

ارزیابی اعتبار وجودی (*Acropora clathrata* (Brook, 1891) در شمال خلیج فارس (بر اساس تحلیل‌های مورفولوژیک، مورفومتریکی و ژنتیک)

محمد رضا رحمانی^{*}، مهناز اردلان

گروه علوم محیط‌زیست و منابع طبیعی، دانشکده مهندسی محیط زیست، دانشگاه محیط زیست

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۹/۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۸/۴

شناسه دیجیتال (DOI): [10.22113/jmst.2017.11308](https://doi.org/10.22113/jmst.2017.11308)

چکیده

با توجه به تغییرپذیری مرجان‌ها به‌خصوص گونه‌های جنس *Acropora* در پاسخ به شرایط محیطی، همواره تاکسونومی این جنس از مرجان‌ها با چالش روبه‌رو بوده‌است. به همین دلیل برخی مواقع اکومورف‌ها به‌عنوان گونه معرفی شده‌اند. از آن جمله می‌توان به گزارش *Acropora clathrata* از شمال و شمال‌غرب خلیج فارس اشاره نمود. حضور و عدم حضور این گونه در خلیج فارس سال‌ها مورد بحث محققین بوده‌است. به منظور روشن نمودن این موضوع، حداقل در شمال خلیج فارس، ۷۴ کلنی از دو فرم *Acropora downingi* یا دو گونه *A. downingi* و *A. clathrata*، از سه جزیره مختلف لارک، فارور و خارک که به ترتیب از شرق به غرب خلیج فارس واقع شده‌اند، نمونه‌برداری و مورد ارزیابی مورفولوژیک، مورفومتریکی و ژنتیک قرار گرفت. تحلیل‌های تک متغیره (آنالیز واریانس) و چند متغیره (تجزیه به مولفه‌های اصلی و تحلیل تشخیصی) نتایج حاصل از مطالعات تاکسونومیک، نشان دادند که تغییرات مشاهده‌شده در صفات، تنوع درون گونه هستند و تمام نمونه‌ها به *A. downingi* تعلق دارد. مطالعات مولکولی نیز نتایج فوق را تایید نموده، حاکی از آن است که *A. clathrata* در شمال و شمال‌غرب خلیج فارس وجود ندارد. بنابراین با توجه به شواهد مورفولوژیک، مورفومتریکی و مولکولی، *A. clathrata* در شمال و شمال‌غرب خلیج فارس وجود نداشته، گونه‌ای که در منطقه به‌عنوان *A. clathrata* معرفی می‌گردد، در واقع تنوع درون گونه‌ای و متعلق به فرم دیگری از *A. downingi* است.

واژه‌های کلیدی: *Acropora downingi*، تنوع درون‌گونه‌ای، مرجان‌های شاخ‌گوزنی، جزایر مرجانی، ریزماهواره.

*نویسنده مسوول، پست الکترونیک: irandoe_rahmani@yahoo.com

۱. مقدمه

خلیج فارس به دلیل موقعیت مکانی خاص، (اتصال به وسیله یک تنگه به اقیانوس آرام) و شرایط سخت محیطی از جمله شوری بالا، نوسانات شدید دما و آلودگی (Coles, 2003; Riegl and Purkis 2012)، دارای مرجان های کمتری نسبت به اقیانوس هند است (Coles, 2003).

در میان مرجان های موجود در خلیج فارس، جنس *Acropora* Oken, 1815 با داشتن تنوع بسیار، غالب بودن و آبنسنگ ساز بودن اهمیت ویژه ای دارد. تغییرپذیری (Plasticity) بالای مرجان ها (Todd, 2008) به ویژه گونه های جنس *Acropora* در پاسخ به شرایط محیطی (Patton, 1994)، همواره تاکسونومی آنها را با چالش فراوان روبه رو کرده است. تفاوت بسیار در تخمین تنوع گونه های مرجان ها، شاهدهی بر این ادعا است. گونه های جنس *Acropora* ساکن در خلیج فارس نیز از این قاعده جدا نیستند. در میان بیش از ۱۲۰ گونه *Acropora* توصیف شده در جهان (Wallace and Rosen, 2006)، ۱۰ گونه ساکن شمال خلیج فارس هستند (Rahmani and Rahmian, 2013).

(Carpenter et al., Hodgson and Carpenter (1995) و (Riegl and Fadlallah et al. (1992) ال. (1997) را به عنوان گونه غالب از خلیج فارس و (Shinn (1976) از جزیره خارک معرفی کردند. (Wallace (1999) معتقد است گونه معرفی شده فوق (Wallace, 1999) *A. downingi* بوده و اندمیک خلیج فارس و دریای سرخ است. این در حالی است که برخی محققین از جمله (Maghsoudlou (2008) و (Fatemi and Shokri (2003) پراکنش هر دو گونه را از شمال و (Abdel-Moati (2007) از جنوب خلیج فارس گزارش کرده اند. با توجه به تناقض های مذکور، تاکنون بررسی تاکسونومیکی دو گونه یا

فرم فوق صورت نگرفته و به نظر می رسد انجام مطالعات سیستماتیکی مشتمل بر بررسی های مورفولوژیکی و ژنتیکی، در رفع تناقضات مذکور ضروری باشد.

