

مطالعه مورفولوژیکی و ژنتیکی زوانتیدهای جنس *Zoanthus* در برخی جزایر مرجانی خلیج فارس (قشم، لارک و کیش)

- آتوسا نوری کوپائی*: گروه زیست شناسی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، صندوق پستی: ۱۴۵۱۵-۷۷۵
- پرگل قوام مصطفوی: گروه زیست شناسی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، صندوق پستی: ۱۴۵۱۵-۷۷۵
- جلیل فلاح مهرآبادی: گروه مهندسی ژنتیک، پژوهشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه صنعتی مالک اشتر، صندوق پستی: ۸۳۱۴۵-۱۱۵
- سیدمحمد رضا فاطمی: گروه زیست شناسی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، صندوق پستی: ۱۴۵۱۵-۷۷۵

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۲

چکیده

جنس *Zoanthus* تاکسونی غالب در راسته زوانتاریا می باشد که به داشتن تنوع رنگی گسترده شناخته شده است. این ویژگی، شناسایی گونه‌های آن‌ها را بر اساس خصوصیات مورفولوژیکی دشوار و تا حدی ناممکن ساخته است. از این رو برای اطمینان از صحت شناسایی مطالعه ژنتیکی امری اجتناب ناپذیر است. بدین منظور ۱۰ کلنی با رنگ‌های متنوع در ۳ تکرار از جزایر لارک، قشم و کیش جمع‌آوری و پس از استخراج DNA از نمونه‌ها، قطعه ژنی rRNA ۱۶S با استفاده از روش PCR تکثیر و در نهایت توالی‌یابی شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد توالی نوکلئوتیدی این قطعه ژنی میتوکندریایی در تمام نمونه‌های مورد بررسی یکسان و منطبق بر توالی‌های گزارش شده از گونه *Zoanthus sansibaricus* می باشد. آنچه از این بررسی حاصل شد بی تردید گزارشی مدون از تنوع رنگی نمونه‌های موجود در جزایر ایرانی خلیج فارس است. مشاهده پلیپ‌های قهوه‌ای، سبز، خاکستری، قرمز، صورتی و بنفش، تتاکل‌هایی سبز و قهوه‌ای، منطقه دهانی سبز، قرمز، آبی و صورتی به همراه صفحه دهانی سبز، قرمز، آبی، صورتی و خاکستری تصدیقی بر وجود طیف گسترده‌ای از رنگ‌ها در این گونه جانوری می باشد.

کلمات کلیدی: جنس *Zoanthus*، rRNA ۱۶S، تنوع رنگی، PCR- Sequencing، خلیج فارس



مقدمه

زوانتیدها (*Zoantharia*, *Zoanthidea*) راسته‌ای از رده آنتوزواها بوده که با وجود پراکنش وسیع در اغلب محیط‌های دریایی به‌درستی مطالعه نشده‌اند (۱۰). اغلب گونه‌های این راسته، به‌صورت کلنی دیده می‌شوند و از این حیث به مرجان‌های سخت شبیه‌اند لیکن فقدان اسکلت آهکی ویژگی مشترک این گروه جانوری با شقایق‌های دریایی است (۱۷).

جنس *Zoanthus* Lamarck ۱۸۰۱ را می‌توان شناخته شده‌ترین تاکسون این راسته قلمداد نمود (۲). زوانتیدهای جنس *Zoanthus* بر روی صخره‌ها و حواشی آبنسنگ‌های مرجانی، در معرض امواج و جریان‌ات یافت می‌شوند (۹). طی سال‌های اخیر تحقیقات گسترده‌ای پیرامون ترکیبات بیوشیمیایی این جنس صورت گرفته است. جداسازی نوع جدیدی از هورمون اکتیواستروئید (۲۱) و آلکالوئیدهایی با خاصیت ضد پوکی استخوان مانند نورزوانتامین (۸) در زمره این پژوهش‌هاست. لیکن نمونه‌های استفاده شده در این دسته تحقیقات همواره گونه‌های ناشناخته این جنس بوده‌اند. جنس *Zoanthus* تنوع رنگی شگفت‌انگیزی در مقایسه با سایر جنس‌های این راسته دارد (۹). تاکسونومی این جنس به سبب انعطاف‌پذیری مورفولوژیک گونه‌ها و فقدان معیارهای صحیح شناسایی همواره نامسامان بوده است (۱۰). رده‌بندی آن برای سالیان متممادی براساس خصوصیات مورفولوژیک از جمله رنگ پلیپ، رنگ صفحه‌دهانی، رنگ تتاکل‌ها و نوع پلیپ صورت می‌گرفته است. Fautin (۲۰۰۴) براساس شناسایی‌های صرفاً مورفولوژیکی ۱۵۴ گونه برای این جنس مطرح کرده بود. (۶). اما با روی کار آمدن علم ژنتیک مولکولی و بررسی مجدد آن‌ها مشخص شد که رنگ و سایر ویژگی‌های ریختی به تنهایی معیار صحیحی برای تفکیک گونه‌های این جنس نمی‌باشند (۴ و ۹).

