایج این تحقیق (شکل ۳) هم دو گونه در یک کلاد قرارگرفته و با ۱۰۰ درصد بوت استرپ حمایت می‌شود. هم-چنین گونه‌های زیر خانواده‌ی Zalasiinae (Zalasius sakaii و Zalasius dromiaeformis) در یک کلاد خواهری و مونوفایلتیک قرار گرفتند که همان‌طور که در شکل ۳ نیز دیده می‌شود در درخت حاضر نیز به صورت مونوفایلیتیک قرار گرفتند.

در کلاد C خانواده‌ی Cheiragonidae قرار می‌گیرند، که شامل جنس Telmessus و گونه‌های *T.*cheiragonus و *T.*acutidens است. این دو گونه با ۹۴ درصد بوت استرپ حمایت می‌شوند. در مطالعات Davis وMarti خانواده‌ی Cheiragonidae با ۸۹ درصد بوت استرپ در یک کلاد قرار گرفتند (۱۶).

خانواده‌ی Portunidae دارای کاراپاس ۶ وجهی بوده و دارای ۵ تا ۹ دندانه در حاشیه‌ی کناری جلویی خود می‌باشند. endopodit مگزیلاپد دوم دارای لوب توسعه یافته‌ای در سطح داخلی خود می‌باشد. دو بخش انتهایی پاهای آخری پارو مانند هستند. بخش‌های شکمی سوم تا پنجم در جنس ماده کاملاً به‌هم جوش‌خورده و غیر متحرک‌اند (۳۷). در مطالعه‌ی حاضر Portunus pelagicus و P. segnis در یک کلاد پارافایلی و با ۱۰۰ درصد حمایت قرار می‌گیرند. P. trituberculatus بیشترین واگرایی را در بین اعضای این جنس دارد و در یک کلاد جدا قرار می‌گیرد؛ بنابراین مونوفایلیتیک بودن جنس Portunus حمایت نمی‌شود. جنس Portunus با داشتن ۹ دندانه در حاشیه‌ی جلویی جانبی کاراپاس شناخته می‌شود. عرض کاراپاس بیشتر از طول آن بوده و دندانه‌ی ۹ طویل‌ترین دندانه است. در تحقیقی که Mantelatto در سال ۲۰۰۷ بر روی جنس Portunus در خلیج مکزیک و انجام دادند مونوفایلیتیک بودن این جنس را رد کردند (۱۵). Portunus pelagicus و P. segnis در تحقیق Lai و همکاران (۲۰۱۰) در یک کلاد پارافایلیتیک نسبت به‌هم قرار گرفتند. P. trituberculatus نسبت به این دو گونه در حالت پلی فایلیتیک قرار می‌گیرد (۱۴). جنس Charybdis دارای کاراپاس شش وجهی می‌باشد، front به ۶ لوب تقسیم شده است، دارای ۶ دندانه در حاشیه‌ی جلویی کناری خود می‌باشد، چنگک‌ها نابرابر، merus دارای خار، carpus دارای یک خار بزرگ در گوشه‌ی سطح داخلی و سه خار در سطح بیرونی خود می‌باشد، manus دارای خارهایی در سطح خارجی خود می‌باشد، اولین Gonopod کشیده و طویل می‌باشد و دارای موهایی در حاشیه‌های داخلی و خارجی خود می‌باشد (۳۸، ۴). گونه‌های Charybdis hellerii و Charybdis lucifera از لحاظ مورفولوژیکی بسیار به‌هم نزدیک‌اند. Charybdis hellerii دارای کاراپاس پهنی بوده که پوشیده از کرک و یا بدون کرک می‌باشد. دارای یک جفت frontal کوتاه می‌باشد، mesogastric به شکل منحنی به‌هم پیوسته‌ای است. metagastric به‌هم پیوسته است و یا در قسمت میانی دارای شکاف باریکی می‌باشد. قسمت epibranchials دارای خمیدگی خفیفی می‌باشد. front (به‌جز در قسمت مدار بیرونی) کمی کوتاه‌تر از حاشیه‌ی خلفی است. حاشیه‌ی جلویی- جانبی پهن و دارای شش دندانه می‌باشد که همه‌ی آنها تیز و دارای نوک سیاه می‌باشند. حاشیه‌ی جلویی merus پهن و دارای ۳ تا خار تیز می‌باشد و در قسمت انتهایی خود نیز دارای یک خارچه می‌باشند. سوراخ تناسلی جنس ماده شبیه به سوراخ کلید می‌باشد (۳۸،۳). Charybdis lucifera دارای کاراپاس پهن بدون کرک، دوتا metagastric کوتاه و یک جفت برآمدگی epibranchials می‌باشد. front به‌جز در قسمت لوب مداری داخلی، عریض‌تر از حاشیه‌ی پهن عقبی می‌باشد. حاشیه‌ی جلویی – کناری دارای ۶ دندانه می‌باشد که از دندانه ۱ تا دندانه‌ی ۵ به طور ضعیفی اندازه‌ی آن‌ها بزرگ‌تر می‌شود و دندانه آخری کوچک‌تر از بقیه بوده و حالت خارچه دارد. بخش جلویی و پهن merus به ۳ تا خار چنگال مانند مجهز شده است و بخش عقبی آنها بدون خار می‌باشد. سوراخ تناسلی جنس ماده کوچک و تخم‌مرغی شکل است (۳۸،۳).

