

## ارتباط تغییرات فصلی و عمق با تنوع کلادهای تک‌سلولی همزیست با مرجان‌های خلیج فارس (بررسی موردی جزیره کیش)

### چکیده

قرارگیری خلیج فارس در مجاورت سرزمین‌های خشک، دمای بالای هوا، نور شدید و شوری زیاد آب، شرایط زیستی سختی را برای اغلب آبزیان و از جمله مرجان‌های ساکن آن به وجود آورده است. آبنسنگ‌های مرجانی از مهم‌ترین و مولدترین اکوسیستم‌های زیستی جهان محسوب می‌شوند که جهت رشد و بقای خود دارای رابطه همزیستی با جلبک‌های گونه زوزانتله هستند. در مواردی، کمیت و کیفیت این همزیستی می‌تواند تحت تأثیر عوامل و شرایط محیطی قرار گیرد تا جایی که گاهی اصل این همزیستی و در مواردی ترکیب گونه زوزانتله همزیست با یک مرجان خاص را تحت تأثیر قرار می‌دهد. مطالعه حاضر تلاش نموده است تا ارتباط میان تغییرات فصلی و عمق آب دریا را با ترکیب و تراکم کلاد جلبک همزیست با دو گونه اصلی مرجان اطراف جزیره کیش (*Porites* و *Acropora*)، مورد بررسی قرار دهد. بدین منظور، نمونه‌برداری‌ها از ایستگاهی واقع در ناحیه شمال غربی جزیره کیش، از دو عمق اصلی پراکنش مرجان یعنی عمق کم (۵ متر) و زیاد (۱۰ متر)، در سوم اسفند ۱۳۹۷ و پانزدهم تیر ۱۳۹۸ انجام پذیرفت. همچنین از روش پی سی آر در زمان واقعی با توانایی تشخیص همزمان ترکیب و تراکم کلادی جلبک همزیست با هر نمونه مرجانی، استفاده شد. نتایج مؤید ثابت بودن ترکیب کلادی جلبک همزیست در هر دو گونه مرجان، در هر دو عمق و در هر دو فصل نمونه‌برداری بود. از سویی کلاد D در تمامی نمونه‌های مورد آزمایش از تراکم کاملاً بالاتری نسبت به دو کلاد دیگر (A و C) برخوردار بود و تراکم این کلاد در مرجان *Acropora* به‌طور معنی‌داری بیشتر از تراکم آن در *Porites* بود. باین‌حال، تراکم کلادها و فراوانی کلاد غالب منطقه (کلاد D) در هر دو گونه به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر فصل و عمق قرار داشت. درحالی‌که در تابستان بالاترین تراکم زوزانتله کلاد D در مرجان *Acropora* و در عمق ۱۰ متر وجود داشت، در زمستان و با افزایش عمق کاهش نسبت کلاد D به سایر کلادها در این‌گونه مشاهده شد. در گونه *Porites* در مقابل با افزایش عمق در زمستان تراکم بالاتری از کلاد D نسبت به سایر کلادها مشاهده شد. در تابستان این روند به نحو معکوسی با کاهش نسبت کلاد D نسبت به سایر کلادها، طی افزایش عمق بروز یافت. در مجموع به نظر می‌رسد باوجود بهره‌مندی هر دو مرجان از ترکیب کلادی یکسان، گونه *Porites* از تنوع کلادی متوازن‌تری نسبت به گونه *Acropora* که کلاد D در آن کاملاً غالب است، برخوردار می‌باشد. عاملی که به نظر می‌رسد قرارگیری بیشتر تراکم کلادهای آن را تحت تأثیر عوامل محیطی توجیه کند.

