مجله شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر سال پنجم، شماره اول، بهار ۹۰

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

محمدحسن شاه حسینی[۱]، پرگل قوام مصطفوی[۲]، سیدمحمدرضا فاطمی[۱]، شاهرخ کاظم پوراوصالو[۳] و *الناز کریمی[۴]

[۱]دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه بیولوژی دریا، تهران، [۲]دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهر قدس، گروه میکروبیولوژی، شهر قدس، [۳]دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی گیاهی، تهران، [۴]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد بیولوژی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران

چکیده

با توجه به اهمیت Zooxanthellae در پدیده سفید شدگی جوامع مرجان‌های آبسنگ ساز و به‌منظور روابط زیستی بین مرجان‌های آبسنگ ساز و جلبک‌های همزیست آنها در خلیج فارس و همچنین چگونگی پایداری و بقا مرجان‌ها در برابر شرایط نامساعد و سخت زیست‌محیطی، تعیین و شناسایی تک سلولی‌های دو تاژکی از جنس *Symbiodinium* به‌عنوان هدف اصلی از انجام این تحقیق در نظر گرفته شده است. ۵ گونه مرجان *Siderastrea savignyana*، *Psammocora superficialis*، *Coscinaraea columna*، *Anomastrea irregulariis*، *Cyphastrea serailia* از حوضچه‌های جزر و مدی جزیره هنگام در خلیج فارس (جنوب جزیره قشم) جمع‌آوری گردید. زیر واحد بزرگ ریبوزومی ۲۸s با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) تکثیر شده و سپس آنالیز فیلوژنی سکانس زیر واحد بزرگ ریبوزومی بر اساس نرم‌افزارهای PAUP و Clustal X مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. بر روی مرجان‌های مورد مطالعه در جزیره هنگام دو کلاد متفاوت شناسایی گردید که کلاد D در ۳ گونه مرجان *Coscinaraea columna*، *Anomastrea irregulariis*، *Cyphastrea serailia* و کلاد C در ۲ گونه *Psammocora superficialis*، *Siderastrea savignyana* وجود داشته است. این مطالعه مشخص نمود که به‌دلیل وجود استرس‌های محیطی و نوسانات شرایط زیستی در ناحیه ساحلی به‌خصوص در حوضچه‌های جزرومدی، وجود کلادهای متفاوت و مقاوم D و C طبیعی به‌نظر می‌رسد.

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

مقدمه

مرجان‌های آبسنگ ساز دارای جمعیت‌هایی از جلبک‌های تک سلولی داینوفلاژله از جنس *Symbiodinium* می‌باشند. این جلبک‌های تک‌سلولی که در اصطلاح زوگزانتله (Zooxanthellae) نامیده می‌شوند از نظر رده‌بندی بسیار متنوع بوده و نقش مهمی در تأمین انرژی و کربنات کلسیم برای مرجان‌ها و در نتیجه آهکی شدن آنها ایفا می‌کنند تا جایی که برخی از مرجان‌ها برای بقاء خود وابسته به تولید اولیه این همزیست‌ها می‌باشند (Trench، ۱۹۸۶). با توجه به مناطق ژنومی متفاوت در زوگزانتله‌ها آنها را در ۸ کلاد دسته‌بندی کرده‌اند (A-H) که این کلادها در شاخه‌های متنوعی

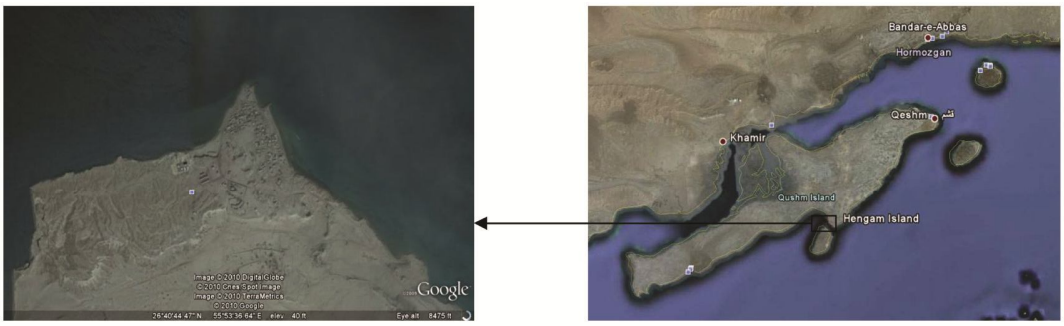
*- مسئول مکاتبه: karimi.2362@gmail.com

از جانوران مانند گزنه‌سانان، نرمتنان و روزنه‌داران دیده می‌شوند (Van Oppen، ۲۰۰٤).