۲. مواد و روش ها

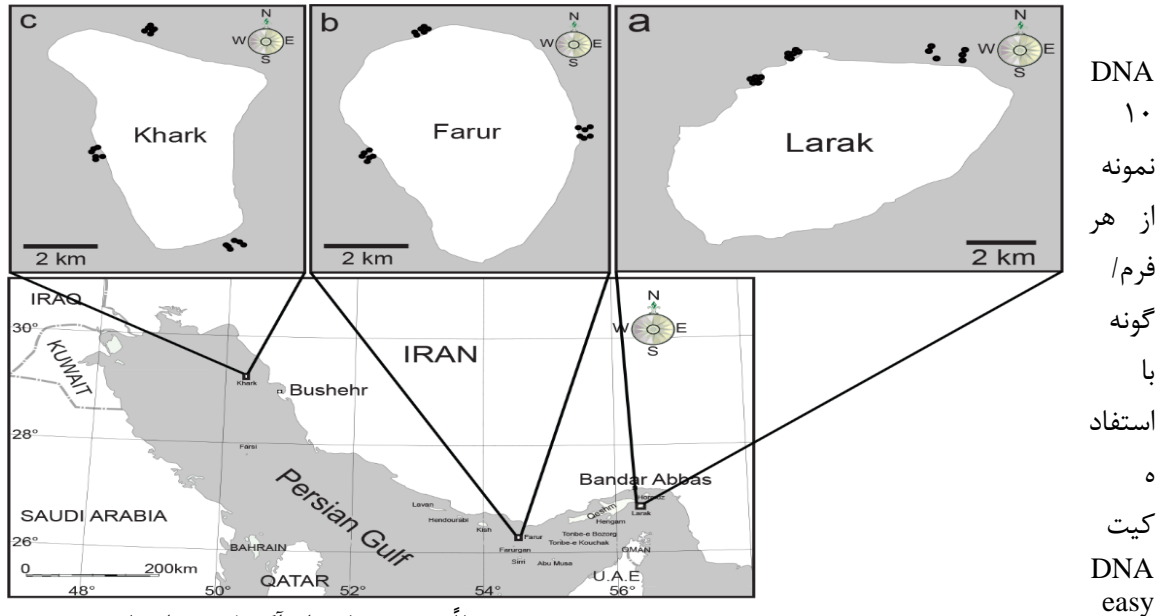
به منظور مطالعه اعتبار وجودی گونه مورد بحث، از سه ایستگاه واقع در سه جزایر لارک (26° 53' 07.8" N, 56° 23' 59.0" E)، فارور (26° 17' 44.1" N, 54° 32' 22.4" E) و خارک (29° 16' 34.4" N, 50° 18' 31.7" E) به ترتیب ۲۰، ۲۴ و ۳۰ نمونه از ۷۴ کلنی، مربوط به دو فرم *A. downingi* یا دو گونه *A. clathrata* و *A. downingi* به تعداد برابر از اعماق ۳ الی ۱۲ متر جمع آوری شد (شکل ۱). چهار شاخه از هر کلنی (حدود ۱۵-۱۰ سانتی متر) که کمتر از ۲٪ یک کلنی را تشکیل می داد، برداشت شد. نمونه ها در هیپوکلرید سدیم ۵ ppt سفید و برای بررسی دقیق به آزمایشگاه منتقل گشت. از هر کلنی نمونه هایی جهت مطالعات مولکولی جمع آوری و در اتانول ۹۶٪ (v/w) ذخیره گردید.

کلیه نمونه های جمع آوری شده به وسیله لوپ و میکروسکوپ الکترونی ارزیابی و ۱۱ صفت اندازه ای، که پیش تر توسط (Wolstenholme et al. (2003) برای مطالعه گروه گونه ای *Acropora humilis* استفاده شده بود، مورد اندازه گیری و تحلیل واقع گشتند. برخی اندازه گیری ها با ۲ تا ۳ بار تکرار بروی یک شاخه انجام گرفت. از تحلیل های تک متغیره (Univariate analysis) و چند متغیره (Multivariate analysis) تجزیه به مولفه های اصلی (Principal Component Analysis) و تحلیل تشخیصی (Discriminant Analysis) جهت آنالیز اطلاعات استفاده گردید. برای انجام تحلیل های مذکور از نرم افزار SPSS 22 استفاده شد.

با توجه به تغییرپذیری (plasticity) بالای جنس *Acropora* در خلیج فارس (Rahmani and) از مارکرهای مولکولی نیز استفاده شد. به منظور حصول نتیجه دقیق تر (Rahimian, 2013)،

با توجه به تغییرپذیری (plasticity) بالای جنس *Acropora* در خلیج فارس (Rahmani and) از مارکرهای مولکولی نیز استفاده شد.

شکل ۱. موقعیت مکانهای نمونه برداری



صرفاً بر روی ژل پلی آکرلامید ارزیابی شدند (جدول ۱).

غلظت مواد و برنامه PCR جهت تکثیر قطعات در حجم ۲۵ میکرولیتر، به ترتیب طبق جداول ۲ و ۳ اعمال شدند. به منظور بررسی کمیت و کیفیت محصول PCR قطعات ریزماهوره ای، به ترتیب از ژل آگارز ۳ درصد با رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید و ژل پلی آکرلامید ۱۲ درصد با رنگ آمیزی نیترات نقره استفاده شد. بررسی کیفی محصول PCR قطعه ناحیه

(QIAGEN, Qiagen Inc., Valencia, CA, USA) و طبق پروتکل آن استخراج شد. پس از بررسی کیفیت DNA استخراج شده، شش جایگاه ریزماهوره بسیار پلی مورفیک و یک جایگاه میتوکندریایی مربوط به ناحیه کنترلی توسط هفت آغازگر ارائه شده در جدول ۱ تکثیر شدند. به دلیل عدم وجود اختلاف بین قطعات بر روی ژل پلی آکرلامید، فقط چهار جایگاه (سه جایگاه ریزماهوره ای و جایگاه ناحیه کنترلی) تعیین توالی گردید و سه جایگاه ریزماهوره ای دیگر،

جدول ۱: آغازگرهای هسته‌ای و میتوکندریایی مورد استفاده جهت تعیین اعتبار وجودی *A. clathrata* شمال خلیج فارس.

جایگاه	توالی تکرار شونده	توالی آغازگر (۵'–۳')	Ta (°C)	اندازه قطعه (bp)	*تعداد ال	اقتباس از
AnCA-51	(TTTG)7	GTTTGTGCAACGGTTGTTG CAACATTTAACGGGAACGAA	۵۹	۱۴۴	۶	Isomura and Hidaka 2007
Amil2_010	TA(TG)11	CAGCGATTAATATTTTAGAAGAGTTTT CGTATAAACAAATTCCATGGTCTG	۵۹	۱۰۰	۱۴	van Oppen et al. 2007
Apam3_166	(AAT)28	TCTACCGCAATTTTCATCA CGCTCTCCTATGTTTCGATTG	۵۹	۹۰	۲۰	Baums et al. 2005
AnH1-8	(AC)6(AG)6	TATTCCGCTAAGGCTCCAGA (AC)6(AG)5	۵۷	۲۱۰	۷	Isomura and Hidaka 2007
AnS2-12	(TC)5(AC)8	GCTGCCAAATGAGAAAGACC (TC)6(AC)5	۵۸	۳۰۰	۵	Isomura and Hidaka 2007
Amil2_008	(CA)9	AGGTTTCTATGGGAACGTCG TGAACCTCAAGTAATTTTGCCAG	۶۱	۸۲	۵	van Oppen et al. 2007
ناحیه کنترلی	-	GGGGAAGAATGGGAAAGATG TAAACCGCCCCACAGTACTT	۵۸	590	-	طراحی شده

* اطلاعات ارائه شده مربوط به ال‌ها، به گونه *A. downingi* تعلق نداشته و داده‌های فوق بر اساس گونه‌های مورد تحقیق توسط نویسندگان مذکور است.