**واژگان کلیدی:** مرجان‌های آبنسنگ ساز، خلیج فارس، جزیره کیش، زوزانتله.

### مقدمه

نوسانات شدید شوری و دمای آب در خلیج فارس، اکوسیستم دریایی منحصربه‌فردی را برای مرجان‌ها و فرصت بی‌نظیری را برای محققین فراهم ساخته تا با مطالعه و شناخت عوامل اکولوژیک و محیطی حاکم بر آن، به الگویی کاربردی برای حفاظت از آبنسنگ‌های مرجانی و در معرض خطر جهان دست یابند (Burt et al., 2013; Mostafavi et al., 2013). مرجان‌های آبنسنگ ساز خلیج فارس از شاخه نیداریا (Cnidaria)، رده آنتوزوا (Anthozoa) و راسته آبنسنگ ساز (Scleractinia) می‌باشند که غالباً در آب‌های کم‌عمق الیگوتروف مناطق گرمسیری با تابش بالا پراکنش دارند. گسترش

شیرین کاوه<sup>۱</sup>

پرگل قوام مصطفوی<sup>۲\*</sup>

سید علی حسینی نفرشی<sup>۳</sup>

محمدحسن شاه‌حسینی<sup>۴</sup>

۱، ۲. گروه علوم دریایی، دانشکده منابع طبیعی و محیط‌زیست، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۳. گروه بیوتکنولوژی، دانشکده شیمی، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران.

۴. گروه میکروبیولوژی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، شهر قدس، ایران.

کد مقاله: ۱۴۰۰۲۸۶۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۳۱

این مقاله پژوهشی و برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد است.

مرجان‌ها در خلیج‌فارس عمدتاً به عمق ۱۵ متر محدود شده و در اعماق بیشتر به دلیل وجود کدورت و فقدان نور کافی، حضور مرجان‌ها بسیار نادر است. بالا بودن نور در مناطق الیگوتروف، به افزایش تولیدات اولیه زوزانتله همزیست با مرجان کمک می‌کند (Muscatine and Porter, 1977). این رابطه همزیستی با جلبک داینوفلاژله، جهت رشد و بقای مرجان ضروری است. جلبک همزیست، بخش عمده‌ای از انرژی موردنیاز مرجان را از طریق فعالیت فتوسنتزی خود تأمین کرده و سهم قابل‌توجهی در توان تولید مواد آلی و تولید کربنات کلسیم در پیکره آبنگ‌های مرجانی دارند (Titlyanov and Titlyanova, 2020). جلبک حدود ۶۰ تا ۸۰ درصد از تولیدات فتوسنتزی خود را به میزبان مرجانی منتقل و ضمن تأمین اکسیژن موردنیاز آن، با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن، نقش حفاظتی در برابر عوامل بیماری‌زا دارد (Davy et al., 2012).

زوزانتله‌های همزیست با مرجان، عمدتاً متعلق به جنس سیمبیودیونیوم (*Symbiodinium*) می‌باشند. این جنس بر مبنای DNA ریپوزومی و کلروپلاستی به ۹ کلاذ فیلوژنیک از A تا I تقسیم شده است (Pochon et al., 2006). ترکیب و تنوع جلبک‌های همزیست روی یک مرجان، اغلب با کارایی‌های فیزیولوژیکی آن‌ها ارتباط دارد که خود متأثر از عوامل محیطی است. به‌عنوان مثال کلاذ D که اغلب توانایی بالاتری در تحمل دمای بالا از خود نشان می‌دهد را می‌توان در آب‌های مناطق گرم و کم‌عمق استوایی در همزیستی با مرجان‌ها یافت (Baker et al., 2004; Oliver and Palumbi, 2011; LaJeunesse et al., 2018). گزارش‌های متعددی نیز در خصوص تحمل گرمایی زیر کلادهای کلاذ C، ارائه شده است (Jones et al., 2008; Sampayo et al., 2008; Tchernov et al., 2004). به نظر می‌رسد سازگاری فیزیولوژیکی مناسبی میان کلاذ D به‌عنوان یک کلاذ غالب با عوامل محیطی خلیج‌فارس ایجاد شده است (Baker et al., 2004; Mostafavi et al., 2007). در این رابطه به‌موازات اخذ سازگاری‌هایی عمومی در سطح تغییر بیان ژن (Moghaddam et al., 2021) در زوزانتله، حضور یک سیستم فتوسنتزی مقاوم‌تر در برابر حرارت‌های زیاد در کلاذ D نسبت به سایر کلادها، گزارش شده است (Coles, 2003; Little et al., 2004). موضوعی که شاید زمینه غالب بودن این کلاذ را در خلیج‌فارس، در حضور فاکتورهای نامساعد محیطی تا حدی توجیه نماید.