انواع مختلف *Symbiodinium* فیزیولوژی متفاوتی داشته و این مسئله نقش مهمی در بقاء مرجانها ایفا می کند (Baker، ۲۰۰۳). امروزه بیشتر مطالعات مربوط به تنوع زیستی *Symbiodinium* در دریای کارائیب و اقیانوس آرام انجام شده است. تنها مطالعه صورت گرفته در سواحل ایرانی خلیج فارس بر روی زوگزانتله‌های مرجان‌های سخت غالب اطراف جزیره کیش و لارک بوده که در این مطالعات کلاد D و C90 به‌عنوان کلادهای غالب گزارش شده است (Mostafavi و همکاران، ۲۰۰۷). همچنین بر روی مرجان‌های نرم در سواحل شمالی خلیج فارس در جزیره لارک کلاد D به‌عنوان کلاد غالب گزارش شده است (آزادبادی، ۱۳۸۸). در سواحل جنوبی خلیج فارس نیز مطالعاتی بر روی زوگزانتله‌های مرجان‌های سخت انجام شد که کلاد D، کلاد غالب در این ناحیه بوده است. کلاد A و C نیز در برخی گونه‌ها یافت شده است (Baker و همکاران، ۲۰۰٤).

خلیج فارس دریای حاشیه‌ای و نیمه بسته‌ای است که عمق متوسط آن در حدود ۳۵ متر می‌باشد. کم عمقی در این دریا باعث شده است تا شدیداً تحت تأثیر متغییرهای جوی قرار گیرد. با توجه به احاطه شدن توسط ارتفاعات در ناحیه شمالی (سواحل ایرانی) و سرزمین‌های پست در ناحیه جنوبی (سواحل عربی)، میزان تبخیر در آن تشدید و باعث افزایش تبادلات آبی از تنگه هرمز می‌شود (Hunter، ۱۹۸۵). آبسنگ‌های مرجانی خلیج فارس به‌دلیل قرارگیری در خارج از مرز جغرافیایی ۲۳/۵ درجه استوایی دارای ویژگی‌های خاصی هستند. شرایط سخت زندگی در خلیج فارس به‌دلیل بالا بودن میزان شوری، درجه حرارت و کدورت، مرجان‌ها را دچار استرس زیادی کرده است (Baker و همکاران، ۲۰۰٤). در کل تنوع گونه‌ای و درصد پوشش مرجانی با نزدیک شدن به مناطق ساحلی کاهش می‌یابد که می‌تواند بیانگر این نکته باشد که درصدهای آستانه شرایط محیطی، بقای مرجان‌ها را محدود کرده است (Fouda، ۱۹۹۷). بسیاری از مرجان‌هایی که دچار پدیده سفیدشدگی شده‌اند در نتیجه افزایش دمای آب دریاها می‌باشد و باعث می‌شود که مرجان‌ها زوگزانتله خود را از دست بدهند. سفید شدگی تهدیدی برای تمام آبسنگ‌های مرجانی دنیا محسوب می‌شود (Hoegh-Guldberg، ۱۹۹۹). بزرگترین پدیده سفید شدگی و مرگ و میر مرجان‌ها مربوط به ال نینو سال‌های ۱۹۹٦ و ۱۹۹۸ بود که طی این دوره آبسنگ‌های مرجانی زیادی را تحت تاثیر خود قرار داد (Wilkinson، ۲۰۰۰). بررسی‌ها نشان داده است که *Symbiodinium* ها می‌توانند از نظر فیزیولوژی و سازش با محیط متفاوت عمل کنند که احتمالاً ناشی از تفاوت در گونه‌های میزبان باشد (Huang و همکاران، ۲۰۰٦). شواهد نشان می‌دهد که *Symbiodinium* کلاد D نسبت به سایر کلادهای مشاهده شده نسبت به استرس‌های ناشی از درجه حرارت بالا مقاوم‌تر است (Rown، ۲۰۰٤) بنابراین حضور آنها باعث مقاومت مرجان در برابر سفید شدگی و مرگ و میر کمتر می‌شود (Chen و همکاران، ۲۰۰۳).