(شکل A_{42} و B_4)، در میان مرجانک‌های شعاعی، شبکه‌ای با خارهای ساده است (شکل A_{52} و B_5). آنالیز تک متغیره صفات مورد بررسی نشان می‌دهد که دو فرم یا دو گونه، تنها در دو صفت قطر در میانه شاخه ($t=3/687$, $p<0/0005$) و میانگین اندازه کالیکس ($t=-2/329$, $p<0/023$) با هم اختلاف معنی‌دار دارند (جدول ۴).

در تحلیل چندمتغیره، آنالیز تجزیه به مولفه‌های اصلی، توزیع همگنی از داده‌ها را نشان می‌دهد (شکل ۳). آنالیز تشخیصی نیز نمایان ساخت که به ترتیب ۶۴/۹٪ نمونه‌های متعلق به *Acropora downingi* و ۷۳/۰٪ نمونه‌های مربوط به فرم دیگر این گونه، یا *A. clathrata* به طور صحیح در گروه خود دسته‌بندی شدند (جدول ۵). Eigenvalue و Wilks' lambda در آنالیز مذکور به ترتیب برابر ۰/۲۶۹ و ۰/۷۸۹ محاسبه شد (جداول ۶ و ۷).

نتایج حاصل از تعیین توالی جایگاه‌های AnCA-51، Adow2_010، Adow3_166 و ناحیه کنترلی نشان داد که هیچ تفاوتی، حتی به اندازه یک نوکلئوتید در جایگاه‌های مذکور وجود ندارد (جداول ۸، ۹، ۱۰ و ۱۱). ارزیابی جایگاه‌های AnH1-8، AnS2-12 و Amil2_008 که صرفاً به وسیله ژل پلی‌آکریل‌آمید صورت گرفت، حاکی از آن بود که باندهای ایجاد شده در یک راستا قرار دارند (شکل ۴).

بروماید صورت گرفت. غلظت مواد و برنامه PCR جهت تکثیر قطعات در حجم ۲۵ میکرولیتر، به ترتیب طبق جداول ۲ و ۳ اعمال شد. به منظور بررسی کمیت و کیفیت محصول PCR قطعات ریزماهواره ای، به ترتیب از ژل آگارز ۳ درصد با رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید و ژل پلی آکریل‌آمید ۱۲ درصد با رنگ آمیزی نیترا نقره استفاده شد. بررسی کیفی محصول PCR قطعه ناحیه کنترلی، روی ژل آگارز ۰/۸ با رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید صورت گرفت.

۳. نتایج

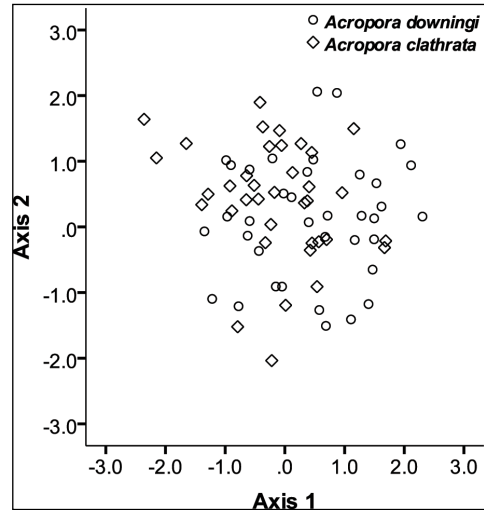
در بررسی مورفولوژیک همان گونه که از شکل ۲ نمایان است، هر دو مجموعه شکلی به استثنای فرم کلنی‌ها (شکل A_{12} و B_1) مشابه هم هستند. در الگوی شاخه‌زایی (branching pattern)، هر دو فرم، کلنی‌های بزرگ میزی شکل (table) را ایجاد می‌کنند که در آن شاخه‌ها در برخی نقاط به یکدیگر جوش خورده‌اند. در کلنی فرم A برخی شاخه‌ها به سمت بالا رشد کرده‌اند، در صورتی که در فرم B تمام شاخه‌ها رشد افقی دارند. شکل شاخه‌ها در هر دو فرم مشابه بوده و به سمت نوک کمی مخروطی هستند (شکل A_{22} و B_2).

مرجانک‌های محوری (axial corallite) در هر دو فرم کوچک بوده، تیغه‌های اولیه (primary septa) در هر دو فرم وجود دارد و تا $1/2R$ می‌رسد (شکل A_{32} و B_3). تیغه‌های ثانویه (secondary septa) وجود نداشته یا کمی رشد کرده‌اند.

مرجانک‌های شعاعی (radial corallite) در هر دو فرم مترکم و استوانه‌ای با دهانه بیضوی هستند که لبه خارجی (outer walls) تیز و به سمت بالا توسعه یافته دارند (شکل A_{22} و B_2).

سنوستئوم (coenosteum) روی دیواره مرجانک‌های شعاعی در هر دو فرم به‌طور مشخص ستیغ‌دار بوده

شکل ۳: نمودار تجزیه به مؤلفه‌های اصلی دو فاکتور نخست صفات ریختی اندازه‌گیری شده *Acropora downingi* و *A. clathrata* یا فرم دیگر *A. downingi*



جدول ۲: غلظت مواد استفاده شده در PCR.

Taq polymerase (U/μl)	dNTPs (mM)	DNA (ng/μl)	Primer R (p. mole)	Primer F (p. mole)	MgCl ₂ (mM)	PCR buffer (x)	مواد آغازگرها
۱/۵	۰/۲	۴	۰/۳	۰/۳	۳	۱	Apam3_166
۱/۵	۰/۲	۴	۰/۳۲	۰/۳۲	۱/۶	۱	AnCA-51
۰/۵	۰/۱۲	۱/۶	۰/۲	۰/۲	۳	۱	Amil2_010
۱	۰/۱۲	۳	۰/۳	۰/۳	۱/۷	۱	AnH1-8
۲	۰/۱۵	۲	۰/۳	۰/۳	۲	۱	AnS2-12
۱	۰/۱۲	۲	۰/۴	۰/۴	۱/۵	۱	Amil2_008
۳/۵	۰/۲	۲	۰/۴	۰/۴	۲	۱	ناحیه کنترلی