رابطه میان تنوع مرجان‌ها و عوامل محیطی، همواره موردتوجه محققین قرار داشته است (Nybakken, 2001). به‌عنوان مثال داگلاس در ۲۰۰۳ نشان داد که اختلاف دمای شدید آب در بین فصول (پایین‌تر از ۹ درجه سانتی‌گراد در زمستان و بالاتر ۹ درجه سانتی‌گراد در تابستان) از جمله عوامل مهم کاهش گونه‌های مرجانی است (Douglas, 2003). به نظر می‌رسد دو عامل نور و حرارت و شیب آن‌ها، نقش اصلی و اساسی را در ساختار جوامع مرجانی ایفا می‌کنند (Kahng et al., 2019). از سویی حساسیت زوزانتله همزیست با مرجان به تغییر شرایط محیطی زیستگاه از جمله دما، شدت نور، اسیدیته و میزان کدورت آب، موضوع کاوش‌های چندی واقع شده است (Shahhosseiny et al., 2011; Ward et al., 2002; Kahng et al., 2019). کدورت آب با حد پائینی عمق مشاهده انواع زوزانتله مرجان‌ها، ارتباط کاملاً معنی‌داری دارد. کدورت با ایجاد کمبود نور می‌تواند به عامل اولیه محدودکننده موجودات فتوسنتز کننده نظیر زوزانتله‌های همزیست با مرجان در محیط‌های آبی بدل شود (Kirk, 1994). اسیدیته آب نیز می‌تواند فعالیت زوزانتله را تحت تأثیر قرار دهد. چنانکه مطالعات قبلی نشان داده‌اند که نسبت کلسیفیکاسیون به فتوسنتز خالص با اسیدی شدن اقیانوس‌ها کاهش می‌یابد (Chauvin et al., 2011). مشخص گردیده که تغییرات نوری ناشی از تغییر عمق و فصل، روی تراکم زوزانتله، غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی و کارایی فتوسنتز موجود، مؤثر است (Kühl et al., 1995; Lesser et al., 2010). در تعیین کیفیت پراکنش مرجانی می‌دانند (Smith et al., 2017). Cohen و Dubinsky (۲۰۱۵) به کسب سازگاری‌های فیزیولوژیکی در رابطه میان مرجان و زوزانتله همزیست آن در اعماق مختلف زیستگاه اشاره دارد و همچون Achituv (۱۹۹۰)، آن را متأثر از شدت اشعه دریافتی در هر یک از اعماق می‌داند (Achituv and Dubinsky, 1990; Cohen and Dubinsky, 2015). کاهش میزان نور دریافتی در زیستگاه‌های عمیق که تابع هر دو عامل فصل و عمق است این احتمال را که ساکنان این مناطق سازگاری فیزیولوژیکی ویژه‌ای را کسب نموده‌اند که موجودات همتای‌شان در مناطق کم‌عمق فاقد آن هستند تقویت می‌کند (Kahng et al., 2019).

در نهایت تغییر در تراکم زوزانتله که خود تابعی از شرایط محیطی زیستگاه است، می‌تواند بر فیزیولوژی مرجان و پاسخ آن اثر گذارد (Yuyama et al., 2012).

امروزه همزیستی زوزانتله و مرجان در معرض خطر ناشی از فعالیت‌های بشری و تغییرات آب‌وهوای جهانی قرار گرفته است (Xu et al., 2020). بدیهی است که شناخت بیشتر شرایط اکولوژیک و محیطی مؤثر بر این همزیستی، به‌خصوص در زیستگاه‌هایی با شرایط محیطی سخت، زمینه حفاظت بهتر از مرجان‌ها را فراهم می‌نماید. به همین منظور در حال حاضر، تحقیقات وسیعی بر روی مرجان‌های ساکن محیط‌های با درجه حرارت بالا و عمدتاً در مناطق استوایی، در جریان است (Camp et al., 2018).

