



حضور کلاد D زوگزانتله در مرجان های 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: مرجان های سخت و نرم خلیج فارس دارای جلبک تک سلولی هم زیستی به نام زوگزانتله می باشند که نقش مهمی در تأمین مواد آلی مورد نیاز مرجان ها ایفا می نماید. آبسنگ های مرجانی این ناحیه از خلیج به دلیل قرار گرفتن در عرض های جغرافیایی نیمه گرمسیری و وجود دامنه وسیع تغییرات دمای آب و شوری بالا همواره تحت تأثیر تنش های محیطی می باشند. این تنش ها می تواند منجر به تغییر زوگزانتله های همزیست با آن ها گردد. این مطالعه با هدف شناسایی کلادهای *Symbiodinium* به روش مولکولی و نیز بررسی حضور کلاد D زوگزانتله در مرجان های نرم و سخت جزیره لارک در خلیج فارس انجام شده است.

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

یافته ها: به دنبال تکثیر قطعه ای از ژن زیرواحد بزرگ ریبوزومی ۲۸S، توالی ۷۸۰bp به دست آمد. پس از توالی یابی قطعه ژنی تکثیر یافته و مقایسه آن با ترادف های ژنی موجود در بانک ژنی مشخص گردید که کلادهای هم زیست با مرجان های نرم اطراف جزیره لارک، از نوع کلاد D می باشند. نتیجه گیری: غالب بودن کلاد D به علت درجه حرارت بالای خلیج فارس و نیز شرایط ناپایدار تنگه هرمز در مرجان های نرم و سخت جزیره لارک کاملاً طبیعی می باشد.

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

پذیرش برای چاپ: خرداد ۱۳۹۰

دریافت مقاله: فروردین ۱۳۹۰

مقدمه

زوگزانتله می باشد که حضور آن در برخی از مرجان ها باعث به وجود آمدن آبسنگ های مرجانی می گردد (۱).

آبسنگ های مرجانی به دلیل داشتن گونه های متنوع جانوری اهمیت بسیاری دارند. بنابراین مصون ماندن این موجودات مستلزم حفاظت از اکوسیستم حساس و شکننده مرجان ها

مرجان ها به دو دسته هرمتیپیک و غیرهرمتیپیک تقسیم می شوند. نوع هرمتیپیک دارای جلبک تک سلولی هم زیستی به نام

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

تلفن: ۰۹۱۲۳۳۰۴۰۶۹

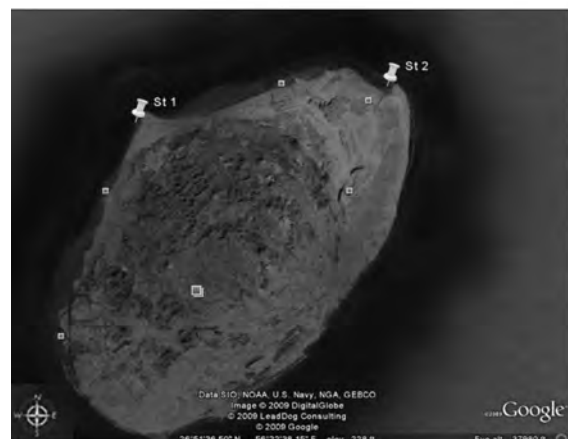
پست الکترونیک: shahhosseiny@yahoo.com

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 مجزا شامل کلادهای A، B، C (۱۴)، D، E (۱۵)، F، G، H (۱۶) تقسیم بندی شده اند. هر کلا 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 روش‌ها

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 سانتی‌گراد، اتصال در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، طویل شدن در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و در نهایت طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد 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) توالی‌یابی و آنالیز فیلوژنی: توالی‌یابی 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 زوگزانتله مرجان‌های نرم جزیره لارک و ۵ توالی ژنی از مرجان‌های سخت به دست آمد.