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



شکل ۱- نقشه منطقه مورد بررسی در شمال جزیره هنگام

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

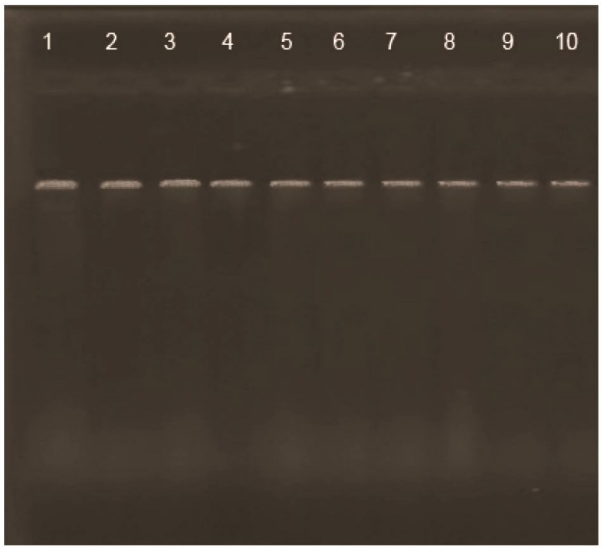
مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و استخراج DNA: نمونه‌برداری از سواحل بین جزر و مدی جزیره هنگام با تاکید بر سواحل صخره‌ای واقع در "۴۰ '۵۴ °۵۵ تا "۵۵ '۵۴°۵۵ طول شرقی و "۴۳'۳۶ °۲۶ تا "۱۵'۴۱ °۲۶ عرض انجام گرفت (شکل ۱). برای انجام این تحقیق ابتدا جنس‌های مورد نظر دارای زوگزانتله، شناسایی شده سپس نمونه‌برداری انجام گرفت و گونه‌های مرجان جمع آوری شده عبارتند از: *C.serailia* که مربوط به‌خانواده Faviidae و گونه‌های *A.irregulariis*، *S.savignyana*، *C.columna* و *P.superficialis*، مربوط به خانواده Siderastreidae می‌باشند. از هر گونه مرجان ۳ کلنی مجزا انتخاب و از هر کلنی ۳ تکرار مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌ها به آزمایشگاه انتقال داده شدند و در آنجا با کمک بافر DNAB (NaCl 0.4M, EDTA50 mM, pH=8) و دستگاه شست و شو با هوا (Air Brush) توده لزج زوگزانتله جدا شد و در لوله‌های فالکون‌های ۵۰ ml در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای استخراج DNA ابتدا نمونه‌ها سانتریفوژ شدند و تشکیل دو فاز متفاوت را دادند، سپس به قسمت ته‌نشین شده بافر DNAB و SDS ۱۰ درصد اضافه و ۱/۵ ساعت داخل بن ماری گذاشته شد تا دیواره‌های سلولی جلبک پاره شود. سپس به آنها پروتئیناز K اضافه و داخل بن ماری گذاشته شد و از روش CTAB و کلروفرم برای انجام عمل استخراج استفاده شد (Baker، ۲۰۰۱).

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)[1] :DNA مورد نظر جهت انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مورد استفاده قرار می‌گیرد. ژن هدف در اینجا زیر واحد بزرگ ریبوزومی هسته‌ای (Large subunit rRNA LSU) بود و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی با ترادف زیر واکنش PCR انجام شد:

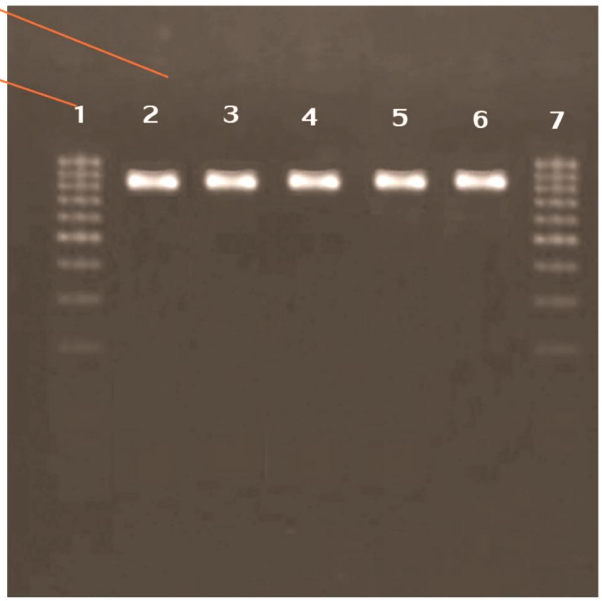
Mos Forward (ATA TAA GTA AGC GGA GGA AAA G)
Mos Reverse (CTT TCG GGT CCT AAC ACA CAT G)

