بررسی تنوع زیستی راسته ی زوانتاریا در خلیج فارس: جزیره هرمز

آتوسا نوری کوپائی[۱]، پرگل قوام مصطفوی*[۱]، جلیل فلاح مهرآبادی[۲]، سید محمد رضا فاطمی[۱]

۱. گروه زیست شناسی دریا ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم وتحقیقات تهران، تهران، ایران
۲. گروه مهندسی ژنتیک، پژوهشکده علوم وفناوری زیستی، دانشگاه صنعتی مالک اشتر، تهران، ایران

چکیده:

راسته ی زوانتاریا (زوانتید) یکی از راسته های شاخه ی گزنه سانان است که در منطقه ی خلیج فارس کمتر مورد بررسی قرار گرفته است. به همین لحاظ هدف از مطالعه ی حاضر بررسی تنوع زیستی این راسته با استفاده از مطالعات مورفولوژیک و مولکولی در جزیره هرمز می باشد. بدین منظور ۳۴ کلنی متنوع در طیف وسیعی از رنگ و شکل از پهنه های جزر و مدی و نواحی کم عمق جزیره هرمز جمع آوری شد. پس از نمونه برداری ویژگی های مورفولوژیک هر نمونه با استفاده از عکس های میدانی ثبت گردید. سپس در آزمایشگاه DNA نمونه ها با استفاده از روش CTAB-Chloroform استخراج و قطعه ژنی میتوکندریائی 16S rDNA تکثیر و توالی یابی شد. نتایج شناسائی های مورفولوژیکی همراه با بررسی فیلوژنی توالی های به دست آمده از نشانگر میتوکندریائی حاکی از وجود سه گونه *Zoanthus sansibaricus*، *Palythoa* cf. *mutuki* و*Palythoa tuberculosa* از این راسته در منطقه مورد مطالعه می باشد. ویژگی های مورفولوژیک پیش از بررسی های مولکولی در تفکیک گونه ای زوانتیدها موفق نبود اما با شناسائی های مولکولی گونه ها، ویژگی های مورفولوژیک مطالعه ی حاضر از این پس می تواند به عنوان معیارهای شناسائی مورفولوژیک گونه ای زوانتیدها محسوب شود.

واژگان کلیدی: مورفولوژی، فیلوژنی، *Zoanthus*، *Palythoa* ، mt 16s rDNA .

*نویسنده مسوول، پست الکترونیک: mostafavi_pa@srbiau.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

۱. مقدمه

راسته ی Zoantharia که به آن نام عمومی زوانتید (Zoanthid) اطلاق می گردد، یکی از راسته های بزرگ هگزاکورال است. این گزنه سانان بستر زی به داشتن دو ردیف تنتاکل و یک سیفونوگلیف منفرد شکمی شناخته شده اند. زوانتیدها به صورت کلنی هستند و پلیپ های آن ها به وسیله ی بافت نرمی به نام کونانشیم به هم متصل اند (Sinniger et al., 2005). اغلب زوانتیدها با ذخیره شن و ماسه در مزوگله خود سبب استحکام ساختار بدنی شان می شوند. این گزنه سانان بستر زی پراکنش جهانی داشته و در بسترهای سخت و صخره ای آب های کم عمق مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری به وفور یافت می شوند (Reimer et al., 2011b).

تنوع زیستی زوانتیدها برای سالیان متمادی همواره در پاره ای از ابهام بوده است. تنوع مورفولوژیک بالای درون گونه ای (Burnett et al., 1994; 1997; Reimer et al., 2004) ، تغییرات ریختی پلیپ و کلنی تحت شرایط محیطی (Burnett et al., 1997)، ناممکن بودن تهیه مقطع بافت به سبب پوشش شن و ماسه (Reimer at l., 2010) و نبود معیارهای صحیح جهت تفکیک گونه ها از مهمترین عوامل این نابسامانی تاکسونومیکی بوده است.

طی دو دهه اخیر، استفاده از توالی یابی نشانگرهای میتوکندریائی و مطالعات فیلوژنی سبب سامان دهی به رده بندی زوانتیدها شده است. Sinniger و همکاران در سال ۲۰۰۸ عنوان کردند که نشانگر میتوکندریائی ۱۶ S ریبوزومی DNA، مناسب ترین نشانگر در شناسائی زوانتیدها تا سطح گونه است. استفاده از این نشانگر مولکولی، بازنگری نمونه های شناسائی شده را ممکن ساخته (Reimer et al., 2007; 2006a; 2006b) و منجر به کشف گونه ها (Reimer et al., 2006 a)، جنس ها (Sinniger et al., 2010) و خانواده های جدید (Fuji and Reimer, 2011) گردیده است.

خلیج فارس یک دریای نیمه بسته است که تنها از طریق تنگه باریک هرمز با آب های آزاد در ارتباط است (Pous et al., 2004). نوسانات فصلی دما و شوری بسیار بالای این دریای نیمه بسته شرایط اکولوژیکی آن را خاص و منحصر به فرد کرده است، شرایط سختی که حیات موجودات زنده را در آن دشوار ساخته (Coles and Fadlallah, 1991) و بر تنوع زیستی این پیکره ی آبی تاثیر گذارده است. تا کنون مطالعات متعددی روی تنوع زیستی بی مهرگان خلیج فارس صورت گرفته است. دو راسته ی شناخته شده از زیر رده ی هگزاکورال، راسته ی Scleractinia (Rezai, 1995; Rezai et al., 2004; Rezai and Savari, 2004; Rezai et al., 2010) و راسته ی Alcyonaria (Samiei et al., 2009; Samimi Namin & Van Ofwegen, 2013)، همواره در مرکز توجه محققان بوده اند در حالی که تنوع زیستی راسته ی Zoantharia هیچ گاه مورد بررسی قرار نگرفته و نسبت به دو راسته ی قبل کمتر شناخته شده است. در بین جزایر خلیج فارس، جزیره ی هرمز، یکی از چهار جزیره ای است که در تنگه هرمز، تنها محل ارتباطی خلیج فارس با دریای عمان و اقیانوس هند، واقع شده است. مطالعه ی حاضر با هدف بررسی تنوع زیستی زوانتیدهای خلیج فارس روی زوانتیدهای جزیره ی هرمز انجام شد. نمونه های زوانتید جمع آوری شده از جزیره ی هرمز، ابتدا از لحاظ مورفولوژیک بررسی شده، سپس توالی یابی قطعه ژنی 16S rDNA و ترسیم درخت های فیلوژنی بر مبنای آن ها توانست مرزهای بین گونه ای آن ها را آشکار سازد.