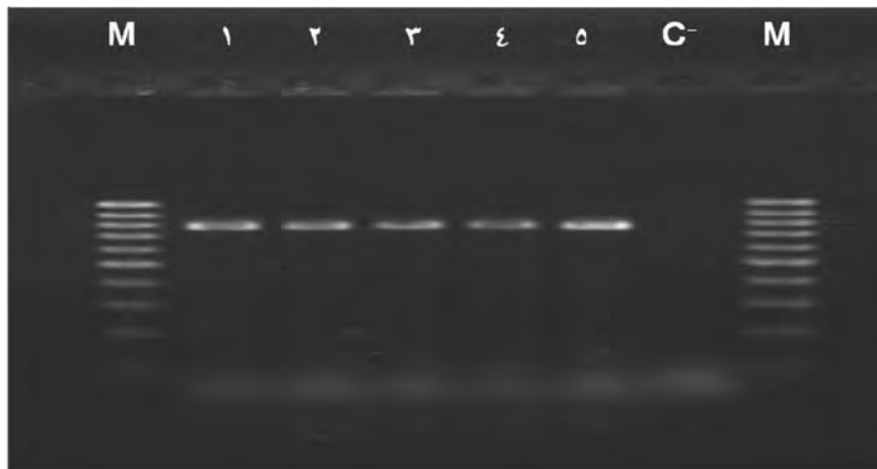
توالی‌های سیمبیودیوم از ۸ گونه مرجان مورد آنالیز فیلوژنی

الف) نمونه‌برداری و استخراج DNA: مرجان‌های نرم و سخت مورد بررسی در این مطالعه با غواصی از دو ایستگاه در شمال و شمال شرق جزیره لارک به نام‌های S1 (طول جغرافیایی $26^{\circ}52'35''/14''$ شمالی و عرض جغرافیایی $56^{\circ}24'36''/47''$) و S2 (طول جغرافیایی $26^{\circ}53'21''/07''$ شمالی و عرض جغرافیایی $56^{\circ}21'5/82''$ شرقی) در ماه‌های مهر و بهمن سال ۱۳۸۷ و نیز اردیبهشت ماه ۱۳۸۸ در دو عمق مختلف جمع‌آوری گردیدند (شکل ۱).

گونه‌های مرجانی نرم جمع‌آوری شده شامل: *Sarcophyton* گونه‌های 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 نمونه‌های جمع‌آوری شده از مرجان‌های نرم در هاون کوبیده شدند و به کمک آب دیونیزه به صورت هموژن در آمدند. در مورد مرجان‌های سخت نیز توده زوگزانتله با استفاده از دستگاه Air Brush و بافر DNAB جداسازی شد. سپس با استفاده از روش CTAB و کلروفرم، DNA از توده زوگزانتله استخراج گردید (۱۵).

ب) واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز: با استفاده از پرایمرهای اختصاصی سیمبیودیوم به نام MOS، قطعه‌ای از ژن زیر واحد بزرگ ریپوزومی ۲۸S آن تکثیر گردید. توالی پرایمرهای به کار رفته در این مطالعه شامل:



شکل ۲: محصول PCR از قطعه ژن ریپوزومی ۲۸S تکثیر شده هر ۵ کلنی (M). مارکر (۱۰۰bp)، ستون‌های ۱ تا ۵) محصول PCR حاصل از ۵ گونه، ستون ۶) کنترل منفی.

سازگاری ($CI = 0/793$) و شاخص گروه‌پذیری ($RI = 0/923$)، درخت توافقی (مطلق مرکزی ۵۴۱ عدد درخت) ۱۰۰۰۰ تکرار off = Bootstrap و Multrees (حدود اطمینان کلادها) ۱۰۰۰۰ می‌باشد. درخت فیلوژنی با استفاده از برنامه حداکثر پارسیمونی (Maximum Parsimony) رسم گردید. جستجوی ابتکاری (Heuristic search) با گزینه‌های sequence Simple addition و TBR انجام شده است.