همان‌طورکه در شکل ۳ نیز مشاهده می‌شود داده‌های مولکولی نیز نزدیکی این دو گونه را به‌هم تأیید می‌کند. در این مطالعه Charybdis hellerii و Charybdis lucifera با ۱۰۰ درصد

Archive of SID

www.SID.ir

حمایت در کلاد خواهری قرار می‌گیرند. گونه‌ی ایرانی نیز با ۱۰۰ درصد حمایت در کلاد خواهری Charybdis hellerii و Charybdis lucifera قرار می‌گیرد. با توجه به مشخصات ظاهری مشخص شد که گونه‌ی ایرانی Charybdis hellerii می‌باشد. اطلاعات بدست آمده در درخت فیلوژنی نیز مؤید این امر می‌باشد.

به لحاظ نزدیکی و شباهت زیاد گونه‌های جنس Charybdis بهم، مطالعات مولکولی بیشتر، می‌تواند وضعیت قرارگیری گونه‌های این جنس را بهتر مشخص کند.

سپاسگزاری

در پایان از تمامی عوامل دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار به خصوص مهندس حسن زادعباس شاه‌آبادی که ما را در تمام مراحل این تحقیق همیاری کردند، کمال تشکر و قدردانی را داریم. هم‌چنین از دکتر رضا ندرلو به‌خاطر راهنماییهای ارزشمندشان در تمامی مراحل انجام این تحقیق سپاسگزاری می‌کنیم.