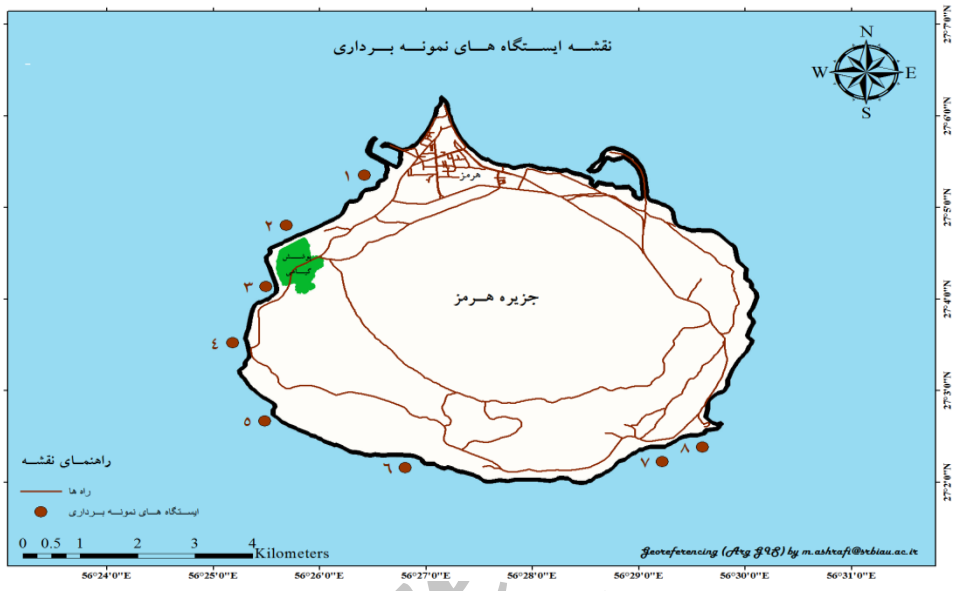
۲. مواد و روش ها

۳۴ کلنی زوانتید با رنگ های متنوع در اسفند ماه ۱۳۹۱ از بسترهای صخره ای ناحیه ی جزر و مدی تا

Archive of SID

www.SID.ir

عمق سه متر جمع آوری گردید. ایستگاه های نمونه برداری در شکل ۱ نشان داده شده است. پیش از برداشت از نمونه ها عکسبرداری شد تا جهت بررسی های مورفولوژیک با استفاده از منابع پیشین (Reimer, 2007a; Reimer et al., 2006) استفاده گردند (شکل ۲). نمونه ها پس از برداشت در اتانول مطلق نگهداری و به آزمایشگاه بیولوژی دریا واقع در مجتمع آزمایشگاهی زکریای رازی دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات منتقل و در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند.



شکل ۱. ایستگاههای نمونه برداری در اطراف جزیره ی هرمز

ابتدا ویژگی های مورفولوژیک هر یک از نمونه ها از جمله شکل، رنگ و نوع پلیپ، رنگ شکاف دهانی، منطقه دهانی و صفحه دهانی، رنگ و تعداد تنتاکل ها با استفاده از تصاویر میدانی (شکل۲) ثبت گردید (جدول ۱). سپس تمام ویژگی های مورفولوژیک ذکر شده در جدول ۱ وارد نرم افزار Excel شده و مجموع نمونه ها بر اساس داشتن یا نداشتن هر یک از ویژگی ها به تفکیک با اعداد صفر و یک رمز گذاری شدند. در نهایت ماتریکس تشابه بین نمونه ها با استفاده از ضرایب تشابه Simple matching در نرم افزار NTSYS (2.02) (Rohlf, 1998) محاسبه و دندروگرام مربوطه با روش UPGMA رسم گردید.

جهت انجام مطالعات مولکولی، استخراج DNA به روش CTAB-Chloroform (Baker et al., 1999) صورت گرفت. کمیت و کیفیت با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز یک درصد توسط تانک الکتروفورز BIORAD تعیین گردید. سپس با استفاده از آغازگر اختصاصی زوانتید (Sinniger et al., 2005) واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) با استفاده از دستگاه ترموسایکلر BIORAD جهت تکثیر قطعه ژنی 16S rDNA انجام گرفت. هر واکنش در حجم ۲۵ میکرولیتری شامل بافر (۱x)، ۱ میلی مولار $MgCl_2$ ، ۰/۲ میلی مولار dNTP، ۰/۲ میکرومولار از هر آغازگر رفت و برگشت، ۱/۵ U آنزیم *Taq* DNA Polymerase و ۲۰-۳۰ نانوگرم DNA الگو بود. برنامه حرارتی برای واکنش مورد نظر شامل: مرحله واسرشته سازی اولیه: ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۲ دقیقه و مرحله واسرشته سازی: ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه، مرحله ی الحاق:

Archive

www.SID.ir

۵۲ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله ی بسط: ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۹۰ ثانیه و نهایتاً مرحله ی بسط نهائی: ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۷ دقیقه و تعداد چرخه ها ۳۰ چرخه در نظر گرفته شد. محصولات تکثیر شده (PCR) به همراه سایز مارکر bp 100 و رنگ ژل قرمز بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شدند. پس از ثبت تصاویر ژل ها توسط دستگاه Gel Documantation شرکت UNITEC، اندازه و کیفیت نمونه ها مشخص گردید. نهایتاً محصولات PCR مناسب جهت توالی یابی به شرکت ماکروژن کره جنوبی ارسال شدند.