ضعف شناسایی‌های مورفولوژیکی برای اولین بار با مطالعه‌ای نه‌چندان گسترده در منطقه Great Barrier Reef و شمال استرالیا، آشکار شد. طی این تحقیق Burnett و همکاران (۱۹۹۷) با شناسایی گونه‌های *Zoanthus* براساس تکنیک آلوزایم به تنوع درون گونه‌ای این جنس پی بردند (۵). پس از آن مطالعات وسیعی در جهت شناسایی این جنس با استفاده از تکنیک PCR- Sequencing و بر پایه این مهم که نشانگرهای میتوکندریایی در آنتوزواها نسبت به سایر گروه‌های جانوری نرخ تکاملی آهسته‌تری دارند (۱۹)، صورت گرفته و

حاصل آن تا به امروز بی‌شک نظم بخشی به تاکسونومی جنس *Zoanthus* بوده است (۹، ۱۴، ۱۵، ۱۶ و ۱۷).

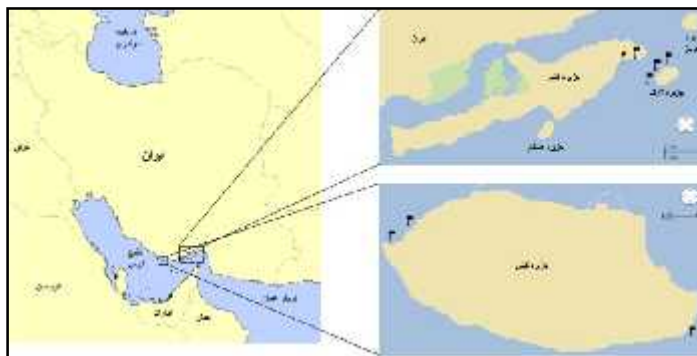
در این بین با وجود گسترش مطالعات صورت گرفته بر روی جنس *Zoanthus*، تنوع زیستی این جنس در خلیج فارس هم‌چنان ناشناخته است. پراکنش گسترده آبنسنگ‌های مرجانی، آب و هوای گرمسیری و عمق کم، خلیج فارس را به بستری مناسب برای این جنس تبدیل کرده است. لیکن تنها اطلاعات موجود از این منطقه حاصل شناسایی مورفولوژیکی زوانتیدهای جزیره هنگام می‌باشد (۱). در این تحقیق تنوع رنگی محدودی از نمونه‌های جنس *Zoanthus* بررسی و نهایتاً در دو گروه گونه‌ای *Zoanthus sansibaricus* و *Zoanthus vietnamensis* جای داده شدند.

هدف از مطالعه حاضر بی‌تردید برداشت اولین گام در راستای شناسایی دقیق و اصولی این گروه جانوری است. برای محقق‌شدن این هدف توالی قطعه ژنی tRNA ۱۶S در نمونه‌های رنگارنگ جنس *Zoanthus* بررسی شد تا برای اولین بار شناسایی گونه‌های این جنس با به‌کارگیری ویژگی‌های مورفولوژیکی و ژنتیکی به موازات هم صورت گیرد.

مواد و روش‌ها

۳۰ عدد کلنی شامل ۱۰ تنوع رنگی متفاوت از جنس *Zoanthus* با ۳ تکرار در آذر ۱۳۹۰ از منطقه جزر و مدی و زیرجزر و مدی (جدول ۱) جزایر مرجانی قشم، لارک و کیش شناسایی و جمع‌آوری شدند (شکل ۱). پیش از برداشت، در محیط از نمونه‌ها عکس‌برداری شد تا تنوع رنگی آن‌ها مورد بررسی قرار گیرد (شکل ۲).

سپس نمونه‌ها جهت انجام مراحل آزمایشگاهی در فالكون‌های حاوی اتانول مطلق به آزمایشگاه زیست‌شناسی دریا واقع در مجتمع آزمایشگاهی زکریای رازی دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات منتقل و در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. در این بررسی استخراج DNA به‌روش CTAB-Chloroform (۳) صورت گرفت. کمیت و کیفیت با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد تعیین گردید. سپس با استفاده از آغازگر اختصاصی زوانتید (۲۰) واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) جهت تکثیر قطعه ژنی tRNA ۱۶S انجام گرفت.