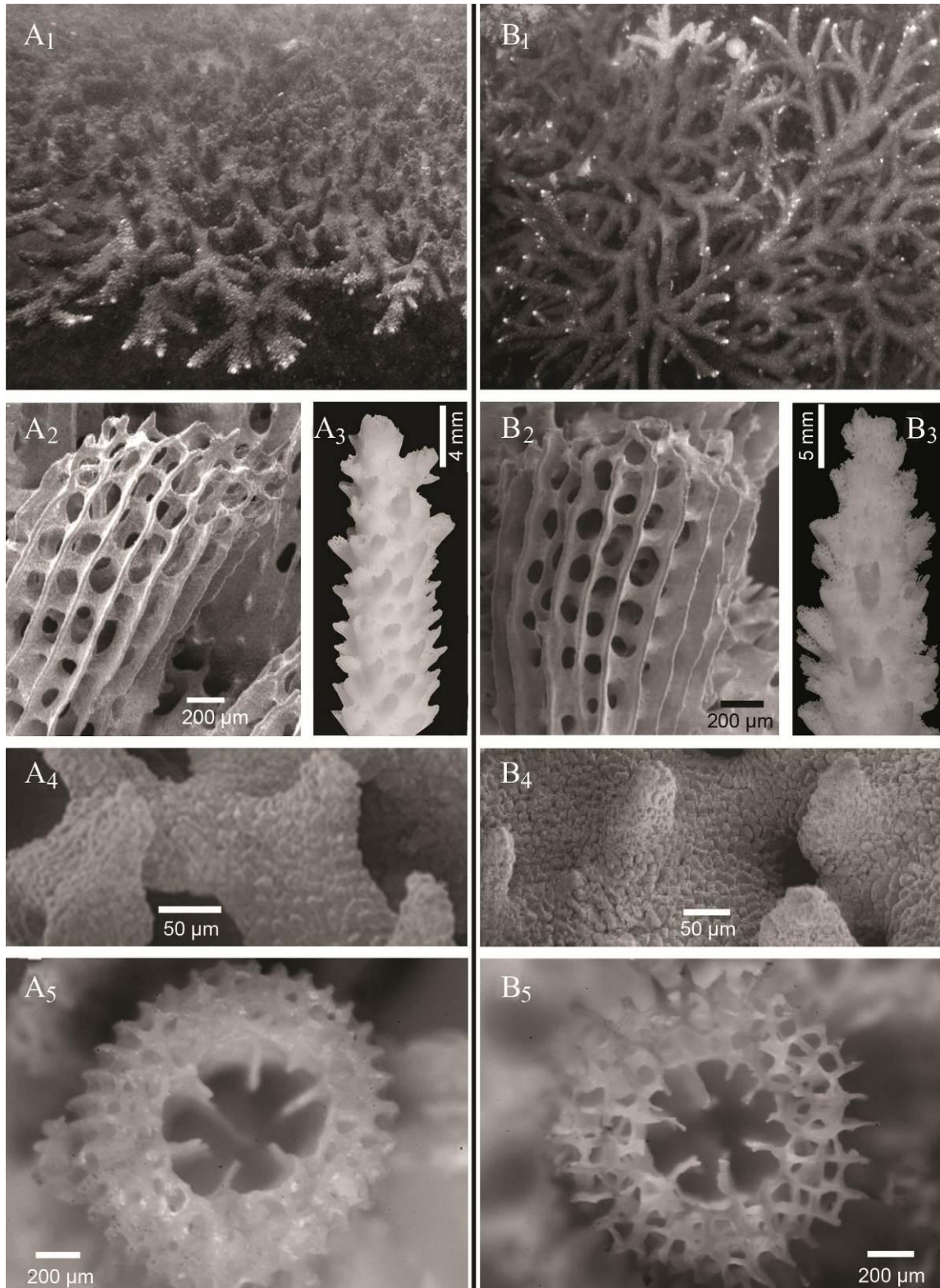
جدول ۳: برنامه‌های PCR استفاده شده جهت تکثیر قطعات

بسط نهایی		بسط اولیه		اتصال پرایمر		وارشته سازی		وارشته سازی اولیه		مرحله
دما (°C)	زمان	دما (°C)	زمان	دما (°C)	زمان	دما (°C)	زمان	دما (°C)	زمان	آغازگر
۷۲	۷'	۷۲	۵۰"	۷۲	۵۵"	۹۵	۱'	۹۵	۵'	Apam3_166
۷۲	۷'	۷۲	۵۰"	۷۲	۵۵"	۹۵	۱'	۹۵	۵'	AnCA-51
۷۲	۱۰'	۷۲	۱'	۷۲	۱'	۹۵	۱'	۹۵	۵'	Amil2_010
۷۲	۵'	۷۲	۴۵"	۷۲	۴۰"	۹۵	۱'	۹۵	۵'	AnH1-8
۷۲	۷'	۷۲	۱'	۷۲	۱'	۹۵	۱'	۹۵	۵'	AnS2-12
۷۲	۵'	۷۲	۵۵"	۷۲	۵۰"	۹۵	۱'	۹۵	۵'	Amil2_008
۷۲	۵'	۷۲	۸۰"	۷۲	۱'	۹۵	۱'	۹۵	۵'	ناحیه کنترلی

جدول ۴: میانگین، انحراف معیار و آنالیز میانگین یازده صفت اندازه‌گیری شده در *Acropora downingi* و فرم دیگر *A. clathrata* یا *A. downingi*

p <	t	<i>A. clathrata</i> (x ± SE) n=32	<i>A. downingi</i> (x ± SE) n=32	صفات	ردیف
۰/۰۵۷	۱/۹۳۶	۴/۹۳ ± ۰/۲۱۵	۵/۶۰ ± ۰/۲۷۵	قطر در پایه شاخه	۱
۰/۰۰۰۵	۳/۶۸۷	۳/۹۹ ± ۰/۱۴۶	۴/۹۶ ± ۰/۲۲۸	قطر در میانه شاخه	۲
۰/۰۹۹	۱/۶۶۹	۳/۲۹ ± ۰/۱۱۶	۳/۵۸ ± ۰/۱۴۳	قطر در ۵ میلی‌متر زیر راس شاخه	۳