توالی های به دست آمده با استفاده از نرم افزار CLUSTALW(Thompson et al., 1994) با یکدیگر تنظیم گردیدند. جهت شناسائی نمونه ها از توالی های ثبت شده در بانک ژن جهانی استفاده شد. آنالیزهای فیلوژنی پس از تشکیل ماتریس داده ها، با استفاده از روش های بیشینه ی صرفه جوئی (Maximum Parsimony) و بیشینه ی احتمال (Maximum Likelihood) انجام گرفت. پیش از انجام آنالیز ML با استفاده از نسخه ی ۲/۳ برنامه MrModeltest (Nylander, 2004) و بر اساس معیار اطلاعاتیAIC (Akaike Information Criterion) مدل GTR+I = General- Time- Reversible (Rodriguez et al., 1990) برای داده های مورد نظر، انتخاب شد. آنالیزهای MLوMP برای داده های مطالعه حاضر همراه با توالی مرجع با استفاده از نرم افزار PAUP نسخه 4b10 (Swofford, 2003) انجام شد. برای انجام آنالیزها از آلگوریتم مبادله ی شاخه به روش دو نیمه سازی درخت و اتصال مجدد (TBR= Tree- Bisection- Reconnection) و روش جستجوی اکتشافی (heuristic search) استفاده شد که به صورت تصادفی ۱۰۰ توالی اضافی را نیز بررسی می کند. در روشMaximum Likelihood تعداد بوت استراپ ۱۰۰ در نظر گرفته شد، یعنی ۱۰۰ بار درخت فیلوژنی رسم و حدود اطمینان کلادها بررسی می گردد. کلادهایMP با ۱۰۰۰ تکرار بوت استراپ بررسی شدند.

۳. نتایج

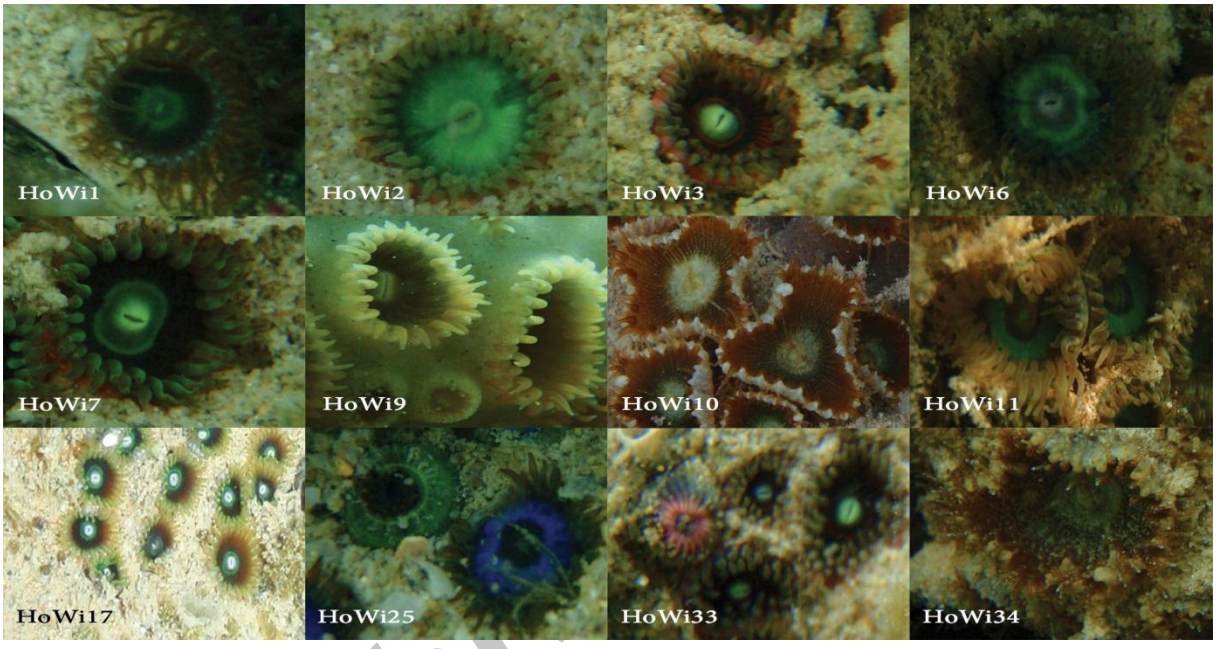
شناسائی های مورفولوژیک:

۳۴ کلنی جمع آوری شده در جزیره ی هرمز بر اساس ویژگی های مورفولوژیک به سه گروه تقسیم شدند: *Palythoa mutuki*، *Palythoa tuberculosa* و *Zoanthus* spp. ۱۱ نمونه از کلنی های جمع آوری شده به سبب داشتن پلیپ هائی کرم یا قهوه ای و پوششی از شن و ماسه متعلق به جنس *Palythoa* بودند. از این بین نیز سه کلنی (HoWi4، HoWi9 و HoWi23) با داشتن پلیپ هائی پنهان و فرو رفته در بافت کونانشیم (immersae) به عنوان گونه *Palythoa tuberculosa* از دیگر نمونه های این جنس تمیز داده شدند. هشت کلنی باقیمانده ویژگی های ریختی گونه *Palythoa mutuki*یعنی داشتن پلیپ هائی آزاد و برآمده از کونانشیم (liberae) و صفحه دهانی سبز یا قهوه ای را دارا بودند. ۲۳ نمونه ی باقیمانده به سبب داشتن پلیپ هائی صاف و آزاد (liberae) بدون پوششی از شن و ماسه در گروه مورفولوژیک *Zoanthus* spp.جای گرفتند. از آنجائیکه جنس *Zoanthus* تنوع رنگی بسیار گسترده ای دارد، شناسائی گونه ای آن بدون استفاده از روش های مولکولی ناممکن است. تمام ویژگی های مورفولوژیک هر یک از نمونه ها از جمله شکل، رنگ و نوع پلیپ، رنگ شکاف دهانی، منطقه دهانی و صفحه دهانی، رنگ و تعداد تنتاکل ها در جدول ۱ ذکر گردیده است. بر اساس ویژگی های ذکر شده در جدول ۱ دندروگرام مورفولوژیک ترسیم شد. دندروگرام حاصل از ویژگی های مورفولوژیک (شکل ۳) در ضریب تشابه ٪۸۱ جنس *Palythoa* و *Zoanthus* را از یکدیگر تفکیک کرد. در ضریب تشابه حدود ٪۸۳