1- Polymerase Chain Reaction



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

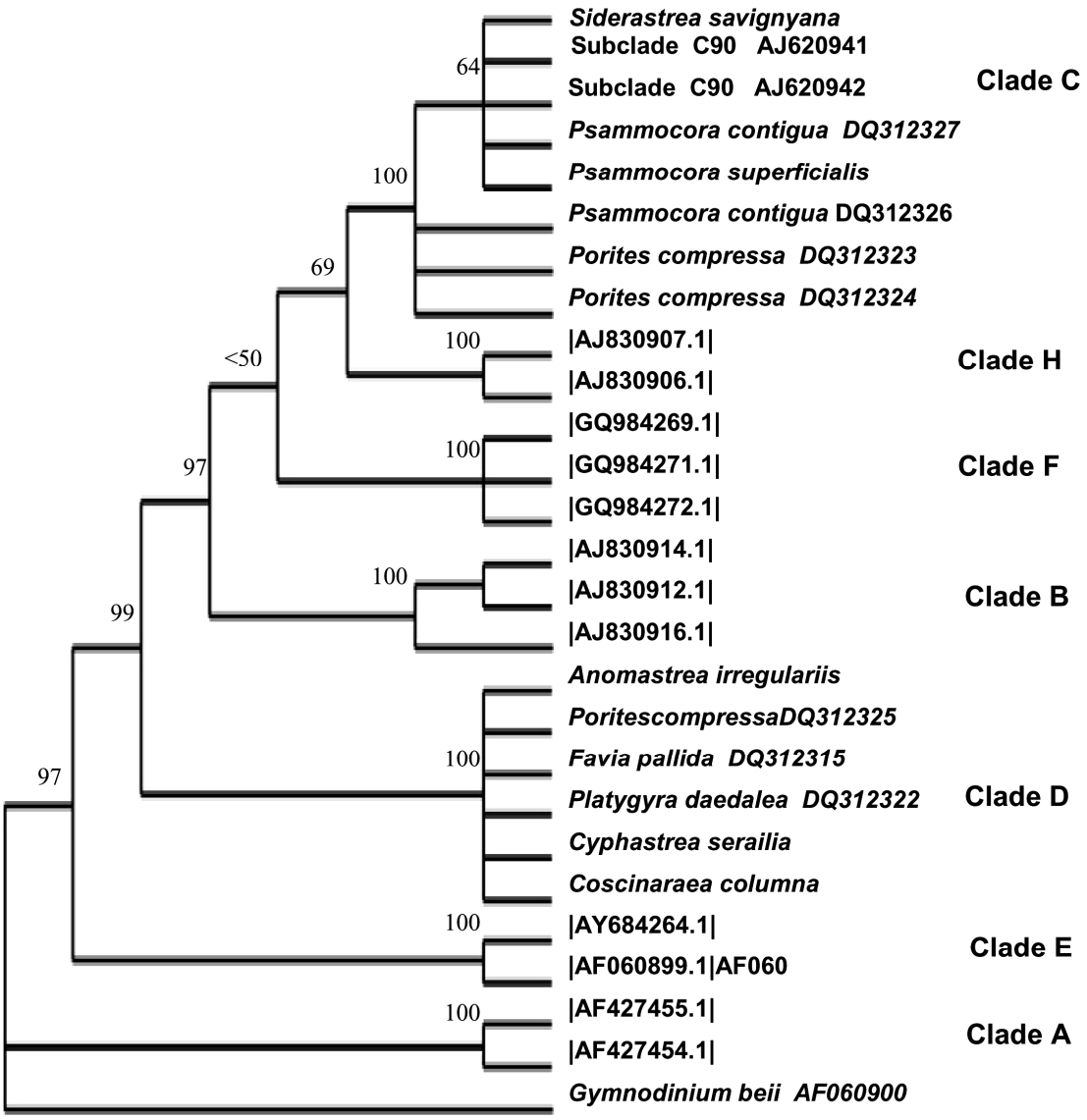
شکل ۲- DNA استخراجی از زوگزانتله مرجانهای سخت (دو بار تکرار)



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

شکل ۳- محصولات RCP حاصل از زوگزانتله مرجانهای سخت

واکنش PCR شامل ۱ µl از DNA الگو، ۰/۵µl از dNTP، ۰/۵µl از هر پرایمر، ۰/۳ µl از Taq DNA Polymerase (Cinnagen Ampli-Taq,) در حجم کل ۲۵µl استفاده شد و این حجم واکنش در دستگاه ترموسایکلر با پروفایل حرارتی ۳۰ ثانیه در ۹٤ درجه سانتی‌گراد، یک دقیقه در ٦٤ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ سیکل و یک مرحله نهایی ساخت رشته مکمل به‌مدت ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. سپس محصول PCR بدست آمده بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد در کنار سایز مارکر فرمنتاس (100 bpDNA Ladder) الکتروفورز و با اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شد (Baker، ۲۰۰۱).