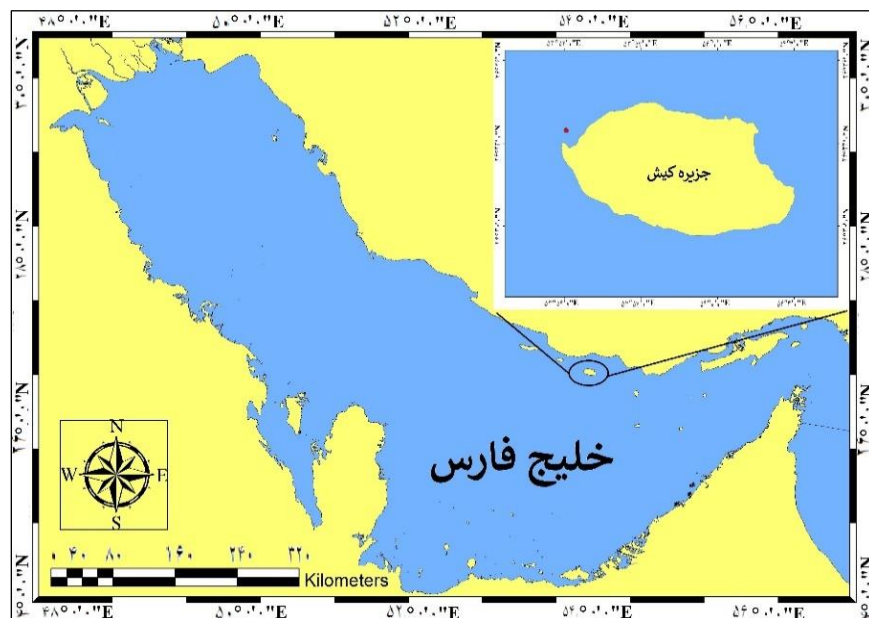
در این مطالعه تلاش شد تا با مطالعه ارتباط میان تغییرات فصل و عمق با نوع و تراکم کلاد همزیست با دو گونه مرجان *Acropora* و *Porites* به‌عنوان مهم‌ترین سازندگان آبنگ در خلیج فارس و اطراف جزیره کیش (Sheppard et al., 1992)، به شناخت بیشتر از رفتار و سازوکارهای دخیل در انطباق مرجان‌ها با زیست‌بوم سخت خلیج فارس دست‌یابیم. یافته‌های بیشتر در این زمینه می‌تواند به ارائه الگویی مناسب برای حفاظت از اکوسیستم‌های در معرض خطر این جاندار در سراسر جهان کمک نماید.

#### مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری پس از یک دوره غواصی و بررسی فراوانی مرجان‌های آبنگ ساز در اطراف جزیره کیش، از ایستگاهی با تراکم بالا و استقرار نزدیک به هم هر دو گونه مرجان مورد تحقیق، واقع در ناحیه شمال غربی جزیره (مختصات جغرافیایی طول ۵۳ درجه و ۵۲ دقیقه و ۹۵ تا ۹۸ ثانیه شرقی (۵۲' ۵۳" E) و عرض ۲۶ درجه و ۳۳ دقیقه و ۳۲ تا ۳۳ ثانیه شمالی (۳۳' ۳۲" N) طی ماه‌های اسفند ۱۳۹۷ (March) و تیر (July) ۱۳۹۸ انجام شد. نمونه‌ها از دو عمق اصلی پراکنش مرجان یعنی عمق کم (۵±۱ متر) و عمق زیاد (۱۰±۱ متر) و از دو گونه مرجانی *Porites sp.* و *Acropora sp.* (شکل ۱).

برای نمونه‌برداری ابتدا با استفاده از غواصی کمیت و پراکنش مرجان‌های منطقه مورد بررسی قرار گرفت. در ادامه و پس از یافتن منطقه‌ای با پوشش حداکثری، برداشت نمونه‌ها به کمک ابزار قلم و چکش جهت شکستن مرجان‌های آهکی انجام شد (شکل ۲). گونه‌های مرجانی مورد مطالعه طبق مختصات ذکر شده در بالا جمع‌آوری و پس از انتقال روی یخ، به آزمایشگاه منتقل، درون تانک نیتروژن مایع ذخیره و با استفاده از کلیدهای معتبر شناسایی از یکدیگر تفکیک شدند (Veron, 1995). تعدادی از نمونه‌های مرجانی نیز پس از شناسایی در بافر دی متیل سولفوکساید ۲۰٪ (DMSO) اشباع‌شده با NaCl و pH برابر ۸، ذخیره‌سازی شدند. در مورد هرگونه، ۴ کلنی جداگانه و از هر کلنی به تعداد ۳ تکرار نمونه‌برداری صورت گرفت.