۰/۹۲۲	-۰/۰۹۸	$۲۷/۲۸ \pm ۱/۹۳۹$	$۲۶/۴۶ \pm ۱/۶۷۷$	طول راس تا پایه شاخه	۴
۰/۰۲۳	-۲/۳۲۹	$۱/۱۴ \pm ۰/۰۲۸$	$۱/۰۵ \pm ۰/۰۲۴$	میانگین اندازه کالیکس	۵
۰/۱۸۹۰	-۰/۱۳۸	$۰/۵۴ \pm ۰/۰۱۷$	$۰/۵۵ \pm ۰/۰۲۱$	میانگین ضخامت دیواره مرجانک محوری	۶
۰/۳۲۹	۰/۹۸۲	$۰/۲۳ \pm ۰/۰۱۷$	$۰/۲۵ \pm ۰/۰۱۹$	میانگین طول تیغه اولیه مرجانک محوری	۷
۰/۳۶۹	-۰/۹۰۴	$۲/۳۳ \pm ۰/۰۹۰$	$۲/۲۲ \pm ۰/۰۹۷$	طول پروفیل مرجانک شعاعی (طول پایه تا راس مرجانک شعاعی)	۸
۰/۰۵۵	-۱/۹۴۸	$۲/۰۷ \pm ۰/۰۴۷$	$۱/۹۳ \pm ۰/۰۵۶$	حداکثر فاصله عمودی راس مرجانک شعاعی تا شاخه	۹
۰/۱۵۷	۱/۴۳۰	$۱/۲۵ \pm ۰/۰۳۷$	$۱/۳۲ \pm ۰/۰۳۵$	حداکثر فاصله خارجی دیواره داخلی تا خارج دیواره خارجی مرجانک شعاعی	۱۰
۰/۰۹۴	۱/۶۹۷	$۰/۲۹ \pm ۰/۰۱۲$	$۰/۳۲ \pm ۰/۰۱۲$	حداکثر ضخامت دیواره خارجی مرجانک شعاعی	۱۱



شکل ۲: تصویر مربوط به *Acropora downingi* (A) و *A. clathrata* یا فرم دیگر *A. downingi* (B). (A₁, B₁) کلنی زنده؛ (A₂, B₂) نمای میکروسکوپ الکترونی (SEM) سنوستئوم بخشی از یک مرجانک شعاعی؛ (A₃, B₃) بخشی از یک شاخه؛ (A₄, B₄) نمای میکروسکوپ الکترونی (SEM) سنوستئوم بین مرجانک‌های شعاعی؛ (A₅, B₅) نمای فوقانی یک مرجانک محوری.

جدول ۵: جدول گروه‌بندی تحلیل تشخیصی صفات ریختی اندازه‌گیری شده *A. clathrata* و *Acropora downingi* یا فرم دیگر *A. downingi*

	Scientific name	Predicted Group Membership		Total
		<i>A. downingi</i>	<i>A. downingi</i>	
Count	<i>A. downingi</i>	۲۴	۱۳	۳۷
	<i>A. clathrata</i>	۱۰	۲۷	۳۷
Original %	<i>A. downingi</i>	۶۴/۹	۳۵/۱	۱۰۰
	<i>A. clathrata</i>	۲۷	۷۳	۱۰۰

جدول ۶: Eigenvalue و درصد واریانس تحلیل تشخیصی صفات ریختی اندازه‌گیری شده *Acropora downingi* و *A. clathrata* یا فرم دیگر *A. downingi*

Function	Eigenvalue	% of Variance	Cumulative %	Canonical Correlation
۱	۰/۲۶۷	۱۰۰	۱۰۰	۰/۴۵۹

جدول ۷: Wilks' Lambda تحلیل تشخیصی صفات ریختی اندازه‌گیری شده *A. clathrata* و *Acropora downingi* یا فرم دیگر *A. downingi*

Test of Function(s)	Wilks' Lambda	Chi-square	df	Sig.
۱	۰/۷۸۹	۱۶/۰۰۰	۹	۰/۰۶۷

جدول ۸: توالی نوکلئوتیدی جایگاه AnCA-51 در *Acropora downingi*

1	AAAATGATGA	ATTAATGAAT	TGATGCAATG	AATAATTTCA
41	AGTCAAGAAT	AATTTCAAGT	CAAGAAGAGA	GGAACAGGAA
81	CTTAGAAGAG	GTTTGTGTGTT	TGTTTGTGTTG	TTTGTGTTGAA
121	GATATTGTTT	GTTTGGCGGG	GTTT	

جدول ۹: توالی نوکلئوتیدی جایگاه Amil2_010 در *Acropora downingi*

1	GATTGGTGTT	TATGTGTGTG	TGTGAAATAT	TTTCAGACCA
41	TATATTATGA	CTGGTGTFTA	TTTGTGTGTA	AACTATTTTC
81	AGACCATGGA	ATTTGTAAAA		

جدول ۱۰: توالی نوکلئوتیدی جایگاه Apam3_166 در *Acropora downingi*

1	ATGCCTGATA	TACTATTAT	TATTATTATT	ATTATTATTA
41	TAACTATTA	TGAATTATTA	GTGACTCTTT	CTCCAATCGA
81	ACATAGGAGA			

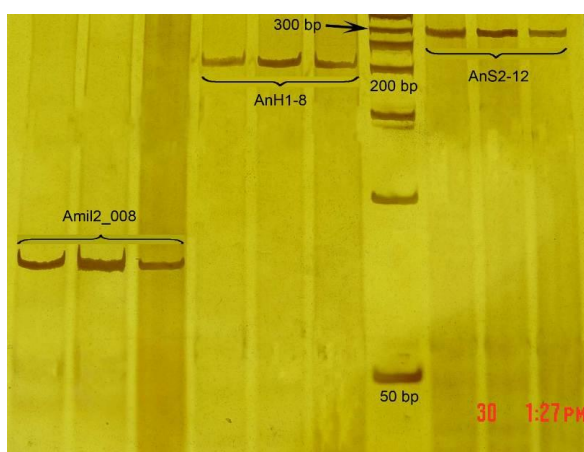
جدول ۱۰: توالی نوکلئوتیدی جایگاه Apam3_166 در *Acropora downingi*

1	ATGCCTGATA	TACTATTAT	TATTATTATT	ATTATTATTA
41	TAACTATTA	TGAATTATTA	GTGACTCTTT	CTCCAATCGA
81	ACATAGGAGA			

جدول ۱۱: توالی نوکلئوتیدی ناحیه کنترلی تکثیر شده توسط آغازگر طراحی شده در *Acropora downingi*