شکل ٤- درخت Maximum Parsimony از ژنوتیپ‌های DNA ریبوزومی s۲۸ از مرجان‌های جزیره هنگام (اعداد شاخه‌ها ارزش‌های Bootstrap یا حدود اطمینان کلادها را نشان می‌دهد)

توالی یابی و آنالیز فیلوژنی: تعیین ترادف DNA در هر دو جهت با استفاده ازروش ختم زنجیره (Dideoxy Chain Termination) و توسط کمپانی ماکروژن در کشور کره انجام شد. سکانس‌های مورد استفاده در این جا عبارتند از :

کلادA

(AF427455, AF427454)

کلاد B

(GQ984269, GQ984271, GQ984272)

کلاد C

(AJ620941, AJ620942, DQ312326, DQ312327, DQ312324, DQ312323)

کلاد D

(DQ312325, DQ312322, DQ312315)

کلاد E
(AY684264, AF060899)
کلاد F
(AJ830916, AJ830912, AJ830914)
کلاد G
(AJ872107, AJ872108)
کلاد H
(AJ830907, AJ830906)
و درخت بر ریشه Gymnodinium (AF060900) رسم گردید.

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

نتایج

DNAهای استخراج شده از جلبک‌های همزیست با ۵ گونه مرجان *C.serailia*، *A.irregulariis* ،*S. savignyana* ،*P.superficialis* و *C.columna* خالص بوده و فاقد پروتئین در چاهک می‌باشد و برای انجام واکنش PCR مناسب می‌باشد (شکل ۲).

پس از انجام شدن واکنش PCR بر روی ژن RNA ریبوزومی ۲۸s *Symbiodinium* محصولی به اندازه ۷۸۰ جفت باز برای پرایمرها MOS به‌دست آمد که کاملاً خالص و بدون هیچ گونه باند اضافی بود. باندهای به‌دست آمده از۵ گونه مرجان تقریباً یکسان و در حدود (+ + +) دیده شد (شکل ۳).

از نتایج درخت MP (Maximum Parsimony) مشخص شد که ضریب سازگاری یا CI (Consistency Index) برابر با ۰/۶۹۸، ضریب گروه‌پذیری یا RI (Retention Index) برابر با ۰/۸۸۰ و طول درخت (Tree length) برابر با ۶۱۹ گام است (شکل ۳).

در بررسی‌های انجام شده در این آزمایش کلادهای *Symbiodinium* متعلق به گروه کلادهای D و C می‌باشند که در گونه‌های *A. irregulariis*، *C. columna*، *C. serailia* کلاد D و در گونه‌های *P. superficialias* و *S. savignyana* کلاد C مشاهده شده است.

بحث و نتیجه‌گیری

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

کار بر روی تنوع زوگزانتله در مرجان‌های آبسنگ ساز حاشیه شمالی خلیج فارس توسط Mostafavi و همکاران (۲۰۰۷) بر روی ۸ گونه مرجان *Cyphastrea microphthalma*، *Favia pallida*، *Acropora clathrata*، *Turbinaria reniformes*، *Platygyra daedalea*، *Pavona decussate*، *Psammocora contigua* و *Porites compressa* جزایر کیش و لارک صورت گرفت که در جزیره کیش کلادهای D و C_{90} غالب بوده است. همچنین در جزیره لارک ۵ گونه: *A.clathrata*، *C. microphthalma*، *F. pallida*، *P. daedalea* و *P. compressa* مورد بررسی قرار گرفتند و کلاد D، کلاد غالب در این گونه‌ها بوده است (Mostafavi و همکاران، ۲۰۰۷)

مطالعاتی که Baker و همکاران (۲۰۰٤) بر روی زوگرانتله‌های همزیست با گونه‌های مرجانی در حاشیه جنوبی خلیج فارس در سواحل عربستان انجام دادند مشخص کرد که کلاد غالب در آبسنگ‌های مرجانی این ناحیه کلاد D می‌باشد و کلادهای A و C نیز شناسایی شدند که کلاد غالب در حدود ٦٣ درصد از کل آبسنگ‌های مرجانی این ناحیه را پوشش می‌دهد (Baker و همکاران، ۲۰۰٤).