ارتباط تغییرات فصلی و عمق با تنوع کلادهای تکسلولی همزیست با مرجان‌های خلیج فارس (بررسی موردی جزیره کیش) / کاوه و همکاران



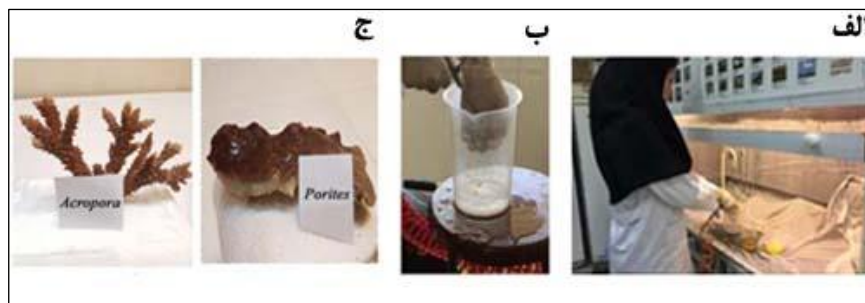
شکل ۱: موقعیت ایستگاه نمونه‌برداری در محدوده جزیره کیش و خلیج فارس.



شکل ۲: نمونه‌برداری از طریق غواصی با کیسول و جداسازی نمونه‌ها با ابزار قلم و چکش در عمق‌های کم ( $1 \pm 5$  متر) و زیاد ( $1 \pm 10$  متر) از دو گونه مرجان *Porites sp.* و *Acropora sp.* از ایستگاه نمونه‌برداری در اطراف جزیره کیش- خلیج فارس طی ماه‌های اسفند ۱۳۹۷ و تیر ۱۳۹۸.

شفافیت آب با دیسک سچی و از روی بررسی حداکثر عمقی که دیسک در آب قابل‌رویت و وضوح بود، اندازه‌گیری شد. در ادامه وضعیت دمای آب و میزان کل مواد جامد محلول یا (Total Dissolved Solids) TDS آن با استفاده از دستگاه هدایت سنج الکتریکی (Jenway, Model 4510- انگلستان) و pH متر (Jenway, Model 3520- انگلستان) در محل ایستگاه نمونه‌برداری در فصول تابستان و زمستان و در اعماق مورد نمونه‌برداری مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت.

برای جداسازی زوزانتله‌های موجود در هر نمونه، از دستگاه ویژه شستشو با هوا (Air Brush) که دارای یک پمپ فشار شکن بود، استفاده شد. نمونه‌ها با بافر DNAB حاوی ۵۰ میلی مولار EDTA و ۰/۴ میلی مولار NaCl شستشو داده شد. سپس توده‌های لزج زوزانتله در لوله‌های فالكون ۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد و در درجه حرارت  $20^{\circ}\text{C}$  - نگهداری شدند (شکل ۳. الف تا ج).



شکل ۳: مراحل جداسازی (الف)، شستشو زوزانتله به روش ایبراش (ب) و جمع‌آوری توده لزج زوزانتله (ج) از دو گونه مرجانی *Porites sp.* و *Acropora sp.* گرفته‌شده از ایستگاه نمونه‌برداری در اطراف جزیره کیش- خلیج فارس.