Archive of SID

www.SID.ir

دو گونه *Palythoa mutuki* و *Palythoa tuberculosa* از یکدیگر تفکیک شد، در حالیکه نمونه های *Palythoa tuberculosa* تا ضریب تشابه ٪۱۰۰ همچنان در یک کلاستر مشترک قرار داشتند، گروه *Palythoa mutuki* به سبب داشتن دو تنوع رنگی مختلف در صفحه دهانی، در ضریب تشابه ٪۹۸ به دو کلاستر مجزا تمایز پیدا کرد. هر گروه از زوانتیدهای جنس *Zoanthus* بر اساس میزان شباهت در سطحی از تشابه تفکیک یافتند و نهایتاً در ضریب تشابه ٪۱۰۰ به نه کلاستر تمایز پیدا کردند به نحوی که هر کلاستر در بر گیرنده نمونه هائی با تنوع رنگی خاص خود بود.



شکل ۲. تصاویر نمونه های مطالعه شده پیش از نمونه برداری. هر تصویر نماینده ی یک گروه مورفولوژیک است.

مطالعات مولکولی و فیلوژنتیکی:

توالی های قطعه ژنی mt 16S rDNA از هر ۳۴ نمونه ی جمع آوری شده در جزیره ی هرمز به دست آمد.

تطبیق توالی های به دست آمده با توالی های گزارش شده ی پیشین نشان داد تمام نمونه های گروه مورفولوژیک *Zoanthus* منطبق با توالی های ثبت شده از گونه *Zoanthus sansibaricus* (JF419761 و AB219187) می باشند. توالی های گروه مورفولوژیک *Palythoa tuberculosa* نیز کاملاً بر توالی های ثبت شده این گونه (DQ997860 و AB219218) منطبق بودند. لیکن توالی های به دست آمده از نمونه های گروه مورفولوژیک *Palythoa mutuki* با داشتن دو نوکلئوتید اختلاف از 1 *Palythoa mutuki* (DQ997875) و سه نوکلئوتید تفاوت با *Palythoa* 2 *mutuki* (DQ997841)، بر هیچ یک کاملاً منطبق نبود.

در درخت فیلوژنی حاصل از تطبیق توالی های mt 16S rDNA (شکل ۴)، *Palythoa* و*Zoanthus* هر یک کلادی بزرگ را تشکیل دادند. ارزش های بوت استراپ و احتمال پسین برای کلاد *Palythoa* و*Zoanthus* به ترتیب به شرح ذیل است: *Palythoa*: ML= ٪۶۰ و MP= ٪۸۶ و *Zoanthus* : ML=٪۱۰۰ و MP= ٪۹۸ . در

Archive
www.SID.ir

کلاد *Palythoa* ، نمونه های *Palythoa tuberculosa* همان طور که در شناسائی مورفولوژیک ابتدائی پیش بینی شده بود در کلاد *Palythoa tuberculosa* قرار گرفتند(ML= ٪۵۸ و MP=٪۶۵). لیکن نمونه های گروه مورفولوژیک *Palythoa mutuki* کلادی جداگانه از گونه *Palythoa mutuki* تشکیل دادند. این کلاد که *Palythoa* cf. *mutuki* نام گرفت در پایه ی کلاد *Palythoa tuberculosa* و*Palythoa mutuki* قرار داشت و خود با ارزش های بوت استراپ بالا (ML= ٪۸۶ و MP= ٪۸۹) حمایت گردید. تمام نمونه های جنس *Zoanthus* نیز با حمایت بسیار بالای ارزش های بوت استراپ (ML=٪۸۷ و MP=٪۹۳) در کلاد گونه ای *Zoanthus sansibaricus* قرار گرفتند.

جدول ۱. ویژگی های مورفولوژیک نمونه های جمع آوری شده

نام گروه گونه ای	شماره گروه رنگی	نام نمونه	نوع پلیپ	رنگ پلیپ	شکاف دهانی	رنگ منطقه دور دهانی	رنگ صفحه دهانی	رنگ تنتاکل ها	تعداد تنتاکل ها
Zoanthus spp.	گروه ۱	HoWi1 HoWi16 HoWi19	Liberae	بنفش، در اطراف صفحه دهانی سفید رنگ	سفید	سبز روشن تفکیک یافته با نواری به رنگ سبز	سبز تیره یا به ترتیب سبز تیره و قهوه ای	قهوه ای روشن مایل به سبز	حدود ۴۷-۵۲
	گروه ۲	HoWi2	Liberae	سبز روشن، در اطراف صفحه دهانی صورتی رنگ	سبز روشن	سبز روشن	سبزی به مراتب تیره تر از صفحه دهانی	سبز روشن	حدود ۵۱
	گروه۳	HoWi5 HoWi7 HoWi15 HoWi21 HoWi22 HoWi24 HoWi28	Liberae	بنفش، در اطراف صفحه دهانی سفید یا صورتی رنگ	سفید	سفید تفکیک یافته با نواری به رنگ سبز روشن	سبز تیره	سبز روشن	حدود ۴۲-۵۴
	گروه۴	HoWi3 HoWi8 HoWi20 HoWi31 HoWi32	Liberae	بنفش، در اطراف صفحه دهانی کرم، صورتی یا قرمز رنگ	سفید	سفید تفکیک یافته با نواری نازک به رنگ قرمز	قرمز	قهوه ای روشن	حدود ۴۷
	گروه ۵	HoWi6 HoWi13 HoWi14	Liberae	بنفش، در اطراف صفحه دهانی سبز روشن	سفید	سبز روشن تفکیک یافته با نواری به رنگ سبز	ترکیب سبز و سفید	قهوه ای روشن	حدود ۴۶-۵۰
	گروه ۶	HoWi11	Liberae	سبز روشن	سبز روشن	سفید تفکیک یافته با نوار خاکستری تیره در	سبز روشن	قهوه ای روشن مایل به سبز روشن	حدود ۴۳