شناسایی زوگزانتله‌های همزیست بر روی ۳ گونه *Sarcophyton minusculum*، *Sinularia erecta* و *Sinularia* sp. از مرجان‌های نرم غالب در جزیره لارک نیز انجام شد که کلاد غالب در این گونه‌ها D گزارش شد (آزادبادی، ۱۳۸۸).

غالب بودن کلاد D در خلیج فارس می‌تواند نشانی از سازش این کلاد در برابر فاکتورهای نامساعد محیطی آب‌های خلیج‌فارس باشد. یکی از مهمترین ویژگی‌هایی که می‌توان مشخصه کلاد D دانست مقاومت این کلاد در برابر درجه حرارت‌های بالا است (Rown، ۲۰۰٤). بر اساس آزمایشات انجام شده مشخص گردیده است که سیستم فتوسنتزی کلاد D مقاومت بالاتری را در برابر حرارت‌های زیاد نسبت به سایر کلادها نشان می‌دهد (Brown و Coles، ۲۰۰۳). در نتیجه غالبیت کلاد D در خلیج‌فارس که تحت تأثیر تغییرات شدید دمایی و محیط خشک اطرافش است دور از ذهن نمی‌باشد.

در سال ۲۰۰٤ بر اساس مطالعاتی که بر روی سواحل جنوبی خلیج‌فارس در حاشیه عربستان انجام شده بود مشخص شد که کلاد C به‌صورت همزیست با *Psammocora* و *Porites* نیز وجود دارد (Baker و همکاران، ۲۰۰٤). همچنین Mostafavi و همکاران (۲۰۰۷) در سواحل شمالی خلیج فارس بر روی جزیره کیش و لارک مطالعاتی داشتند که مشخص شد دو گونه *Porites compressa* و *Psammocora contigua* دارای کلاد C_{90} می‌باشند. این کلاد نوعی از کلاد C می‌باشد که تنها در فرامینیفراهای شرق اقیانوس آرام یافت شده است (Pochon و همکاران، ۲۰۰٤). بر روی گونه *Psammocora superficialis* که از خانواده Siderastreidae می‌باشد مطالعاتی در شرق اقیانوس آرام بوسیله روش RFLP صورت گرفت که مشخص کرد این گونه دارای کلاد C می‌باشد (Baker و Rowan، ۱۹۹۷). این گونه مرجان نیز در تحقیق حاضر مورد بررسی قرار گرفت و همین نتیجه به‌دست آمد. همچنین با بررسی‌های انجام شده بر روی ۸٦ گونه از مرجان‌های آبسنگ ساز در استرالیا (Great Barrier Reef) بیشتر از ۸۵ درصد از آنها متعلق به کلاد C بودند و باقیمانده مرجان‌ها دارای کلاد A، B و D بودند (Lajeunesse و همکاران، ۲۰۰۳). کلادهای C بیشتر در عرض‌های جغرافیایی گرمسیری وجود دارند و نشان‌دهنده مقاومت این کلاد در برابر درجه حرارت‌های بالا است. این کلاد در اقیانوس آرام غالب است (Baker و Rowan، ۱۹۹۷). یکی از ویژگی‌های کلاد C مقاومت آن در برابر سفید شدگی می‌باشد و احتمالاً تحمل درجه حرارت‌های بالا را نیز داشته باشد (Rowan و همکاران، ۱۹۹۷).

کلادهای *Symbiodinium* مقاومت‌های مختلفی در برابر سفید شدگی دارند و در بین کلادها کلاد D بیشترین مقاومت را دارد و این‌طور گزارش شده است که ترتیب مقاومت کلادها به‌صورت زیر می‌باشد A< B> C< D (Glynn، ۲۰۰٦).

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

و در نتیجه باعث سفیدشدگی مرجان (Bleaching) می‌شود (Goulet، ۲۰۰۶).