DNA ژنومی کلیه نمونه‌ها با استفاده از روش (Baker et al., 1997) استخراج گردید. بدین منظور، به رسوب حاصل از سانتریفیوژ نمونه‌ها، ۵۰۰ میکرو لیتر مخلوط DNA Buffer و سدیم‌دودسیل‌سولفات (Sodium-Dodecyl-Sulfate) (با غلظت ۱٪) افزوده شد. نمونه‌ها ورتکس و جهت تخریب کامل دیواره سلولی برای مدت ۱/۵ ساعت در معرض حرارت  $65^{\circ}\text{C}$  در دستگاه حمام آب گرم (بن ماری) قرار گرفتند. به ۲۰۰ میکرو لیتر از هر نمونه ۵ میکرو لیتر پروتیناز K با غلظت  $20\text{ mg/ml}$  اضافه شد و نمونه‌ها برای ۲ ساعت در حمام آب گرم تحت حرارت  $55^{\circ}\text{C}$  انکوبه شدند. پس از خنک شدن، مقدار ۴۱۵ میکرو لیتر بافر ستیل تری متیل آمونیوم بروماید (Cetyltrimethylammonium-Bromide) به هر یک از نمونه‌ها اضافه گردید و برای ۱/۵ ساعت دیگر در حمام آب گرم تحت دمای  $65^{\circ}\text{C}$  قرار گرفت و پس از سرد شدن  $620$  میکرو لیتر کلروفرم به آن‌ها اضافه گردید. به محلول روپی حاصل از سانتریفیوژ (۱۵ دقیقه با سرعت  $12000\text{ rpm}$ ) یک میلی‌لیتر اتانل مطلق سرد اضافه شد. پس از حذف الکل، به رسوب خشک‌شده DNA، ۱۰۰ میکرو لیتر اسات سدیم  $0/3$  مولار همراه با ۲۰۰ میکرو لیتر اتانل مطلق سرد اضافه و برای ۳ ساعت در دمای  $20^{\circ}\text{C}$  - انکوبه و پس‌از آن دو بار با اتانل ۷۰ درصد شست‌وشو داده شدند. در انتها به رسوب خشک DNA تخلیص شده ۵۰ میکرو لیتر آب دی‌یونیزه اضافه و در دمای  $40^{\circ}\text{C}$  ذخیره شدند. بررسی کیفیت DNA استخراجی به روش الکتروفورز روی ژل آگارز ۱ درصد (W/V) و بررسی کمی آن به روش طیف‌سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر صورت پذیرفت. با این روش علاوه بر تعیین غلظت DNA در هر نمونه، یکبار دیگر کیفیت DNA ی استخراجی مورد ارزیابی قرار گرفت.

کلادهای اصلی زوزانتله شامل چهار کلاد A (*Symbiodinium*)، B (*Breviolum*)، C (*Cladocopium*) و D (*Durusdinium*) می‌باشد. برای تشخیص، شناسایی و کمیت‌یابی هر یک از این چهار کلاد اصلی، از روش PCR کمی و تکنیک Real-time PCR استفاده شد. بدین منظور برای کلاد A، از آغازگرهای اختصاصی که نواحی ITS-1 و ITS-2 و  $5/8\text{S}$  (ITS1- 5.8S- ITS2) (Target the internal transcribed spacer) را هدف قرار می‌دهند و برای کلادهای C، B و D از آغازگرهایی که ناحیه ۲ زیر واحد بزرگ  $28\text{S}$  (Large sub-unit) (LSU, 28S) را هدف قرار می‌دهند (جدول ۱)، استفاده شد (Correa et al., 2009). به‌منظور بررسی صحت عملکرد آغازگرهای ساخته‌شده، شیب و درصد کارایی پرایمرها مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین برای بررسی نتیجه واکنش زنجیره‌ای پلیمرز به صورت دیداری، ۱۰ میکرو لیتر از محصول پی‌سی‌آر در ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز گردید و حضور و عدم حضور باند با استفاده از دستگاه ژل داگ و تحت تشعشع UV بررسی شد.

ارتباط تغییرات فصلی و عمق با تنوع کلادهای تکسلولی همزیست با مرجان‌های خلیج فارس (بررسی موردی جزیره کیش) / کاوه و همکاران

**جدول ۱: مشخصات و توالی آغازگرهای مورد استفاده برای شناسایی نواحی منتخب اختصاصی در ژن‌های ITS1- (ITS2- 5.8S) در کلاد A و LSU, 28S در کلادهای B, C و D. اقتباس از (Correa et al., 2009).**

کلاد	توالی آغازگر رفت (Forward)	توالی آغازگر برگشت (Reverse)	شیب (Slope)	درصد کارایی
A	5 -CCTCTTGGACCTTCCACAAC-3	5 -GCATGCAGCAACTGCTC-3	۳/۲۰	۱۰۵
B	5 -GTCTTTGTGAGCCTTGAGC -3	-GCACACTAACAAGTGTACCATG -3 5	۳/۲۹	۱۰۱
C	5 -CTTGAAATCGCTGAAAGGGA-3	5 -CTATTCACGCTTAAGCACACA-3	۳/۳۲	۱۰۰
D	5 -GCCGTGTACGGTGCTCGCTCTCAA-3	5 -GGCCACTCGCAAATGGACAGC-3	۳/۲۶	۱۰۳

برای انجام Real time PCR از مخلوط آماده واکنش سایبرگرین شرکت Thermo Scientific™ و دستگاه ترموسایکر (- Rotor-Gene Q - SSI BIO آمریکا) استفاده شد. ترکیب واکنش مورد استفاده در لوله‌های استریپ ۰/۲ میلی‌لیتر RT-PCR در جدول ۲ آورده شده و برنامه دمایی دستگاه مطابق جدول ۳ تنظیم گردید.