شکل ۱: مناطق نمونه برداری در خلیج فارس (جزایر لارک، قشم و کیش)

جدول ۱: نمونه‌های مورد مطالعه، جزایر، موقعیت جغرافیایی و عمق نمونه برداری

نام نمونه	تعداد تکرار	جزایر نمونه برداری	موقعیت جغرافیایی	عمق (متر)
۱AK	۳	کیش	شمالی ۴۴.۲۳'۲۹° شرقی ۲۶.۱۴'۲۰°	۲
۲BK	۳	کیش	شمالی ۴۴.۲۳'۲۹° شرقی ۲۶.۱۴'۲۰°	۲
۳CK	۳	کیش	شمالی ۲۳.۶۸'۳۳° شرقی ۲۴.۷۶'۵۴°	۲
۴DK	۳	کیش	شمالی ۵۳.۸۳'۳۲° شرقی ۱۲.۴۵'۵۴°	۲
۵AQ	۳	قشم	شمالی ۲۴.۸۶'۵۵° شرقی ۱۰.۸۸'۱۳°	منطقه جزر و مدی
۶BQ	۳	قشم	شمالی ۴۶.۷'۵۶° شرقی ۴۰.۹۹'۱۶°	منطقه جزر و مدی
۷AL	۳	لارک	شمالی ۵۲.۲۷'۵۱° شرقی ۲۲.۹۳'۱۹°	۵
۸BL	۳	لارک	شمالی ۲۰.۷۹'۴۹° شرقی ۵۸.۵۳'۱۰°	۵
۹CL	۳	لارک	شمالی ۵۴.۸۳'۵۰° شرقی ۵۱.۹۳'۱۸°	۵
۱۰DL	۳	لارک	شمالی ۵۲.۲۷'۵۱° شرقی ۲۲.۹۳'۱۹°	۵



شکل ۲: تصویر نمونه‌های مطالعه شده پیش از نمونه برداری ۱: ۶BQ، ۲: ۹CL، ۳: ۷AL، ۴: ۴DK، ۵: ۲BK، ۶: ۳CK، ۷: ۱AK، ۸: ۱۰DL، ۹: ۸BL، ۱۰: ۵AQ



بود. هر ۳۰ کلنی مطالعه شده مستقیماً به صخره یا مرجان‌های مرده متصل بوده و پلیپ‌ها از نوع آزاد یا *Liberatae* یعنی کاملاً برخاسته و جدا از پوشش قشری (کونانشیم) بودند. رنگ پلیپ، تنتاکل‌ها، شکاف دهانی، منطقه دورددهانی و رنگ صفحه دهانی نمونه‌ها با استفاده از عکس‌های میدانی (شکل ۲) مشخص و نتایج به تفکیک نمونه در جدول ۲ ثبت گردیده است. نمونه‌های مورد بررسی با کمک منابع متنوع (۱۰، ۱۲، ۱۳ و ۱۸) و براساس تنوع رنگی تا حد گونه شناسایی شدند (جدول ۲).

در بین *Zoanthus* های مطالعه شده نمونه‌های AK^۱، BK^۲، AQ^۵، AL^۷ و BL^۸ به‌واسطه داشتن پلیپ‌های خاکستری، بنفش و صورتی، تنتاکل‌های سبز یا قهوه‌ای، شکاف دهانی سفید و صفحه دهانی سبز و آبی با گونه *Carlgren*، *Zoanthus sansibaricus* ۱۹۰۰ و نمونه CL^۹ و DL^{۱۰} با داشتن پلیپ‌های بنفش روشن و منطقه دهانی یا صفحه دهانی صورتی رنگ بیش‌ترین تطابق ریختی را با گونه *Zoanthus vietnamensis* Pax & Muller, ۱۹۵۶ دادند. لیکن تنوع رنگی نمونه‌های CK^۳، DK^۴ و BQ^۶ (جدول ۲) با ترکیب رنگ‌های ذکر شده (۱۰ و ۱۲) از گونه‌های *Zoanthus* مشابه نبوده و شناسایی آن‌ها در حد گونه انجام نشد.

شناسایی ژنتیکی: DNA استخراج شده از تمام نمونه‌های *Zoanthus* با داشتن کمیت و کیفیت مناسب و عدم وجود هر گونه آلودگی پروتئینی و RNA برای انجام واکنش PCR مناسب بود. پس از انجام واکنش محصولی به‌اندازه ۱۰۰۰ bp به‌دست آمد که کاملاً خالص و بدون هیچ‌گونه آسمیر و باند غیراختصاصی بود. نتایج حاصل از توالی‌یابی قطعه ژنی rRNA ۱۶S نشان داد که برخلاف شناسایی مورفولوژیک ابتدائی هر ۳۰ کلنی جمع‌آوری شده متعلق به گونه *Zoanthus sansibaricus* هستند. انطباق توالی‌های به‌دست آمده (شماره مسلسل توالی‌های ثبت شده در بانک ژن در جدول ۲ ذکر گردیده است) با یکدیگر و با توالی‌های پیشین ثبت شده در بانک ژن جهانی AB۲۱۹۱۸۸-DQ۹۹۷۸۷۱-EU۳۳۳۶۵۶-EU۳۳۳۶۵۸- EU۳۳۳۶۶۴-HQ۸۴۰۷۲۹-JF۴۱۹۷۶۱-JF۴۱۹۷۶۲- JF۴۱۹۷۶۳-JF۴۱۹۷۶۴-AB۲۱۹۱۹۲-AB۲۳۵۴۱۱- EU۳۳۳۶۵۳-EU۳۳۳۶۵۵-EU۳۳۳۶۶۶-JF۴۱۹۷۵۸- JF۴۱۹۷۶۰-JF۴۱۹۷۵۹ (شماره مسلسل توالی‌های مطالعه شده داشت، هرچند که در ابتدا برخی از نمونه‌ها (CL^۹) و DL^{۱۰}) به‌واسطه خصوصیات ریختی‌شان گونه *Zoanthus vietnamensis* قلمداد شده و شناسایی برخی از نمونه‌ها (CK^۳، DK^۴ و BQ^۶) تنها در حد جنس انجام شد.