آبسنگ‌های مرجانی در خلیج فارس به‌دلیل قرارگیری در عرض‌های جغرافیایی بالا تحت تأثیر درجه حرارت زیاد (Coles و Fadlallah، ۱۹۹۱؛ Downing، ۱۹۸۵؛ Shinn، ۱۹۷۶)، شوری و کدورت هستند (Sheppard وSheppard، ۱۹۹۱) و بیشتر در معرض سفید شدگی قرار می‌گیرند. آبسنگ‌های مرجانی ایران در طی سال‌های ۹۸-۱۹۹۶میلادی. پس از بروز پدیده‌ی ال نینوی جهانی در معرض سفید شدگی شدیدی قرار گرفتند (Wilkinson، ۲۰۰۰) و همچنین در مرداد سال ۱۳۸۶بر اثر افزایش ناگهانی دما، پدیده سفیدشدگی عظیمی در آبهای شمال خلیج فارس رخ داد که تأثیر کمی بر روی جنوب خلیج فارس نیز داشته است.

بقای متفاوت مرجانها می‌تواند به‌مقاومت کلنی مرجان‌ها، مقاومت زوگزانتله و یا مقاومت هر دو بستگی داشته باشد (Brown و همکاران، ۲۰۰۲). آیا غالبیت کلاد D در خلیج فارس می‌تواند به‌دلیل حضور این کلاد پس از پدیده سفیدشدگی باشد؟ و یا آیا اینکه این کلاد قبل از پدیده سفیدشدگی نیز به‌دلیل وجود شرایط استرس زا در خلیج فارس به‌عنوان همزیست غالب با مرجان‌ها وجود داشته است؟ ولی چون در مورد شناسایی کلادها تا قبل از سال ۲۰۰۴ میلادی. تحقیقی در خلیج‌فارس صورت نگرفته در نتیجه نمی‌توان به درستی و با قاطعیت سوالات مورد نظر را پاسخ داد.

در این مطالعه مرجان‌های نمونه‌برداری شده از حوضچه‌های موجود در پهنه جزرو مدی می‌باشند که این مناطق دارای شرایط محیطی خاصی می‌باشند. موجوداتی که در این مناطق به سر می‌برند باید دارای یک سری از سازش‌هایی باشند تا بتوانند با استرس‌های ناشی از زمان جزر مقابله کنند. استخرهای جزرومدی نمی‌توانند یک زیستگاه جزر و مدی را از خود نشان بدهند، زیرا در زمان سیکل جزرومد در معرض هوا قرار نمی‌گیرند و مقداری آب دریا در گودال‌ها باقی می‌ماند ولی با این حال فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی در استخرهای جزرو مدی تغییر می‌کند. سه فاکتور فیزیکی که در استخرهای جزرومدی بسیار متنوع است عبارتند از: دما، شوری، تراکم اکسیژن (Nybakken، ۲۰۰۰). بر روی مرجان‌های نمونه‌برداری شده در زمان جزر چیزی در حدود کمتر از یک متر آب قرار داشته که با کاهش آب در زمان جزر در این حوضچه‌ها میزان نفوذ نور به آنها متفاوت خواهد بود و میزان دمای آب بالا خواهد رفت که این یکی از استرس‌هایی می‌باشد که مرجان با آن مواجه است و همانطور که اشاره شد، بالا رفتن دما سبب خارج شدن جلبک همزیست شده و موجب سفیدشدگی و در نهایت مرگ میزبان می‌شود. چون این موجودات ساعاتی از شبانه روز را در مجاورت استرس‌های محیطی سپری می‌کنند، باید بتوانند سازش خود را با داشتن کلاد مقاومی نشان دهند و گونه‌های مورد بررسی به‌خوبی نشان دادند که با داشتن کلاد مقاوم D و C در حوضچه‌های جزرو مدی می‌توانند در برابر استرس‌های ناشی از محیط در زمان جزر مقاومت داشته باشند. با توجه به این که تاکنون شناسایی کلادهای زوگزانتله‌های همزیست با مرجان‌ها در حوضچه‌های جزر و مدی در ایران و همچنین در سایر نقاط جهان صورت نگرفته و این تحقیق برای اولین بار است که انجام می‌شود، در نتیجه به‌دلیل عدم وجود تحقیقات مشابه، در حال حاضر امکان مقایسه نتایج حاصله وجود ندارد.

منابع

۱- آزادبادی، س. ۱۳۸۸. شناسایی کلادهای زوگزانتله‌های همزیست با مرجان‌های نرم غالب اطراف جزیره لارک، خلیج فارس، ایران، پایان‌نامه مقطع کارشناسی‌ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران.

2.Baker, A.C., Rowan, R., Knowlton N., 1997. Symbiosis ecology of two Caribbean acroporid corals. In: Lessios HA, MacInt©yre IG (eds). Proceedings of the 8th International Coral Reef Symposium, Vol. 2. Smithsonian Tropical Research Institute, Balboa, Panama, pp.1295-1300.