نتایج

الف) واکنش زنجیره ای پلی مرز: در مطالعه حاضر اندازه محصول PCR حاصل از تکثیر ژن RNA ریپوزومی ۲۸S سیمبیودیونیوم، قطعه ای ۷۸۰ جفت بازی بود (شکل ۲) که برای توالی یابی DNA مورد استفاده قرار گرفت. نتایج نشان داد که در مجموع جمعیت سیمبیودیونیوم در میان و در بین جمعیت‌های ۸ گونه مرجان مورد مطالعه یکسان است. به طوری که در بین کلنی‌ها، ایستگاه‌ها و عمق‌های مختلف هیچ گونه تفاوتی مشاهده نگردید.

ب) توالی یابی DNA: توالی یابی مستقیم بر روی محصولات PCR از گونه‌های مرجانی موجود انجام گرفت. آنالیزهای BLASTN توالی‌ها نشان داد که نتایج حداکثر تشابه را ($>95\%$) با کلاد D دارند (شکل ۳).

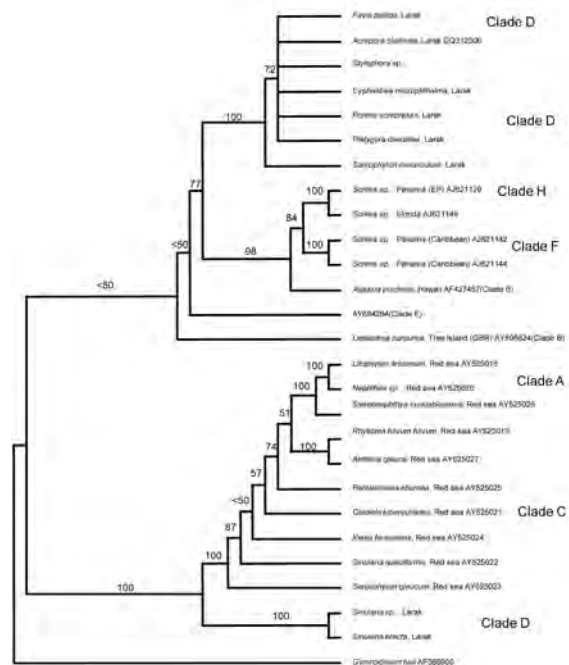
بحث

خلیج فارس به دلیل قرار گرفتن در عرض‌های جغرافیایی نیمه‌گرمسیری، محدودیت‌هایی را برای جوامع مرجانی به وجود آورده است. به طوری که دامنه وسیع دمای آب، شوری بالا و کدورت نسبتاً زیاد آب در خلیج فارس موجب تنش در مرجان‌های این ناحیه شده است (۱۰). به همین دلیل تنوع گونه‌ای مرجان‌ها در خلیج فارس محدود می‌باشد. با این وجود تنوع جلبک‌های هم زیست (زوگزانتله) تابعی از فراوانی تعداد گونه‌های مرجانی نمی‌باشد. زیرا در سواحل عربستان با وجود تنها ۵۰ گونه مرجان سخت می‌توان کلادهای A، C و D را مشاهده نمود (۱۰).

مطالعه حاضر با هدف شناسایی کلادهای مختلف زوگزانتله به

قرار گرفت. به این منظور تمام سکانس‌ها با استفاده از نرم‌افزار Clustal X تنظیم گردید (۳۸). سیستماتیک کلادها بر اساس مطالعه Baker در سال ۲۰۰۳، در نظر گرفته شد. توالی‌های استفاده شده در این مطالعه کلاد A (AY525018، AY525020 و AY525026)، کلاد B (AY596824 و AF427457)، کلاد C (AY525019)، AY525021، AY525022، AY525023، AY525024، AY525025 و AY525027)، کلاد D (DQ312306، DQ312312، DQ312315، DQ312322 و DQ312325)، کلاد E (AY074957 و AY684264)، کلاد F (AJ621142) و کلاد H (AJ621144 و AJ621129) بودند.