هر واکنش در حجم ۲۵ میکرولیتری شامل بافر (1x)، ۱ میلی‌مولار MgCl₂، ۰/۲ میلی‌مولار dNTP، ۵ پیکومول 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 واسرشته‌سازی اولیه: ۹۵ درجه سلسیوس به‌مدت ۲ دقیقه و مرحله واسرشته‌سازی: ۹۵ درجه سلسیوس به‌مدت ۱ دقیقه، مرحله الحاق: ۵۲ درجه سلسیوس به‌مدت ۳۰ ثانیه، مرحله بسط: ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۹۰ ثانیه و نهایتاً مرحله بسط نهائی: ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷ دقیقه و تعداد چرخه‌ها ۳۰ چرخه در نظر گرفته شد. محصولات تکثیر شده (PCR) به‌همراه سایز مارکر ۱۰۰bp بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز و توسط اتیديوم بروماید رنگ‌آمیزی شدند. پس از ثبت تصاویر ژل‌ها توسط دستگاه UVdoc اندازه و کیفیت نمونه‌ها مشخص گردید. نهایتاً محصولات PCR مناسب جهت توالی‌یابی به شرکت ماکروژن کره جنوبی ارسال و توالی‌های به‌دست آمده در بانک ژنی ثبت گردید (accession numbers JX۸۴۵۳۱۱- JX۸۴۵۳۲۰).

جهت اطمینان از شناسایی صحیح نمونه‌ها توالی‌های حاصل از مطالعه حاضر با استفاده از نرم‌افزار CLUSTAL W (۲۳) با سایر توالی‌های موجود در بانک ژن تطبیق داده شدند. ترسیم درخت فیلوژنی با استفاده از روش maximum-likelihood (ML) و neighbor-joining (NJ) در نرم‌افزار MEGA۵ (۲۲) انجام گردید. جهت آنالیز فیلوژنی یک تکرار از هر نمونه و برخی توالی‌های ثبت شده در بانک ژن جهانی استفاده شد. توالی‌ها عبارتند از: *Zoanthus sansibaricus* EU۳۳۳۶۵۸- EU۳۳۳۶۶۴ (JF۴۱۹۷۶۱- JF۴۱۹۷۶۲- JF۴۱۹۷۶۳) ، *Zoanthus vietnamensis* EU۳۳۳۶۶۵- EU۳۳۳۶۵۹- EU۳۳۳۶۵۳- AB۲۳۵۴۰۸-EU۳۳۳۶۵۵ *Zoanthus kuroshio* (JF۴۱۹۷۵۹- JF۴۱۹۷۵۸- JF۴۱۹۷۶۰) و درخت بر ریشه *Parazoanthus gracilis* رسم شد.

نتایج :

شناسایی مورفولوژیکی: در ابتدا بررسی‌های مورفولوژیکی نمونه‌ها نشان داد همگی به‌طور قطع متعلق به جنس *Zoanthus* می‌باشند. تمام گونه‌های جنس *Zoanthus* برخلاف اغلب زوانتیدها فاقد شن و ماسه در بافت خود هستند (۱). پلیپ‌ها دارای سطحی صاف، یکدست و فاقد برآمدگی بودند. شکاف دهانی در سطح بیرونی بدن به وضوح مشخص

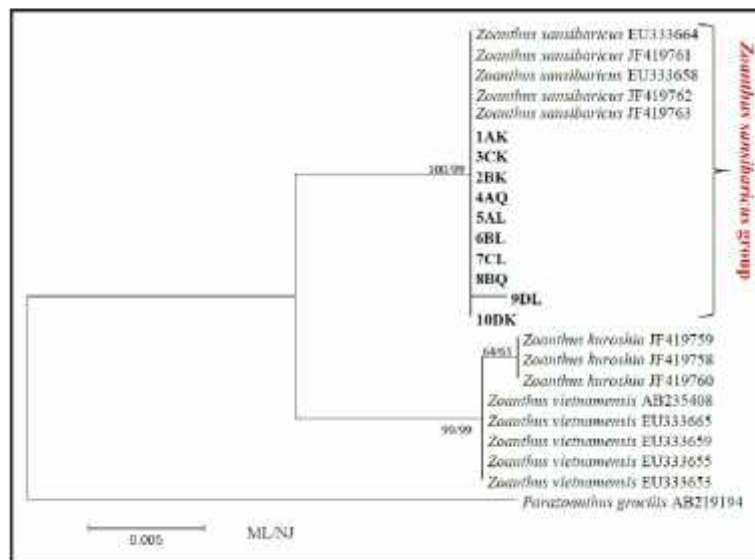
همان‌طور که در شکل ۳ مشخص است تمام توالی‌های به‌دست آمده از قطعه ژنی ۱۶S rRNA نمونه‌های مورد مطالعه در یک کلاذ مشترک با توالی‌های این قطعه ژنی از گونه *Zoanthus sansibaricus* قرار گرفته‌اند. گرچه نمونه ۹DL با یک نوکلئوتید اختلاف با سایر توالی کمی تفاوت نشان داد اما درون