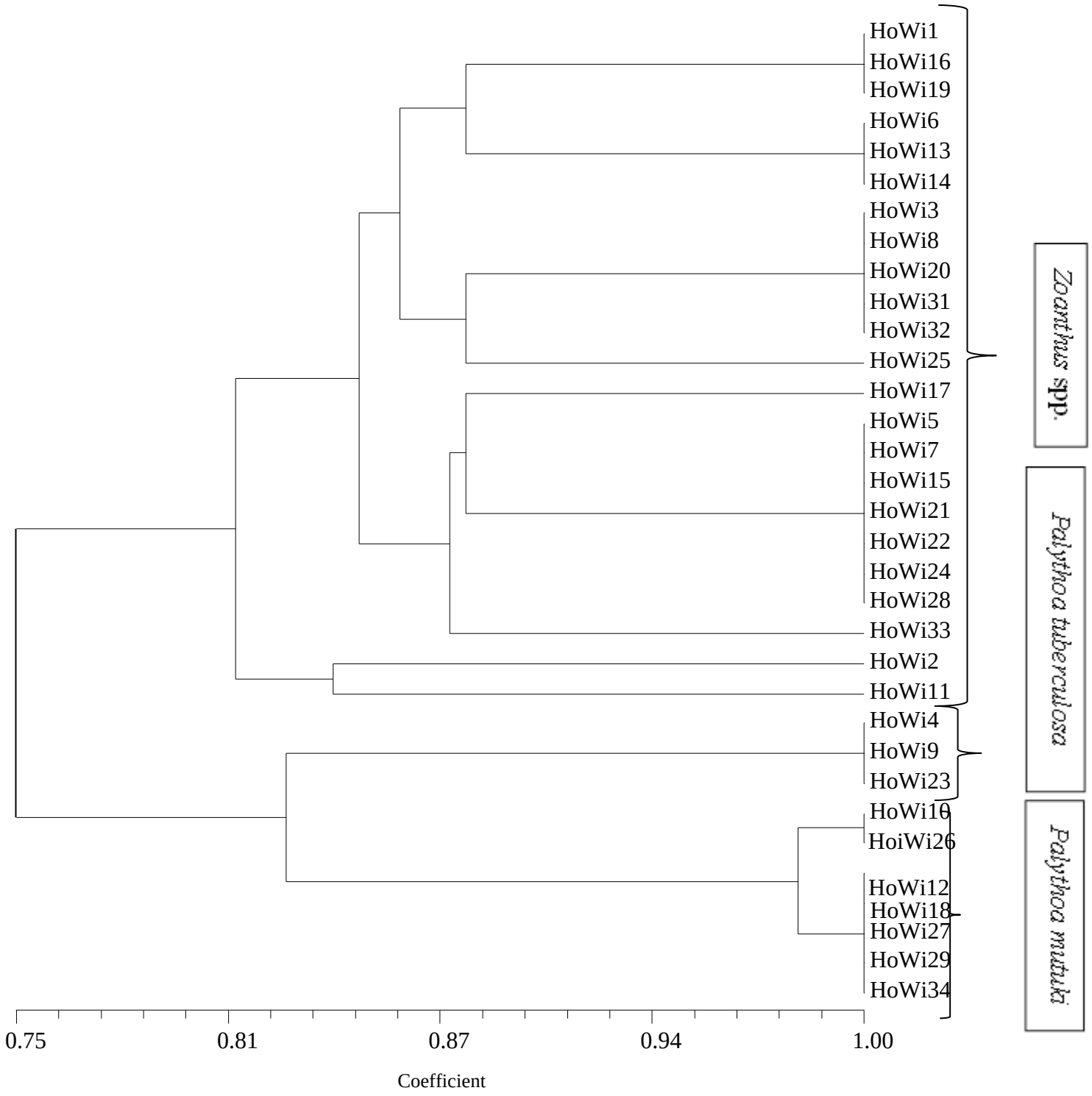
Archive of SID

www.SID.ir

				اطراف آن					
	گروه ۷	HoWi33	Liberae	بنفش، در اطراف صفحه دهانی صورتی رنگ	سفید	سبز روشن تفکیک یافته با با نواری نازک به رنگ قرمز	سبز تیره	قهوه ای روشن مایل به سبز زیتونی	حدود ۴۳
	گروه ۸	HoWi25	Liberae	بنفش	سفید	آبی روشن	آبی به مراتب تیره تر از منطقه دهانی	قهوه ای روشن	حدود ۴۰
	گروه۹	HoWi17	Liberae	بنفش، در اطراف صفحه دهانی کمی روشن تر	سفید	قهوه ای روشن تفکیک یافته با نواری به رنگ سبز روشن	قهوه ای	سبز روشن	حدود ۴۷
Palytho a mutuki	گروه۱	HoWi10 HoiWi26	Liberae	سفید مایل به کرم به سبب سفید شدگی (bleaching)	سفید	کرم مایل به قهوه ای	سبز -قهوه ای دارای خطوط سفید آشکار	قهوه ای	حدود ۴۵
	گروه ۲	HoWi12 HoWi18 HoWi27 HoWi29 HoWi34	Liberae	کرم	سفید	کرم مایل به قهوه ای	قهوه ای دارای خطوط سفید آشکار	قهوه ای	حدود ۵۴ تا ۶۷
	گروه ۳	HoWi30	Liberae	کرم	نامشخص	نامشخص	پلیپ بسته در نتیجه نامشخص	قهوه ای	نامشخص
Palytho a tubercul osa	گروه ۱	HoWi4 HoWi9 HoWi23	Immersae	رنگ کونانشیم: کرم تا قهوه ای	کرم	کرم	قهوه ای تیره	قهوه ای	حدود ۳۴-۳۰