1	TAGGTTCAAT	TGCACCCACA	CGGGGCATAC	CCCGTGAAAA
41	TTCCGGTGTG	TGTTCTCTCA	ACGAAATTTG	CGATATCCGT
81	GAGCAGGACG	CTTCAGGCAA	AAGAGACTGA	GTCATTTTCTC
121	CTGGCTGATA	AAGAGCCTCC	CCACACATTG	AGTTAAAACT
161	ATGCAGAGAA	CCTTGATGTG	ATAGTTCTCC	CGCCACTGAC
201	CCAAAACTTT	GTGCAGAACC	TTGGAACATT	GACCCCCGAG
241	CCCCGAGAGC	CTCCCCACAC	ATTGAGTTAA	AACTATGCAG
281	AGAACCTTGA	TGTGATAGTT	CCCCCGCCAC	TGCCCCCAA
321	CTTTGTGCAG	AACCTTGAA	CATTGACCCC	CGAGCCCCGG
361	AAGAGACACT	TTCAGACATT	GACCCCAAAC	GCCCTGAAGA
401	AATACTCGAC	AATGGATAAT	GGGAGCTTGA	TCCCTCAGAC
441	GTTGACAAAA	AACTCCAAT	AGATTCTATC	GATGTATATT
481	CCCCAAACGC	AAAAGCAAAA	TGCTGTAGGG	CTTCCTGGGC
521	TAAACGTTTG	CCCGCAGGAC	CCCCAAAAAT	ATTTAAACCC
561	TCTAATTCAC	GAGGGATTTC	ATTAAAAAAA	

پوشانی دارند. اگرچه دو فرم یا گونه در مکان‌های نزدیک به هم نیز مشاهده می‌شوند اما این تفاوت در الگوی شاخه‌زایی می‌تواند متاثر از فاکتورهای محیطی مانند کدورت آب باشد (Roy and Smith, 1971; Cornell and Karlson, 2000). عدم درک صحیح از سن کلنی‌ها و میکرواقليم احاطه کننده هر کلنی، قضاوت در این خصوص را بسیار دشوار می‌کند.



شکل ۴: تصویر ژل پلی آکریل آمید، مربوط به محصول PCR آغازگرهای AnH1-8، Amil2_008 و AnS2-12.

۴. بحث و نتیجه گیری

علی‌رغم اینکه فون *Acropora* گزارش شده از خلیج فارس، بسیار کمتر از فون همین جنس از اقیانوس هند است (Coles, 2003; Riegl *et al.*, 2012)، اما همین تعداد اندک که با احتساب گزارش گونه‌های مشکوک *A. valenciennesi* و *A. florida* (Riegl, 1999)، به ۱۵ گونه می‌رسد (Rahmani and Rahimian, 2013)، از نظر تاکسونومیکی هنوز مشکل دارند.

از جمله این قبیل مشکلات می‌توان به اعتبار وجودی خلیج فارس *A. clathrata* (Fatemi and Shokri, 2003; Shinn, 2008) (Maghsoudlou, 2008)، جزیره خارک (Carpenter *et al.*, 1976) و دیگر نقاط خلیج فارس (Fadlallah *et al.*, 1992; Abdel-Moati, 1997) گزارش شده است، اشاره کرد.

در این پژوهش مقایسه بین صفات مورفولوژیک دو فرم/گونه، نشان داد که به غیر از رشد عمودی تعدادی از شاخه‌ها در برخی کلنی‌ها، مابقی صفات میکروسکوپی و ماکروسکوپی در این فرم/گونه کاملاً مشابه بوده، به شدت با صفات *A. downingi* هم-

افزون بر مشابهت ویژگی‌های مورفولوژیک دو فرم/گونه، داده‌های حاصل از مطالعات مورفومتریکی نیز حاکی از شباهت بسیار این دو فرم یا گونه دارد. آنالیز واریانس نشان داد که به جز صفات قطر در میانه شاخه و میانگین اندازه کالیکس، اختلاف معنی‌داری در سایر صفات مشاهده نمی‌شود. با توجه به تغییرپذیری بالای مرجان‌ها (Pigliucci, 2005;) در *Acropora* (Todd, 2008) این اختلاف در دو صفت بسیار ناچیز و قابل اغماض است. این اختلاف به ویژه با یافته‌های رحمانی (۱۳۹۱) که نشان داد تغییرات درون گونه‌ای جمعیت‌های *A. downingi* در امتداد شیب عمق و طول خلیج فارس بسیار مشاهده می‌شود، کم رنگ‌تر می‌شود.

تحلیل‌های چند متغیره نیز نتایج آنالیز واریانس را تایید نموده و حاکی از شباهت بسیار نمونه‌های مورد مطالعه است. اگرچه در آنالیز تشخیصی، درصد قابل قبولی از هر فرم در گروه خود دسته‌بندی می‌شوند و ممکن است این شبیه را ایجاد نماید که صفات تفاوت بسیاری دارند، اما میزان پایین Eigenvalue و میزان بالای Wilks' lambda حکایت از عدم اعتبار دسته‌بندی‌ها دارد. نتایج ژنتیک نیز مانند تحلیل‌های مورفولوژیک و مورفومتریکی، حداقل در جایگاه‌های مورد بررسی، از شباهت کامل بین نمونه‌های حکایت دارد. به نحوی که در توالی ناحیه کنترلی و جایگاه‌های ریزماهواره‌ای تعیین توالی شده، به اندازه یک باز آلی نیز تفاوت مشاهده نمی‌شود؛ در حالی که جایگاه‌های ریزماهواره‌ای اخیر در *A. palmate* (Baums et al., 2005)، *A. millepora* (van Oppen et al., 2007) و *A. nobilis* (Isomura and Hidaka, 2008) به ترتیب با بیست، چهارده و شش ال برای هر جایگاه، بسیار پلی‌مورفیک هستند. بنابراین اگر چه *A. clathrata* به عنوان یک گونه غالب از خلیج فارس گزارش شده است (Abdel-Moati, 2007; Carpenter et al., 1997;) (Fadlallah et al., 1992; Maghsoudlou, 2008; Shinn, 1976)، اما بر اساس ارزیابی‌های انجام شده در این پژوهش، این گونه حداقل در شمال خلیج فارس وجود ندارد. به نظر می‌رسد گونه‌ای که به‌عنوان *A. clathrata* از ناحیه مورد مطالعه گزارش شده است، احتمالاً فرم دیگر *A. downingi* است. نتایج حاصل، گفته‌های Wallace (1999) را که به عدم وجود *A. clathrata* در خلیج فارس معتقد است، را تایید می‌نماید. احتمالاً عدم وجود شاخه‌های عمودی در برخی از کلنی‌ها، تنوع اندازه در مرجانک‌های شعاعی و الگوی تیغه‌ها در مرجانک محوری، موجب شناسایی اشتباه فرم *A. downingi* به‌عنوان *A. clathrata* گردیده است.