کلاذ *Zoanthus sansibaricus* جای گرفت. مقادیر بالای بوت استرپ حاصل از رسم درخت‌های maximum-likelihood و neighbour-joining (NJ = ۱۰۰٪ / ۹۹٪) (ML) هم‌گونه بودن نمونه‌های مطالعه شده را اثبات کرد.

جدول ۲: رنگ پلیپ، رنگ تنتاکل، رنگ شکاف دهانی، منطقه دور دهانی و صفحه دهانی هر نمونه به تفکیک، نتایج شناسائی مورفولوژیک و شماره ژن‌های ثبت شده هر نمونه در بانک ژن

نام نمونه	رنگ پلیپ	رنگ تنتاکل	رنگ شکاف دهانی	رنگ منطقه دور دهانی	رنگ صفحه دهانی	شناسائی مورفولوژیکی	Accession number
۱AK	خاکستری	سبز روشن	سفید	سفید با نواری به رنگ سبز روشن	سبز تیره	<i>Zoanthus sansibaricus</i>	JX۸۴۵۳۱۸
۲BK	خاکستری یا صورتی	سبز روشن	سفید	سبز، تفکیک شده از صفحه دهانی با نواری به رنگ سبز روشن	سبز تیره	<i>Zoanthus sansibaricus</i>	JX۸۴۵۳۱۷
۳CK	قرمز	قهوه‌ای روشن	قرمز روشن	قرمز	قرمز تیره	<i>Zoanthus sp.</i>	JX۸۴۵۳۱۶
۴DK	قهوه ای روشن	قهوه‌ای روشن	سفید	سفید با نوار سبز روشن	آبی تیره	<i>Zoanthus sp.</i>	JX۸۴۵۳۱۹
۵AQ	بنفش روشن	قهوه‌ای روشن	سفید	آبی روشن	آبی روشن	<i>Zoanthus sansibaricus</i>	JX۸۴۵۳۲۰
۶BQ	خاکستری تا سبز کمرنگ در اطراف صفحه دهانی صورتی و یا روشن تر	سبز	سفید	سفید تفکیک یافته با نواری به رنگ سبز روشن	سبز تیره با سپتا های مشخص	<i>Zoanthus sp.</i>	JX۸۴۵۳۱۲
۷AL	در اطراف صفحه دهانی صورتی	قهوه‌ای روشن	سفید	سفید	سبز با سپتاهاى مشخص	<i>Zoanthus sansibaricus</i>	JX۸۴۵۳۱۵
۸BL	صورتی در ناحیه فوقانی و سپس خاکستری	سبز روشن	سفید	سفید تفکیک یافته با نواری به رنگ سبز روشن	سبز تیره با سپتا های مشخص	<i>Zoanthus sansibaricus</i>	JX۸۴۵۳۱۴
۹CL	در نزدیکی صفحه دهانی صورتی یا کرم رنگ و سپس بنفش روشن	قهوه‌ای روشن	سفید	سفید تفکیک یافته با نواری نازک به رنگ صورتی	صورتی تیره	<i>Zoanthus vietnamensis</i>	JX۸۴۵۳۱۳
۱۰DL	در اطراف ناحیه ی دهانی سفید رنگ و سپس بنفش روشن	قهوه‌ای روشن	سفید	صورتی	خاکستری	<i>Zoanthus vietnamensis</i>	JX۸۴۵۳۱۱





شکل ۳: درخت maximum-likelihood توالی‌های rRNA ۱۶S شامل توالی‌های جدید حاصل از مطالعه حاضر و توالی‌های پیشین ثبت شده در بانک ژن. *Parazoanthus gracilis* به‌عنوان موجود Outgroup در آنالیز قرار داده شد. مقادیر روی شاخه درصد بوت استرپ neighbour-joining (ML/NJ) و maximum-likelihood را به ترتیب نشان می‌دهند.

چندین لوسی (loci) متفاوت بر روی ژن GFP، مسئول بیان سه رنگ متفاوت در درجات متنوعی است که منجر به تنوع رنگی گسترده‌ای می‌گردد. بنابراین علی‌رغم داشتن ژنوتایپ GFP مشابه، بیان متفاوت این ژن رنگ‌های متنوعی را ایجاد می‌کند (۷).