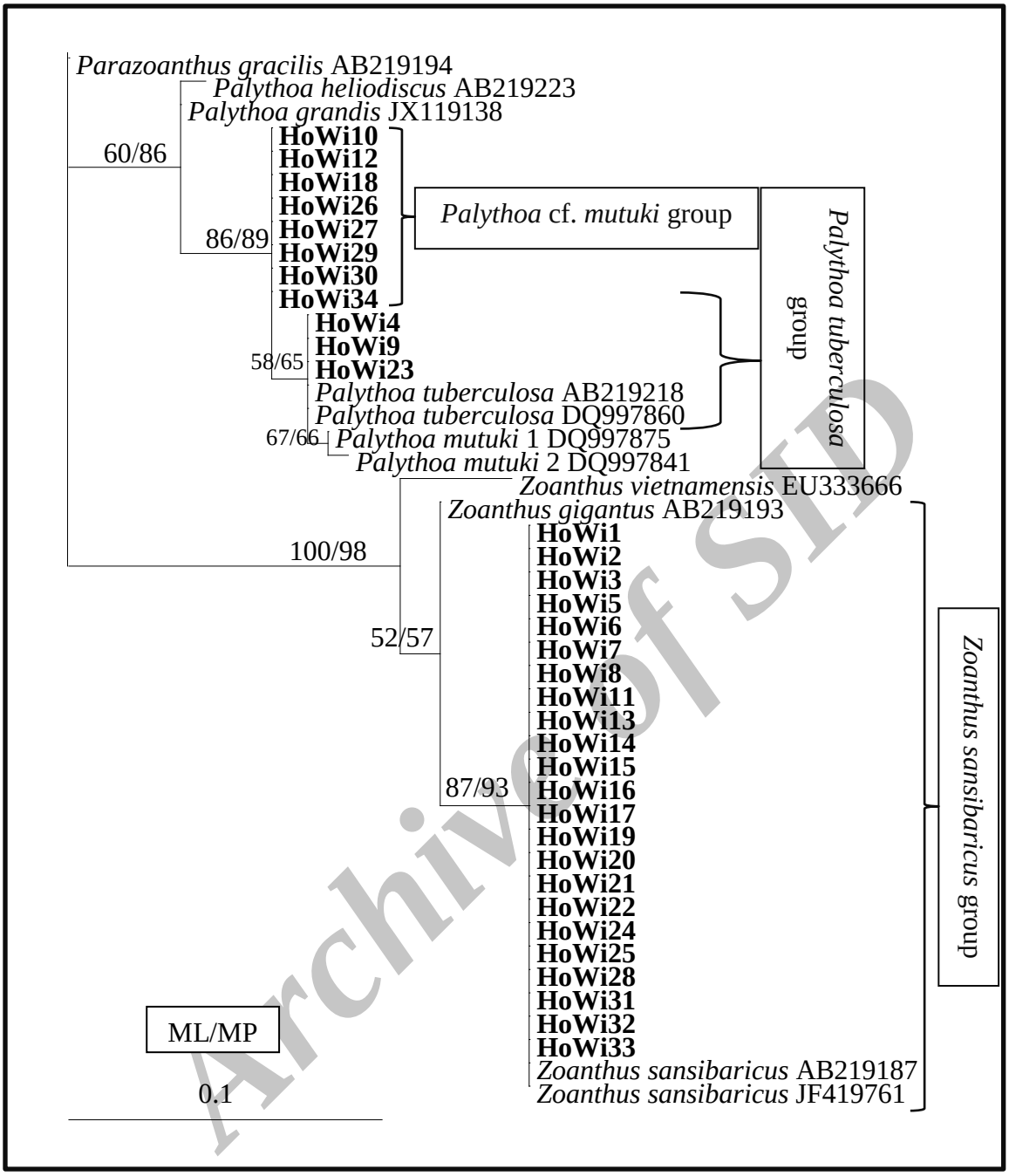
Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۳. دندروگرام حاصل از ویژگی های مورفولوژیک

www.SID.ir



شکل ۴. درخت Maximum Likelihood از قطعه ژنی میتوکندریائی 16S rDNA. نام نمونه های مطالعه حاضر به صورت پر رنگ و نام گونه های کنترل به صورت ایتالیک همراه با شماره مسلسل آن ها در بانک ژنی مشخص گردیده است. درصدهای بوت استراپ حداکثر احتمال از ۱۰۰ درخت/ درصد بوت استراپ حداکثر پارسیمونی از ۱۰۰۰ درخت بر روی شاخه ها نشان داده شده است.

Archive of SID

www.SID.ir

۴. بحث و نتیجه گیری

نتایج مطالعه ی حاضر وجود سه گونه زوانتید را در جزیره ی هرمز اثبات کرد: *Zoanthus sansibaricus*، *Palythoa tuberculosa* و *Palythoa* cf. *mutuki*.. از این میان دو گونه *Zoanthus sansibaricus* و *Palythoa tuberculosa* پراکنش وسیعی در منطقه ی اقیانوس آرام شرقی و غربی (Reimer et al. 2004 ; 2006a ;2011; Reimer 2007; Reimer and Todd 2009) دارند. در حالیکه گونه *Palythoa* cf. *mutuki* با وجود شباهت مورفولوژیک به گونه شناخته شده ی *Palythoa mutuki* از لحاظ مولکولی با هر دو توالی های گزارش شده از این گونه تفاوت داشته و در زیر کلادی جداگانه از این گونه قرار گرفت، زیر کلادی که خود با ارزش های بالای بوت استراپ حمایت شد (شکل ۴).