**جدول ۲: مواد مورد نیاز جهت واکنش Real Time PCR تعیین اختصاصیت آغازگرها.**

اجزاء واکنش	حجم در واکنش (میکرو لیتر)	غلظت نهایی
SYBR® Green RT-PCR*۲X	۱۲/۵	۱ X
آغازگر مستقیم	۰/۵	۰/۱ میکرومولار
آغازگر معکوس	۰/۵	۰/۱ میکرومولار
DNA نمونه شاهد	متغیر	۰/۲۵، ۰/۵، ۱/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵ نانوگرم
آب استریل	تا حجم نهایی ۲۵	-

\* دارای مخلوطی از کلیه مواد لازم جهت انجام واکنش PCR (به‌غیر از آغازگرها و DNA) به همراه رنگ SYBR Green I

**جدول ۳: شرایط و چگونگی انجام واکنش Real time PCR در دستگاه ترموسایکر.**

چرخه	نام مرحله	دما (سانتی‌گراد)	زمان	تعداد تکرار چرخه
اول	مرحله باز شدن اولیه رشته (Initial Denaturation)	۹۵	۱۰ دقیقه	۱ دور
دوم	مرحله باز شدن رشته (Denaturation)	۹۴/۵	۱۰ ثانیه	۴۲ دور
	اتصال آغازگرها (Annealing)	۶۰	۳۵ ثانیه	
سوم	طویل شدن رشته نوساخته (Extention)	۷۲	۴۰ ثانیه	۱ دور
	توقف واکنش نمونه‌ها	۷۲	۷ دقیقه	
چهارم	ثبت منحنی ذوب	از ۹۰-۴۰	هر ۰/۲ °C به مدت ۲ ثانیه	

میزان نسبی هر یک از کلادهای زوزانتله در نمونه‌های DNA استخراج شده از روی گونه‌های مختلف مرجان در فصول و اعماق مورد بررسی با استفاده از  $C_t$  (چرخه آستانه) حاصل از نتایج PCR کمی برای هر نمونه محاسبه شد. این مقدار معرف میزان ژنوم هر کلاد (برای مثال کلاد x) نسبت به کلاد دیگر (برای مثال کلاد y) موجود روی هر نمونه مرجان بود که با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$Clade x (DNA)/Clade y (DNA) = 2^{(Ct\ clade\ y - Ct\ clade\ x)}$$

که در آن  $C_t$ ، چرخه آستانه مرتبط با DNA استخراج شده هر نمونه بود (Correa et al., 2009). میزان نسبی تعداد نسخه‌های ژن‌های مربوط به کلادهای مختلف در هر تیمار در سه تکرار انجام و به‌صورت میانگین و SD محاسبه گردید. آنالیزهای آماری و رسم منحنی با استفاده از نرم‌افزار Graphpad prism 6 انجام شد.