گونه *Zoanthus sansibaricus* یکی از معمول‌ترین و متنوع‌ترین گونه‌های جنس *Zoanthus* در آبسنگ‌های مرجانی می‌باشد (۸). Reimer و همکاران (۲۰۰۴) طی اولین بررسی مولکولی جنس *Zoanthus* با استفاده از روش PCR-Sequencing چهار گونه از این جنس را که در گذشته به جهت تفاوت‌های مورفولوژیکی در رنگ از یکدیگر تفکیک شده بودند به‌عنوان واریته‌های رنگی گونه *Zoanthus sansibaricus* معرفی نمودند (۹). پس از آن مطالعات ژنتیکی گسترده‌تری با هدف شناسایی گونه‌های جنس *Zoanthus* انجام شد (۱۰، ۱۵ و ۱۶) که همگی حاکی از تنوع رنگی بالای گونه *Zoanthus sansibaricus* بود. طی مطالعه حاضر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) برای تکثیر و در نهایت توالی‌یابی قطعه ژنی ۱۶S rRNA انجام شد. مطالعات گذشته ثابت کرده است که این قطعه ژنی نشانگر مناسبی برای شناسایی زوانتیدها در حد گونه است (۱۰ و ۱۱). نتایج توالی‌یابی این قطعه ژنی میتوکندریایی ثابت کرد تمام نمونه‌های جمع‌آوری شده در این

بحث

شناسایی جنس *Zoanthus* براساس ویژگی‌های مورفولوژیک کار چندان دشواری نیست. عدم وجود شن و ماسه در پلیپ‌های جنس *Zoanthus* ویژگی شاخصی است که آن‌ها را از دیگر نمونه‌های زوانتید متمایز می‌کند (۱۲). تمام گونه‌های گزارش شده از این جنس دارای پلیپ‌هایی کوچک و رها از کونانشیم (Liberae) با منطقه دهانی روشن می‌باشند.

با وجود تشخیص آسان این جنس در محیط، شناسایی گونه‌های آن به سبب تنوع گسترده مورفولوژیکی پیچیده است. تنوع رنگی درون گونه‌های شناسایی ریختی آن‌ها را تا حدی ناممکن ساخته است.

طی مطالعه حاضر نمونه‌های مختلفی از جنس *Zoanthus* با تنوع رنگی گسترده براساس ویژگی‌های ریختی شناسایی شدند. تطبیق نمونه‌ها با آن‌چه در منابع گوناگون (۱۰، ۱۲، ۱۳ و ۱۸) عنوان شده بود به شناسایی برخی از آن‌ها کمک کرد لیکن رنگ تعدادی از نمونه‌ها (۳Ck, ۴DK, ۶BQ) با هیچ‌یک از گونه‌های گزارش شده پیشین شباهت نداشت. تحقیقات Matz و Kelmanson (۲۰۰۳) نشان داد که تنوع رنگی در بافت آنتوزوا (از جمله جنس *Zoanthus*) به‌سبب وجود ژن پروتئین سبز فلورسنت (GFP) است. طبق مطالعات آن‌ها وجود

منابع

۱. دهقانی، ح.، ۱۳۸۸. شناسائی و تخمین فراوانی راسته‌های Zoantharia و Scleractinia در منطقه بین جزر و مدی جزیره هنگام. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال. ۱۳۰ صفحه.
۲. Auilar, C. and Reimer, J.D., ۲۰۱۰. Molecular phylogenetic hypotheses of *Zoanthus* species using RNA secondary structure of the internal transcribed spacer. Marine Biodiversity. Vol. ۴۰, No. ۳, pp: ۱۹۵-۲۰۴.
۳. Baker, A.C., ۲۰۰۱. Reef corals bleach to survive change. Nature. Vol. ۴۱۱, pp : ۷۶۵-۷۶۶.
۴. Burnett, W.J.; Benzie, J.A.H.; Beardmore, J.A. and Rylands, J.S., ۱۹۹۵. Patterns of genetic subdivision in populations of a clonal cnidarians, *Zoanthus coppingeri*, from the Great Barrier Reef. Marine Biology. Vol. ۱۲۲, pp: ۶۶۵-۶۷۳.
۵. Burnett, W.J.; Benzie, J.A.H.; Beardmore, J.A. and Rylands, J.S., ۱۹۹۷. Zoanths (Anthozoa, Hexacorallia) from the Great Barrier Reef and Torres Strait, Australia: systematic, evolution and key to species. Coral Reef. Vol. ۱۶, pp: ۵۵-۶۸.
۶. Fautin, D.G., [http:// geoportal. Kgs. Ku. edu/ hexacorall/ anemone/ index. Cfm.](http://geoportal.kgs.ku.edu/hexacorall/anemone/)
۷. Kelmanson, I.V. and Matz, M.V., ۲۰۰۳. Molecular basis and evolutionary origins of color diversity in great star coral *Montastraea cavernosa* (Scleractinia: Faviida). Mol Mar Biol Evol. Vol. ۲۰, No. ۷, pp: ۱۱۲۵-۱۱۳۳.
۸. Miyashita, M.; Saaki, M.; Hattori, I.; Sakai, M. and Tanino, K., ۲۰۰۵. Total synthesis of norzoanthamine. Science. Vol. ۳۰۵, pp: ۴۹۵-۴۹۹.
۹. Reimer, J.D.; Ono, S.; Fujiwara, Y.; Takishita, K. and Tsukahara, J., ۲۰۰۴. Zoological science. Vol. ۲۱, pp: ۵۱۷-۵۲۵.
۱۰. Reimer, J.D.; Ono, S.; Iwama, A.; Takishita, K.; Tsukahara, J. and Maruyama, T., ۲۰۰۶. Morphological and molecular revision of *Zoanthus* (Anthozoa: Hexacorallia) from southwestern Japan, with description of two new species. Zoological Science. Vol. ۲۳, pp: ۲۶۱-۲۷۵.