مقایسه ی بررسی های ابتدائی مورفولوژیک با مطالعات مولکولی صحت استفاده از نشانگر میتوکندریائی 16S rDNA را در تفکیک گونه ای زوانتیدها تأیید کرد. در مشاهدات مورفولوژیک ابتدائی همه ی نمونه ها تا سطح جنس به درستی شناسائی شدند اما در اغلب موارد تشخیص گونه ای آن ها ناممکن یا نادرست بود. تنوع رنگی بسیار بالای جنس *Zoanthus* همواره شناسائی گونه ای آن ها را با اشکال مواجه می کرده است (Reimer et al., 2011). Reimer و همکاران در سال ۲۰۰۴ با استفاده از روش های مولکولی اثبات کردند که چهار گونه شناخته شده ی جنس *Zoanthus* (*Zoanthus pacificus*، *Zoanthus sansibaricus* ، *Zoanthus gnophodes* و *Zoanthus erythrochloros*)، تنها تنوع رنگی گونه *Zoanthus sansibaricus* می باشد. همین امر طی دهه اخیر سبب شد تا تعداد گونه های گزارش شده از این جنس مورد بازنگری قرار گیرد. با توجه به این که همچنان هیچ گزارش مدونی از تنوع رنگی هر گونه این جنس وجود ندارد، مطالعه حاضر نیز نتوانست تنها با استفاده از معیارهای مورفولوژیک ذکر شده در جدول ۱، این نمونه ها را تا سطح گونه بررسی نماید. لیکن پس از توالی یابی نشانگر میتوکندریائی و ترسیم درخت فیلوژنی هم گونه بودن تمام نمونه های جنس *Zoanthus* اثبات شد. تطبیق توالی ها با یکدیگر نشان داد که این نمونه ها در واقع تنها تنوع رنگی گونه *Zoanthus sansibaricus* می باشند. این درحالی است که دندروگرام مورفولوژیک (شکل ۳) در سطح تشابه ۱۰۰٪ هر گروه از نمونه های این جنس را که دارای یک تنوع مورفولوژیک خاص خود بودند، در خوشه ای جداگانه قرار داده بود و در ازای یک زیر کلاد روی فیلوگرام مولکولی، نه خوشه روی دندروگرام مورفولوژیک قابل مشاهده بود. گونه *Palythoa* cf. *mutuki* نیز از دید مورفولوژیک کاملاً شبیه به گونه *Palythoa mutuki* است. علاوه بر آن همچون گونه *Palythoa mutuki* در مناطق کم عمق و در پناه بیشتر یافت می شود. مناطقی که در معرض امواج و جریانات سریع نباشد. لیکن عدم شباهت در توالی میتوکندریائی و قرار گرفتن در زیر کلادی جداگانه حاکی از متفاوت بودن این گونه بود. نمونه های این گونه نیز با داشتن صفحه دهانی سبز- قهوه ای و یا قهوه ای دو تنوع رنگی متفاوت را نشان دادند و به همین خطر نمونه های جمع آوری شده از این گونه با وجود تشکیل زیرکلادی مشترک در فیلوگرام مولکولی (شکل۴)، در سطح تشابه ۱۰۰٪ به دو خوشه ی جداگانه در دندروگرام مورفولوژیک تقسیم شدند (شکل۳). تنها گونه ای که شناسائی های مولکولی صحت بررسی های ابتدائی مورفولوژیک آن را تایید کرد، گونه *Palythoa tuberculosa* بود. گونه ای که تمام نمونه های آن به سبب داشتن تنها یک تنوع رنگی، روی دندروگرام مورفولوژیک خوشه ای مشترک را تشکیل دادند (شکل۳) همان طور که در فیلوگرام

Archive of SID

www.SID.ir

مولکولی زیر کلادی مشترک را ایجاد کرده بودند(شکل۴).

آنچه از این بررسی حاصل شد نشان داد که هر دوی تفاوت ها و شباهت های مورفولوژیک زوانتیدها با یکدیگر، برای محققین گمراه کننده است. بنابراین تعیین توالی های میتوکندریائی و ترسیم درخت های فیلوژنی بر پایه ی آن ها می تواند بهترین روش برای تفکیک گونه ای زوانتیدها از یکدیگر باشد. با این وجود ثبت ویژگی های مورفولوژیک نمونه های شناسائی شده، همان طور که در جدول ۱ آورده شده است، به محققان بعدی این امکان را می دهد که نمونه های شناخته شده را تنها بر اساس ویژگی های ریختی تا سطح گونه شناسائی کنند. واضح است که مطالعات گسترده تر و بررسی مولکولی نمونه های متنوع تر دانش ما را در رابطه با تنوع مورفولوژیک هر گونه از زوانتیدها بیشتر کرده و شناسائی زوانتیدها را ساده تر می نماید.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب سپاس وقدردانی خود را از Dr. James D. Reimer (دانشگاه ریوکیوی ژاپن) و Dr.Fredric Sinniger(دانشگاه بنگور بریتانیا) به سبب راهنمائی های ارزنده شان طی این مطالعه ابراز می دارند. همچنین از جناب آقای حامد دهقانی به سبب همکاری ایشان در فراهم آوردن نمونه های مطالعه حاضر صمیمانه سپاسگزاری می گردد.

منابع

Baker, A. C. 1999. The symbiosis ecology of reef-building corals .PhD dissertation,

University of Miami, 120pp.

Burnett, W., Benzie, J., Beardmore, J.and Ryland, J. 1994. High genetic variability and patchiness in a common Great Barrier Reef zoanthid (*Palythoa caesia*). Marine Biology121: 153-160.