با این وجود می‌توان دو گونه مورد بحث را بر اساس برخی صفات، از جمله میزان بالای بهم‌جوش خوردگی شاخه‌ها در *A. clathrata* و شکل مرجانک شعاعی (در *A. clathrata* بیشتر بینی-شکل (nariform) و بینی‌شکل چسبیده (appressed) در *A. downingi* بیشتر لوله‌ای (tubular) با لبه تیز در دیواره خارجی) از یکدیگر متمایز نمود. بیشتر گزارشات *A. clathrata* از شمال و شمال‌غربی خلیج فارس بر اساس شکل کلی کلنی (Maghsoudlou, 2008) یا شکل کلنی و مورفولوژی بخشی از شاخه سفیدشده (Carpenter et al., 1997) می‌باشد. مطالعه دقیق‌تر صفات، حتی شکل‌های ارائه شده در کتاب‌های مذکور به‌عنوان *A. clathrata*، از شباهت بسیار گونه‌های توصیف شده منابع فوق به *A. downingi* حکایت دارد. برای مثال، به نظر می‌رسد شکل‌های *A. clathrata* ارائه شده به‌وسیله Maghsoudlou (2008 p. 53-54) و Carpenter et al. (1997 p. 42) به *A. downingi* تعلق دارد و احتمالاً تنها بر اساس عدم وجود شاخه‌های عمودی شناسایی گردیده‌اند. نکته مهمی که در دو منبع مورد بحث در نظر گرفته نشده، میزان اندک بهم‌جوش خوردگی شاخه‌ها در شکل‌های کلی کلنی‌های ارائه

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری صمیمانه دکتر حسن رحیمیان وابسته به دانشگاه تهران و دکتر C. C. Wallace وابسته به موزه کوئیزلند که بدون کمک‌های فراوان آنها این پژوهش میسر نبود، قدردانی می‌گردد. نویسندگان مراتب تشکر خود را از مدیران کل مراکز تحقیقات زیست محیطی استان‌های هرمزگان و بوشهر و شرکت نفت فلات قاره جهت حمایت در نمونه‌برداری اعلام می‌دارند. از آقایان هاشمی و مهاجران به منظور عکسبرداری میکروسکوپی و ماکروسکوپی و همچنین از حمایت‌های ارزشمند دکتر فاضل، دکتر شیردم، دکتر منتظمی، دکتر شکری، کاپیتان منصور، کاپیتان سروری، کاپیتان حسینی، آقایان نامدار، شکری، معین، طلاب، هادی و شیرزاد سپاسگزاریم.

شده است، که از صفات مشخصه *A. downingi* است. افزون بر آن Carpenter *et al.* (1997 p. 42) علاوه بر کل کلنی، تصویری نزدیک از مرجانک‌های شعاعی لوله‌ای با لبه تیز در دیواره خارجی واضح را نیز به چاپ رسانده است. این ویژگی نیز شناسایی اشتباه *A. downingi* به‌عنوان *A. clathrata* را به اثبات می‌رساند.

با عنایت به تغییرپذیری بالای مرجان‌ها (Pigliucci, 2005; Garland and Kelly, 2006; Todd, 2008) که در پاسخ به شرایط محیطی میکرو و ماکرو اقلیم‌ها شکل می‌گیرد (Foster 1983) و با توجه به شواهد مورفولوژیک، مورفومتريک و ژنتیک پژوهش اخیر، به نظر می‌رسد *A. downingi* در شمال خلیج فارس دو فرم ایجاد می‌نماید که یک فرم دارای شاخه‌های رشد کرده به سمت بالا و فرم دیگر فاقد شاخه‌های مذکور می‌باشد. فرم اخیر عموماً به اشتباه *A. clathrata* معرفی گردیده است.

منابع

- Abdel-Moati, M. A. 2007. Coral reef conservation in Qatar. http://assets.panda.org/downloads/coral_reefs_qatar_mohamed_alaa_abdel_moati.pdf. Accessed 10 May 2011.
- Baums, I. B., Hughes, C. R. and Hellberg, M. E. 2005. Mendelian microsatellite loci for the Caribbean coral *Acropora palmata*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 288: 115-127.
- Brook, G. 1891. Descriptions of new species of *Madrepora* in the collections of the British Museum. Mar. Biol. 51: 381-388.
- Carpenter, K. E., Harrisoh, P. L., Hodgson, G., Alsaffar, A. H. and Alhazeem, S. H. 1997. The corals and coral reef fishes of Kuwait. Kuwait Institute for Scientific Research, Kuwait, P: 166.
- Coles, S. L. 2003. Coral species diversity and environmental factors in the Arabian Gulf and the Gulf of Oman: a comparison to the Indo-pacific region. Atoll Res. Bull. 507: 1-19.
- Cornell, H. V. and Karlson, R. H. 2000. Coral species richness: ecological versus biogeographical influences. Coral Reefs, 19: 37-49.
- Fadlallah, Y. H., Eakin, C. M., Allen, K. W., Rahim, R. A., Reaka-Kudla, M. and Earle, S. A. 1992. Reef coral distribution and reproduction, community structure, and reef health (Qatar, Bahrain, Saudi Arabia, Kuwait). Workshop on the results of the Mt. Mitchell Cruise in the ROPME Sea Area, Kuwait, pp 24.
- Fatemi, M. R. and Shokri, M. R. 2003. Iranian coral reefs status with particular reference to Kish island, Persian Gulf. 26-28 November 2001, Pages 1-12 in D. O. Obura, R. A. Payet and J. Tamelander (eds.). Indian Ocean Regional Workshop, Mozambique.
- Foster, A. B. 1983. The relationship between corallite morphology and colony shape in some massive reef-corals. Coral Reefs, 2: 19-25.
- Garland, T. and Kelly, S. A. 2006. Phenotypic plasticity and experimental evolution. J. Exp. Biol. 209: 2344-2361.
- Hodgson, G. and Carpenter, K. 1995. Scleractinian corals of Kuwait. Pac. Sci. 49(3): 227-246.
- Isomura, N. and Hidaka, M. 2008. Microsatellite loci isolated from the scleractinian coral, *Acropora nobilis*. Mol. Ecol. Resour. 8 (3): 587-589.