3.Baker, A.C., 2001. Reef corals bleach to survive change. Nature, 411, 765-766.

4.Baker, A.C., 2003. Flexibility and specificity in coral-algal symbiosis: diversity, ecology and biogeography of *Symbiodinium*. *Annu Rev Ecol Evol Syst.* 34, 661-689.

5.Baker, A.C., Starger, C.J., McClanahan, T.R., and Glynn, P.W., 2004. Corals adaptive response to climate change. Nature. 430, 741.

6.Brown, B.E., Downs, C.A., Dunne, R.P., and Gibb, S.W., 2002. Exploring the basis of thermotolerance in the reef coral Goniastrea aspera. Mar Ecol Progr Ser 242, 119–129.

7.Chen, C.A., Lam, K.K., Nakano, Y., and Tsai, W.S., 2003. Stable association of a stress-tolerant zooxanthellae, *Symbiodinium* clade D, with the low-temperate tolerant coral *Ouastrea crispata*, (*Scleractinia; Faviidae*) in subtropical nonreefal coral communities. Zool Stud. 42, 540-550.

8.Coles, S.L., and Fadlallah, Y.H., 1991. Reef coral survival and mortality at low temperatures in the Arabian Gulf: new species-specific lower temperature limits. Coral Reefs. 9, 231-237.

9.Coles S.L., and Brown B.E., 2003. Coral bleaching capacity for acclimatization and adaptation. Adv Mar Biol. 46, 183–223.

10.Downing, N., 1985. Coral reef communities in an extreme environment: the northwest Arabian Gulf. In: Gabrie C. Salvat B. Lacroix C. Toffart, J.L. (eds). Proceedings of the 5th International Coral Reef Congress, Vol. 6, Antenne Museum-EPHE Moorea, Tahiti, French Polynesia, pp. 343-348.

11.Fouda M., 1997. Overview on Land-Based sources and activities affecting the marine environment in ROPME Sea Area (DRAFT). (Prepared for UNEP AND ROPME).

12.Glynn, P.W., 2006. Coral reef bleaching: facts, hypotheses and implication. Global Change Biol. 2, 495-509.

13.Goulet, D., 2006. Most corals may not change their symbionts. Marine Ecology Progress in Series 321, 1-7.

14.Hoegh-Guldberg, O., 1999. Climate change, coral bleaching, and the future of the world's coral reefs. Mar Fresh W Res. 50, 839-866.

15.Huang, H., Dong, Z.J., Huang, L.M., and Zhang, J.B., 2006. Restriction fragment length polymorphism analysis of large subunit rDNA of symbiotic dinoflagellates from scleractinian corals in the Zhubi Coral reef of the Nansha Islands. J Integr Plant Biol. 48, 148-152.

16.Hunter, J., 1985. A review of the residual circulation and mixing processes in the KAP Region with reference to application modeling techniques. Proceeding of the Symposium /Workshop on oceanographic modeling of the Kuwait Action Plan (KAP) Region. UNEP Regional Seas Reports and Studies, No. 70, 173-120.

17.LaJeunesse, T.C., Loh WKW, van Woesik R., Hoegh-Guldberg O., Schmidt G.W., and Fitt W.K., 2003. Low symbiont diversity in southern Great Barrier Reef corals, relative to those of the Caribbean. Limnol Oceanogr 48, 2046-2054.

18.Mostafavi, P.G., Fatemi, M.R., Shahhosseiny, M.H., Hoegh_Guldberg, O., and Kok Weng Loh, W., 2007. Predominance of Clade D *Symbiodinium* in shallow water Reef – Building coral off Kish and Larak Islands (Persian Gulf, Iran) *Marine Bio* 153, 25-34.

19.Nybakken, J.W., 2000. Marine Biology, An Ecological Approach.Addision Wesely.481p.

20.Pochon, X., LaJeunesse, T.C., and Pawlowski, J., 2004. Biogeographic partitioning and host specialization among foraminiferan dinoflagellate symbionts (*Symbiodinium*; Dinophyta). Mar Biol. 146, 17-27.

21.Rown, R., 2004. Thermal adaption in reef coral symbionts. Nature. 430, 742.

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

Journal of Fisheries, Islamic Azad University, Azadshahr Branch
Vol. 5, No. 1, Mey 2011

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

M.H. Shahhosseiny[1], P. Ghavam Mostafavi[2], S.M.R. Fatemi[1], Sh. Kazempour Osaloo[3] and *E. Karimi[4]

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

Abstract

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

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

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

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