Burnett, W., Benzie, J., Beardmore, J.and Ryland, J. 1997. Zoanthids (Anthozoa, Hexacorallia) from the Great Barrier Reef and Torres Strait, Australia: systematics, evolution and a key to species. Coral Reefs 16: 55-68.

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.

Fuji, T. and Reimer, J. D. 2011. Phylogeny of the highly divergent zoanthid family Microzoanthidae (Anthozoa, Hexacorallia) from the Pacific. Zoologica Scripta 40: 418-431.

Nylander, J. 2004. MrModeltest v2. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University, 2.

Pous, S., Carton, X. and Lazure, P. 2004. Hydrology and circulation in the Strait of Hormuz and the Gulf of Oman—Results from the GOGP99 Experiment: 2. Gulf of Oman. Journal of Geophysical Research 109: C12037.

Reimer, J., Takishita, K., Ono, S. and Maruyama, T. 2007. Diversity and evolution in the zoanthid genus *Palythoa* (Cnidaria: Hexacorallia) based on nuclear ITS-rDNA.

Coral Reefs 26: 399-410.

Reimer, J. D. 2007. Preliminary survey of zooxanthellate zoanthid diversity (Hexacorallia: Zoantharia) from southern Shikoku, Japan. Kuroshio Biosphere 3: 1-16.

Reimer, J. D., Hirose, M., Yanagi, K. and Sinniger, F. 2011a. Marine invertebrate diversity in the oceanic Ogasawara Islands: a molecular examination of zoanthids (Anthozoa: Hexacorallia) and their Symbiodinium (Dinophyceae). Systematics and Biodiversity 9: 133-143.

Reimer, J. D., Nakechi, S., Hirose, M., Hirose, E. and Hashiguchi, S. 2010. Using hydrofluoric acid for morphological investigations of zoanthids (Cnidaria: Anthozoa): a critical assessment of methodology and necessity. Marine Biotechnology 12: 605-617.

Archive of SID

www.SID.ir

Rodriguez, F., Oliver, J., Marin, A. and Medina, J. R. 1990. The general stochastic model of nucleotide substitution. Journal of theoretical biology 142: 485-501.

Rohlf, F. 1998. NTSYS-pc version 2.0. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Exeter software, Setauket, New York.

Samiei, J. V., Dab, K., Ghezellou, P. and Shirvani, A. 2013. Some scleractinian corals (Scleractinia: Anthozoa) of Larak Island, Persian Gulf. Zootaxa 3636:101-143.

Samimi- Namin, K. and Van Ofwegen, L. 2009. Some shallow water Octocorals Coelenterata: Antozoa of the Persian Gulf. Zootaxa 2658: 1-52.

Sinniger, F., Montoya-Burgos, J., Chevaldonne, P.and Pawlowski, J. 2005. Phylogeny of the order Zoantharia (Anthozoa, Hexacorallia) based on the mitochondrial ribosomal genes. Marine Biology, 147, 1121-1128.

Sinniger, F., Reimer, J. D. and Pawlowski, J. 2008. Potential of DNA sequences to identify zoanthids (Cnidaria: Zoantharia). Zoological science 25: 1253-1260.

Sinniger, F., Reimer, J. D. and Pawlowski, J. 2010. The Parazoanthidae (Hexacorallia: Zoantharia) DNA taxonomy: description of two new genera. Marine Biodiversity 40: 57-70.

Swofford, D. 2003. PAUP*: phylogenetic analysis using parsimony, version 4.0 b10.

Thompson, J .D., Higgins, D. G.and 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.

Reimer, J. D., Obuchi, M., Irei, Y., Fujii, T. and Nozawa, Y. 2011b. Shallow-Water Brachycnemic Zoanthids (Cnidaria: Hexacorallia) from Taiwan: A Preliminary Survey. Zoological Studies 50: 363-371.

Reimer, J. D., Ono, S., Fujiwara, Y., Takishita, K. and Tsukahara, J. 2004. Reconsidering *Zoanthus* spp. diversity: molecular evidence of conspecifity within four previously presumed species. Zoological science 21: 517-525.

Reimer, J. D., Ono, S., Iwama, A., Takishita, K., Tsukahara, J. and Maruyama, T. 2006a. Morphological and molecular revision of *Zoanthus* (Anthozoa: Hexacorallia) from southwestern Japan, with descriptions of two new species. Zoological science 23: 261-275.

Reimer, J. D., Ono, S., Takishita, K., Tsukahara, J. and Maruyama, T .2006b. Molecular evidence suggesting species in the zoanthid genera *Palythoa* and *Protopalythoa* (Anthozoa: Hexacorallia) are congeneric. Zoological science 23: 87-94.

Reimer, J. D. & Todd, P. A. 2009. Preliminary molecular examination of zooxanthellate zoanthid (Hexacorallia, Zoantharia) and associated zooxanthellae (*Symbiodinium* spp.) diversity in Singapore. Raffles Bulletin of Zoology 22: 103-120.

Rezai, H. 1995. Observation of some corals in shallow waters of several remote Iranian islands in the Persian Gulf. Abzeeyan 7: 4-11.

Rezaei, H., Sammimi, K., Kabiri, K., Kamrani, E., Jalili ,M. and Mokhtari, M. 2010. Distribution and abundance of the corals around Hengam and Farurgan islands, the Persian Gulf. Journal of the Persian Gulf 1: 7-16.

Rezai, H. and Savari, A. 2004a. Observation on reef fishes in the coastal waters off some Iranian Islands in the Persian Gulf. Zool Middle East 31: 67-75.

Rezai, H., Wilson, S., Claereboudt, M. and Riegl, B. 2004b. Coral reef status in the ROPME Sea Area; Persian Gulf, Gulf of Oman. In C. Wilkinson (ed.) Status of Coral Reefs of the World, Vol. 1. Washington D.C., USA. pp: 155-170.

Archive of SID

www.SID.ir