پژوهش با وجود تنوع رنگی گزارش شده (جدول ۱) همگی متعلق به گونه *Zoanthus sansibaricus* هستند. این درحالی بود که برخی از نمونه‌ها (۹CL و ۱۰DL) براساس رنگ گونه *Zoanthus vietnamensis* شناسایی شده بودند و برخی دیگر (۳CK, ۴DK, ۶BQ) تا حد گونه ناشناخته ماندند. دهقانی (۱۳۸۸) نیز نمونه‌ای مشابه با ۱۰DL را براساس ویژگی‌های مورفولوژیک *Zoanthus vietnamensis* شناسائی کرده بود (۱).

از آنجایی که گونه *Zoanthus sansibaricus* گونه‌ای معمول در نواحی کم‌عمق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری می‌باشد (۱۵) و تنوع رنگی گسترده آن در مطالعات پیشین اثبات شده است (۵، ۱۰، ۱۵ و ۱۶) نتایج حاصل از این بررسی دور از ذهن نبود.

بی‌تردید آن چه از این پژوهش حاصل شد، ثابت کرد تنها استفاده از نشانگرهای ژنتیکی در کنار ویژگی‌های ریختی است که شناخت صحیحی از گونه‌های جنس *Zoanthus* در اختیار محققین قرار می‌دهد در نتیجه برای درک گونه‌های این جنس در محیط ابتدا بایستی مطالعات ژنتیکی بر روی تمامی وارته‌های رنگی آن صورت گیرد.

در یک جمع‌بندی کلی می‌توان ادعا نمود از این پس چنانچه در مطالعات میدانی نمونه‌ای با وارته‌های رنگی گزارش شده (جدول ۲، شکل ۲)، مشاهده گردید بی‌تردید بایستی آن را گونه *Zoanthus sansibaricus* دانست. با تکمیل مطالعات مشابه و بررسی نمونه‌هایی با رنگ‌های متفاوت از آن چه طی این تحقیق حاصل شد، می‌توان به منبعی مدون جهت شناسایی‌های سهل و آسان این گونه در محیط دست یافت. منبعی که محققین علوم دریایی را از تکرار آزمایشات پرهزینه و زمان‌بر ژنتیکی رها می‌سازد.

تشکر و قدردانی؛

نویسندگان مراتب سپاس و قدردانی خود را از دکتر James D. Reimer (دانشگاه ریوکیوی ژاپن) و دکتر Fredric Sinniger (دانشگاه بنگور بریتانیا) به سبب راهنمایی‌های ارزنده‌شان طی این مطالعه ابراز می‌دارند.