منابع

(1) Ahyong ST, Ng PKl, Lai JCY, Sharkey D, Colgan D J. Phylogenetics of the brachyuran crabs (Crustacea: Decapoda): The status of Podotremata based on small subunit nuclear ribosomal RNA. Mol. Phylogenet Evol. 2007; 45: 576–586.
(2) Ahyong ST, O'Meally D. Phylogeny of the Decapoda Reptantia: resolution using three molecular loci and morphology. Raff Bull Zool. 2004; 52 (2): 673–693.
(۳) Apel M, Spiridonov VA. Taxonomy and zoogeography of the portunid crabs (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Portunidae) of the Arabian Gulf and adjacent waters. Fauna of Arabia. 1998; 17: 159–331.
(٤) Bellagamba F, Moretti VM, Comincini S, Valfare F. Identification of species in animal feedstuffs by polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism analysis of mitochondrial DNA. J Agric Food Chem. 2001; 49: 3775-3781.
(٥) Bruford M, Bradley D, Luikart G. DNA markers reveal the complexity of livestock domestication. Nat Rev Genet. 2003; 3: 900-910.
(٦) Brosing A, Richter S, Scholtz G. Phylogenetic analysis of the Brachyura (Crustacea, Decapoda) based on characters of the foregut with establishment of a new taxon. J Zool Syst Evol Res. 2006; 45 (1): 20–32.
(7) Chu KH, Tong J, Chan TY. Mitochondrial cytochrome oxidase I sequence divergence in some Chinese species of Charybdis (Crustacea: Decapoda: Portunidae). Biochem Syst Ecol. 1999; 27 : 461-468.
(8) Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Mol Mar Biol Biotechnol. 1994; 3: 294–299.
(9) Guinot D, Jamieson BGM, Richer de Forges, B. Relationship of Homolidae and Dromiidae: evidence from spermatozoal ultrastructure(Crustacea, Decapoda). Acta Zool. 1994; 75 (3): 255–267.
(10) Hall TA. BIOEDIT: A user-friendly biological sequence aligment editor and analysis for Windows 95/98/NT. Nucleic Symp Ser. 1999; 41: 95-98.
(11) Jeanmougin F, Thompson JD , Gouy M, Higgins DG, Gibsonn TJ. Multiple sequence alignment with Clustal X.Trends . Biochem. Sci, 1998, 23: 403–405.
(12) Kumar S, Tamura K, Nei M. MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis software for microcomputers.Comput. Appl. Biosci. 1994; 10 (2): 189–91.
(13) Lai J CY, Mendoza JCE, Ng PKl, Guinot D, Clark FP. Xanthidae MacLeay, 1838 (Decapoda: Brachyura: Xanthoidea) systematics: A multi-gene approach with support from adult and zoeal morphology. Zool Anz. 2011; 250: 407–448
(14) Lai JCY, Ng PKL, Davie PJF. A revision of the portunus pelagicus (linnaeus, 1758) species complex (crustacea: brachyura: portunidae), with the recognition of four species. Raff Bull Zool. 2010; 58(2): 199–237
(15) Mantelatto FL, Robles R, Felder DL . Molecular phylogeny of the western Atlantic species of the genus Portunus (Crustacea, Brachyura, Portunidae). Zool J Linn. Soc. 2007; 150: 211–220.
(16) Martin JW, Davis GE. An Updated Classification of the Recent Crustacea. Nat Hist Mus L.A. County Sci Ser. 2001; 39: 1–124.
(17) McLay CL. Crustacea Decapoda: revision of the family Dynomenidae. In: Crosnier, A. (Ed.), Re´sultats des campagnes Musorstom. Me´m Mus nat Hist nat Paris, pp. 1999; 180: 427–569.
(18) Naderloo R. Invasive Hepu mitten crab, Eriocheir hepuensis (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Varunidae) from the Iranian marshland in the northern Persian Gulf estuarine system. Marine Biodiversity Records. 2014; 7: 1-3.
(19) Naderloo R. Grapsoid crabs (Decapoda: Brachyura: Thoracotremata) of the Persian Gulf and the Gulf of Oman. Zootaxa. 2011; 3048: 1–43.