درخت فیلوژنی مربوطه بر ریشه گونه (AF0620900) (*Gymnodinium beii*) رسم گردید. ۵۴۱ عدد کوتاه‌ترین درخت به طول ۱۹۸۵ گام (صفات غیراطلاعی حذف نشده اند)، شاخص



شکل ۳: درخت Maximum Parsimony از ژنوتیپ‌های DNA ریپوزومی ۲۸S از مرجان‌های نرم و سخت جزیره لارک. کلادهای کنترل (A، B، C، D، E، F و H) و یک موجود Outgroup (*Gymnodinium beii*) در آنالیز قرار دارند (شماره مسلسل در شکل نشان داده شده است). گونه‌های مرجان‌های میزبان عبارتند از: *Platygyra daedalea*, *Stylophora sp.*, *Favia pallida*, *Cyphastrea microphthalma*, *Porites compressa*, *Sinularia erecta*, *Sinularia sp.*, *Sarcophyton minusculum*,

نمونه‌برداری شده از اوکتاکرال‌ها (*Leptogorgia rigida*، *Pacificorgia gracilis* و *Eugorgia aurantiaca*) فاقد زوگزانتله بوده‌اند (۴۰). به نظر می‌رسد که کلاد D از نظر انتشار تا حدی تصادفی عمل می‌نماید. در سال ۱۹۹۹، بیکر و همکاران حضور کلاد D، سیمبیودیوم را در مرجان سخت *Stephanocoenia intersepta* در عمق‌ای متوسط گزارش نمودند. در حالی که اگر این گونه در آب‌های کم عمق قرار گیرد دارای کلاد A و چنانچه در آب‌های 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 می‌باشد (۲۵). این امر نشان می‌دهد که کلاد D در موقعیتی حضور می‌یابد که سایر کلادها، هم‌زیستی در آن شرایط را نمی‌پسندند. تالر (Toller) و همکاران در بررسی خود مرجانی را از آب‌های عمیق به آب‌های کم عمق انتقال دادند. در اثر این جابجایی کلنی مرجان دچار پدیده سفیدشدگی شد. اما پس از بهبودی، وجود کلاد D در کلنی‌های بهبود یافته اثبات گردید (۲۵).

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

از آنجایی که جزیره لارک در تنگه هرمز واقع شده است، در تنش ناشی از کشند (جزر و مد) و نوسانات دما و شوری می‌باشد. از طرفی کلاد D نیز در شرایطی با مرجان‌ها هم‌زیست می‌شوند که سایر کلادها در آن شرایط تمایلی به هم‌زیستی ندارند (۲۵). بنابراین با توجه به شرایط تنگه هرمز، همچنین بروز پدیده سفیدشدگی در سال‌های اخیر در آبسنگ‌های مرجانی ناحیه شمالی خلیج فارس به دلیل افزایش دمای محیط، حضور کلاد D بر روی ۸ گونه از مرجان‌های نرم و سخت غالب اطراف جزیره لارک امری دور از ذهن نمی‌باشد.

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

بیکر (Baker) و همکاران در سال ۲۰۰۴، زوگزانتله‌های هم‌زیست با گونه‌های مرجانی خلیج فارس را در سواحل عربستان مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها با استفاده از پرایم‌های اختصاصی سیمبیودیوم و به کمک تکنیک PCR-RFLP بر روی ژن زیر واحد بزرگ ریپوزومی هسته‌ای (LSU) موفق به شناسایی کلادهای A، C و D شدند. همچنین کلاد D به عنوان کلاد غالب آبسنگ‌های مرجانی این ناحیه معرفی گردید (۱۰).

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

در آبسنگ‌های سدی عظیم استرالیا، از میان مرجان‌های نرم تنها گونه *C. koellikeri* دارای کلاد D و گونه *Nephtea sp.* دارای کلادهای B و C بوده است. غالب‌ترین نمونه‌های مرجان‌های نرم دریای کارایب کلاد B و به ندرت کلاد C نیز گزارش شده است. از طرفی در مرجان‌های 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 سفیدشده 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 کلادهای 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. Smithsonian 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