۲۰۰۵. Phylogeny of the order Zoantharia (Anthozoa, Hexacorallia) based on the mitochondrial ribosomal genes. *Mar Biol.* Vol. ۱۴۷, pp: ۱۱۲۱- ۱۱۲۸.
۲۱. **Suksamararn, A.; Jankam, A.; Tarnchompoo, B. and Putchakarn, S.,** ۲۰۰۲. Ecdysteroids from a *Zoanthus* sp. *Journal of natural products.* Vol. ۸, No. ۶۵, pp: ۱۱۹۴-۱۱۹۷.
۲۲. **Tamura, K.; Peterson, D.; Peterson, N.; Steker, G.; Nei, M. and Kumar, S.,** ۲۰۱۱. MEGA۵: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.* Vol. ۲۸, No. ۱۰, pp: ۲۷۳۱-۲۷۳۹.
۲۳. **Thompson, J.D.; Higgins, D.G. and Toby, J.G.,** ۱۹۹۴. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position- specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acid Research.* Vol. ۲۲, No. ۲۲, pp: ۴۶۷۳- ۴۶۸۰.
۱۱. **Reimer, J.D.; Ono, S.; Iwama, A.; Tsukahara, J. and Maruyama, T.,** ۲۰۰۶. High levels of morphological variation despite close genetic relatedness between *Zoanthus aff. vietnamensis* and *Zoanthus kuroshio* (Anthozoa: Hexacorallia). *Zoological Science.* Vol. ۲۳, pp: ۷۵۵- ۷۶۱.
۱۲. **Reimer, J.D.,** ۲۰۰۷. Preliminary survey of zooxanthellate Zoanthid diversity (Hexacorallia: Zoantharia) from southern Shikoku, Japan. *Kuroshio Biosphere.* Vol. ۳۰, pp: ۱-۱۶.
۱۳. **Reimer, J.D.; Takishita, K.; Ono, S. and Maruyama, T.,** ۲۰۰۷. Diversity and evolution in zoanthid genus *Palythoa* (Cnidaria: Hexacorallia) based on nuclear ITS- rDNA. *Coral Reefs.* Vol. ۲۶, pp: ۳۳۹- ۴۱۰.
۱۴. **Reimer, J.D.; Sinniger, F. and Hickman, Jr.,** ۲۰۰۸. Zoanthid diversity (Anthozoa: Hexacorallia) in Galapagos Islands: molecular examination. *Coral Reef.* Vol. ۲۷, pp: ۶۴۱-۶۵۴.
۱۵. **Reimer, J.D. and Todd, P.A.,** ۲۰۰۹. Preliminary molecular of zooxanthellate Zoanths diversity (Hexacorallia: Zoantharia) and associated zooxanthellate (*Symbiodinium spp.*) diversity in Singapore. *The raffles bulletin of zoology.* Vol. ۲۲, pp: ۱۰۳- ۱۲۰.
۱۶. **Reimer, J.D.; Hirose, M.; Yanagi, K. and Sinniger, F.,** ۲۰۱۱. Marine invertebrate diversity in the oceanic Ogasawa islands: a molecular examination of zoanths (Anthozoa: Hexacorallia) and their *Symbiodinium* (Dinophyceae). *Systematics and biodiversity.* Vol. ۱, pp: ۱-۱۱.
۱۷. **Reimer, J.D.; Irei, Y. and Fujii, T.,** ۲۰۱۲. Two new species of *Neozoanthus* (Cnidaria, Hexacorallia, Zoantharia) from the Pacific. *Zookeys.* Vol. ۲۴۶, pp: ۶۹-۸۷.
۱۸. **Ryland, J.S. and Lancaster, J.E.,** ۲۰۰۳. Revision of methods of separating species of *Protopalythoa* (Hexacorallia: Zoanthidea) in the tropical West PaciWc. *Invert Systemat.* Vol. ۱۷, pp: ۴۰۷-۴۲۸
۱۹. **Shearer, T.L.; van Oppen, M.J.H.; Romano, S.L. and Worheide, G.,** ۲۰۰۲. Slow mitochondrial DNA sequence evolution in the Anthozoa (Cnidaria). *MolEcol.* Vol. ۱۱, pp: ۲۴۷۵- ۲۴۸۷.
۲۰. **Sinniger, F.; Montoya-Burgos, J.I.; Chevaldonne, P. and Pawlowski, J.,**



Morphological and Genetic studies of Zoanthid Genus *Zoanthus* in some coral islands of the Persian Gulf: Qeshm, Larak and Kish

- **Atoosa Noori Koupaei***: Department of Marine Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, P.O.Box: 775-14515, Tehran, Iran
- **Pargol Ghavam Mostafavi**: Department of Marine Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, P.O.Box: 775-14515, Tehran, Iran
- **Jalil Fallah Mehrabadi**: Genetics Engineering Department, School of Biotechnology, Malek- ashtar University of Technology, P.O.Box: 115-83145, Tehran, Iran
- **Seyed Mohammad Reza Fatemi**: Department of Marine Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, P.O.Box: 775-14515, Tehran, Iran

Received: June 2013

Accepted: October 2013

Key words: *Zoanthus* genera, 16S rRNA, Color variety, PCR- Sequencing, Persian Gulf

Abstract

The gender of the dominant Taxon *Zoanthus* is a subclass of Zoantharia which is known to have a wide variety of colors. This feature make the species identification based on morphological characterization difficult and somewhat impossible. To ensure the accuracy of the identification of genetic research is, hence, inevitable. For this reason, 10 colonies with various colors in three repetitions were collected from the islands of Lark, Qeshm, and Kish. After DNA extraction from the samples, 16S rRNA gene fragment were amplified and finally sequenced by using the PCR method. The results of the present study show that the nucleotide sequence of this mitochondrial gene fragment is identical in all the examined samples and is consistent with the reported sequences of the species of *Zoanthus sansibaricus*.

What this study obtained is undoubtedly a systematic report from the color variation of the available samples in the Iranian islands of the Persian Gulf. Observation of brown, green, gray, red, pink and purple polyps, green and brown tentacles, green, red, blue and pink oral color with oral disc green, red, blue, pink and gray colors confirms a wide range of colors in this species.