Archive of SID
www.SID.ir

(20) Naderloo R, Apel M. Leucosiid crabs of the genus Hiplyra Galil, 2009 (Crustacea; Brachyura; Leucosiidae) from the Persian Gulf and the Gulf of Oman with describing a new species. Zool Stud. 2012; 52 (2): 248–258.
(21) Naderloo R, Ng PKL. Rediscovery of the rare pilumnid crab, Actumnus simplex Rathbun, 1911 (Decapoda, Brachyura) and a new record for the Persian Gulf. Crustaceana, 2011; 84 (12–13): 593–604.
(22) Naderloo R, & Sari A. Iranian subtidal leucosiid crabs (Crustacea: Decapoda: Brachyura) of the Persian Gulf. Taxonomy and zoogeography. IJAB. 2005a; 1: 31–46.
(23) Naderloo R, Sari A. New record of a trapeziid crab, Quadrella reticulata Alcock, 1898 (Brachyura: Trapeziidae) from the Persian Gulf. IJAB. 2005b; 1: 67–73.
(24) Naderloo, R. & Sari, A. New record of Hyastenus inermis (Rathbun, 1911) (Brachuyra, Majidae) From the Persian Gulf, Iran. Crustaceana. 2007a; 80 (10): 1261–1264.
(25) Naderloo R, Sari A. Subtidal crabs of the Iranian coast of the Persian Gulf. New collections and biogeographic considerations. Aquat Ecosyst Health. 2007b; 10 (3): 341–349.
(26) Naderloo R, Schubart CD. Redescription and mitochondrial identification of Chiromantes boulengeri (Calman, 1920) (Decapoda: Brachyura: Sesarmidae) based on fresh material from the Persian Gulf, Iran. Zootaxa. 2009; 2128: 61–68.
(27) Naderloo R, Schubart CD. Description of a new species of Parasesarma (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Sesarmidae) from the Persian Gulf, based on morphological and genetic characteristics. Zool Anz. 2010; 249: 33–43.
(28) Naderloo R, Türkay M. A new species of the genus Nanosesarma (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Sesarmidae), and redescription of Nanosesarma jousseaumei (Nobili, 1906), including new records from the Persian Gulf. J Nat Hist. 2009; 43: 2911–2923.
(29) Naderloo R, Türkay M. A new species of the Macrophthalmus boscii-group (Decapoda: Brachyura: Macrophthalmidae) from the Persian Gulf with designation a neotype for M. boscii Audouin (1826). Mar Biodivers. 2011; 41: 503–515.
(30) Naderloo R, Moradmand M, Sari A, Türkay M. An annotated check list of hermit crabs (Crustacea: Decapoda: Anomura) of the Persian Gulf and the Gulf of Oman with five new records and an identification key to the North Indian Ocean genera. Zoosyst Evol. 2012, 80 (1): 63–70.
(31) Naderloo R, Türkay M, Chen HL. Taxonomic revision of the wide-front fiddler crabs of the Uca lactea group (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Ocypodidae) in the Indo-West Pacific. Zootaxa. 2010; 2500: 1–38.
(32) Naderloo R, Türkay M, Apel M. Brachyuran crabs of the family Macrophthalmidae Dana, 1851 (Decapoda: Brachyura: Macrophthalmidae) of the Persian Gulf. Zootaxa. 2011; 2911: 1–42.
(33) Ng PKl, Chia DGB. The genus glyptocarcinus takeda, with descriptions of a new subfamily, two new genera and two new species from new caledonia (crustacea: decapoda: brachyura: xanthidae). Raff Bull Zool. 1994; 42(3): 701–731.
(34) Ng PKl.; FAO species identification guide for fishery purposes the living marine resources of the western central pacific Volume 2. Crabs, 1998; 1045-1155.
(35) Ng PKL, Guinot D, Davie PJ. Systema Brachyrorum: Part I. An Annotated Checklist of Extant Brachyuran Crabs of the World. Raff Bull Zool. 2008; 17: 1–286.
(36) Spears T, Abele LG, Kim W. The monophyly of brachyuran crabs: a phylogenetic study based on 18S rRNA. Syst. Biol. 1992; 41 (4): 446–461.
(37) Vannini M, innocent G. Research on the coast of Somalia. Portunidae (Crustacea Brachyura). Trop Zool. 2000; 13: 251-298.
(38) Wee DVC, Ng PKL. Swimming crabs of the genera charybdis de haan, 1833, and thalamita latreille, 1829 (crustacea: decapoda: brachyura: portunidae) from peninsular malaysia and Singapore. Raff Bull Zool. 1995; 1: 128 pp.

Archive of SID

www.SID.ir