- Maghsoudlou, A. 2008. Hard Corals of the Iranian Coastal Waters of the Persian Gulf. Tehran, IRAN: Iranian National Institute for Oceanography.
- Oken, L. 1815. Steinkorallen. Lehrbuch Naturgesch. 3: 59–74.
- Patton, W. K. 1994. Distribution and Ecology of Animals Associated with Branching Corals (*Acropora* Spp.) from the Great Barrier Reef, Australia. Bull. Mar. Sci. 55 (1): 193-211.
- Pigliucci, M. 2005. Evolution of phenotypic plasticity: where are we now? Trends Ecol. Evol. 20: 481-486.
- Rahmani, M. R. 2012. Biosystematic study of genus *Acropora* (Cnidaria: Anthozoa) in the Larak and Khark Islands. PhD thesis.
- Rahmani, M. R. and Rahimian, H. 2013. Preliminary study on *Acropora* (Scleractinia: Astrocoeniina: Acroporidae) of the Persian Gulf, with emphasis on its north and northeastern parts. Turk. J. Zool. 37: 308-320.
- Riegl, B. 1999. Corals in a non-reef setting in the southern Arabian Gulf (Dubai, UAE): fauna and community structure in response to recurring mass mortality. Coral Reefs, 18: 63–73.
- Riegl, B. M. and Purkis, S. J. 2012. Dynamics of gulf coral communities: observations and models from the world's hottest coral sea. In: Riegl B. M. and Purkis, S. J. (eds). Coral reefs of the gulf: adaptation to climatic extremes, Coral Reefs of the World 3, Springer, the Netherlands, pp:71-93.
- Riegl, B. M., Purkis, S. J., Al-Cibahy, A. S., Al-Harhi, S., Grandcourt, E., Al-Sulaiti, Kh, et al. 2012. Coral bleaching and mortality thresholds in the SE gulf: highest in the world. In: Riegl B. M. and Purkis, S. J. (eds). Coral reefs of the gulf: adaptation to climatic extremes, Coral Reefs of the World 3, Springer, the Netherlands, pp:95-105.
- Roy, K. J. and Smith, S. V. 1971. Sedimentation and coral reef development in turbid water: Fanning Lagoon. Pac. Sci. 25: 234-248.
- Shinn, E. A. 1976. Coral reef recovery in Florida and the Persian Gulf. Environ. Geol. 1: 241–254.
- Todd, P. A. 2008. Morphological plasticity in scleractinian corals. Biol. Rev. 83: 315-337.
- van Oppen, M. J. H., Underwood, J. N., Muirhead, A. N. and Peplow, L. 2007. Ten microsatellite loci for the reef-building coral *Acropora millepora* (Cnidaria, Scleractinia) from the Great Barrier Reef, Australia. Mol. Ecol. Notes 7 (3): 436-438.
- Wallace, C. C. 1999. Staghorn corals of the world : a revision of the coral genus *Acropora* (Scleractinia; Astrocoeniina; Acroporidae) worldwide, with emphasis on morphology, phylogeny and biogeography. CSIRO, Victoria, Australia, P: 421.
- Wallace, C. C. and Rosen, B. R. 2006. Diverse staghorn corals (*Acropora*) in high-latitude Eocene assemblages: implications for the evolution of modern diversity patterns of reef corals. Proc. R. Soc. B, 273: 975-982.
- Wolstenholme, J. K., Wallace, C. C. and Chen, C. A. 2003. Species boundaries within the *Acropora humilis* species group (Cnidaria; Scleractinia): a morphological and molecular interpretation of evolution. Coral Reefs, 22: 155–166.

A survey on the presence of *Acropora clathrata* (Brook, 1891) in the north of the Persian Gulf based on morphologic, morphometric, and genetic analyses

Mohammadreza Rahmani*, Mahnaz Ardalan

Department of Environmental Science and Natural Resources, Faculty of Environmental Engineering, University of Environment

Abstracts

Because of the morphological plasticity of corals, especially in *Acropora*, in response to environmental variations, the taxonomical studies of this genus have always been difficult. That was the main reason behind the introduction of ectomorphs as species in many instances. One of these misidentified cases is that of the *Acropora clathrata*, which has been reported from the northern and northeastern parts of the Persian Gulf several times. But the presence of this species in the Persian Gulf has been questioned for many years by researchers. To answer this question once and for all, 74 colonies of both forms of *Acropora downingi*, or the two supposed species, *A. downingi* and *A. clathrata*, were sampled from three islands, namely Larak, Farur and Khark, located along the east–west axis of the Persian Gulf, and studied from both a morphological and molecular point of view. The results of the morphological studies demonstrated that the observed variations in the studied characteristics were indeed intraspecific variations and all of the specimens belonged to the same species, i.e. *A. downingi*. The results were also confirmed by molecular studies, signifying the absence of *A. clathrata* in, at least, the northern and northeastern parts of the Persian Gulf, if not in the Persian Gulf in general. Therefore, it was the other form of *A. downingi* which had been misidentified as *A. clathrata*.

Keywords: *Acropora downingi*, Intraspecific diversity, Staghorn corals, Coral reefs, Microsatellite.

Table 1: Nuclear and mitochondrial primers used for survey on the presence of *Acropora clathrata* of the north of the Persian Gulf.

Table 2: Concentration of PCR components.

Table 3: Thermocycling conditions for DNA fragment amplification.

Table 4: Mean, standard deviation, and eleven morphological characteristics means analysis of *Acropora downingi* and *A. clathrata*/other morph of *A. downingi*.

Table 5: Results of morphological characteristics CDA analysis of *Acropora downingi* and *A. clathrata*/other morph of *A. downingi*.

Table 6: Eigenvalue and variance percentage of morphological characteristics CDA analysis of *Acropora downingi* and *A. clathrata*/other morph of *A. downingi*.

Table 7: Wilks' Lambda of morphological characteristics CDA analysis of *Acropora downingi* and *A. clathrata*/other morph of *A. downingi*.

Table 8: The nucleotide sequence of the AnCA-51 locus of *Acropora downingi*.

Table 9: The nucleotide sequence of the Amil2_010 locus of *Acropora downingi*.

Table 10: The nucleotide sequence of the Apam3_166 locus of *Acropora downingi*.

Figure 1: Sampling site locations.

*Corresponding author, E-mail: irandoe_rahmani@yahoo.com

Figure 2: *Acropora downingi* (A) and *A. clathrata*/other morph of *A. downingi* (B): (A₁, B₁) Live colony; (A₂, B₂) SEM micrograph showing coenosteum on a radial corallite proper; (A₃, B₃) Portion of branch; (A₄, B₄) SEM micrograph showing coenosteum between radial corallites; (A₅, B₅) Top view of axial corallite.

Figure 3: The first two axes of a PCA applied to the character means for *Acropora downingi* and *A. clathrata*/other morph of *A. downingi*.

Figure 4: Polyacrylamide gel of PCR production of Amil2_008, AnH1-8, and AnS2-12 primers.