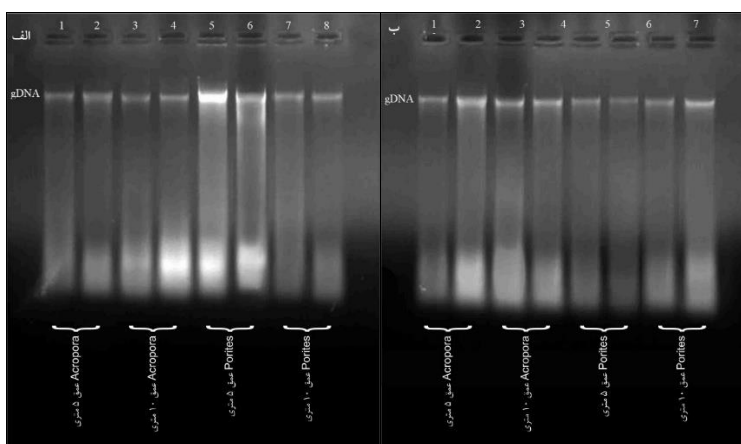
## نتایج

سه پارامتر وضعیت دمای آب، میزان کل مواد جامد محلول (TDS) و pH آب منطقه مورد نمونه‌برداری در دو فصل تابستان و زمستان و در اعماق مورد نمونه‌برداری (۵ و ۱۰ متر) در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که در فصل زمستان دمای آب به‌طور متوسط ۷/۵ درجه سانتی‌گراد کمتر از آن در تابستان است. همچنین تغییرات درجه حرارت میان اعماق مورد مطالعه در هیچ‌یک از فصول (تابستان و زمستان)، در بازه زمانی مورد نمونه‌برداری، از ۲ درجه سانتی‌گراد تجاوز نکرد. از سویی در شرایطی که تغییر عمق در تابستان اثر مشهودی بر هیچ‌یک از پارامترهای میزان کل مواد جامد محلول آب (۳۷۱۰۰) و pH آن نداشته است در زمستان این پارامترها تا حدی تحت تأثیر عمق آب قرار می‌گیرند به‌نحوی که با افزایش عمق از ۵ متر به ۱۰ متر pH به میزان ۰/۳ واحد کاهش و در مقابل میزان کل مواد جامد محلول آب ایستگاه نمونه‌برداری، حدود ۵۰۰۰ واحد افزایش را نشان داد. در مجموع مقادیر هر دو پارامتر میزان کل مواد جامد محلول و pH، در تابستان از سطح بالاتری نسبت به فصل زمستان برخوردار بودند.

جدول ۴: وضعیت دما، مقادیر TDS و pH آب در ایستگاه محل نمونه‌برداری طی دو فصل تابستان و زمستان سال ۱۳۹۷ در دو عمق ۵ و ۱۰ متر.

نمونه	عمق واحد	دمای آب (°C)	میزان کل مواد جامد محلول (TDS) ppm	مقدار pH
تابستان	۵	۳۱	۳۷۱۰۰	۷/۹
	۱۰	۲۹	۳۷۷۰۰	۷/۹
زمستان	۵	۲۳	۳۱۰۵۰	۷/۶
	۱۰	۲۲	۳۵۳۸۰	۷/۳

نتایج بررسی کیفی اسپکتروفتومتری نمونه‌ها نشان داد که کارایی جداسازی DNA از نمونه‌های جمع‌آوری شده در هر دو فصل تابستان و زمستان، با توجه به نسبت OD:۲۶۰/۲۸۰ محصول DNA جداسازی شده از نمونه‌های مرجانی و نزدیک بودن این مقادیر به میانگین حدود ۱/۷ تا ۱/۸ (مقدار بهینه این پارامتر در فرآیند استخراج DNA)، از کیفیت نسبتاً مطلوبی برخوردار بوده و میزان آلودگی نمونه‌های استخراج شده به کربوهیدرات و پروتئین، نسبتاً پائین بوده است. همچنین کیفیت نمونه‌های DNA بارگذاری شده بر روی ژل آگارز ۱٪ (اشکال ۴ الف و ب) نیز در تمامی نمونه‌ها یک باند شاخص مربوط به DNA ژنومی بود که فاقد باندهای اضافی غیر اختصاصی بودند.



شکل ۴: بروز باند حاصل از DNA ژنومی (gDNA) استخراج شده از دو گونه مرجان *Acropora* و *Porites* در اعماق ۵ و ۱۰ متر در فصول تابستان (الف) و زمستان (ب).

نمونه‌های مربوط به هر مرجان در هر عمق با دو تکرار بر روی ژل آگارز ۱٪ بارگذاری گردید.

ارتباط تغییرات فصلی و عمق با تنوع کلادهای تکسلولی همزیست با مرجان‌های خلیج فارس (بررسی موردی جزیره کیش) / کاوه و همکاران

نتایج غربالگری حضور و تعیین میزان هر کلاذ (A، C و D)، در نمونه‌های مرجانی فصول تابستان و زمستان و در اعماق ۵ و ۱۰ متر، با استفاده از منحنی‌های میزان فلورسانس ساطع‌شده از سایبرگرین و نیز منحنی‌های ذوب قطعات تکثیرشده در PCR (تأیید حضور کلاذ در نمونه) تعیین شد. نظر به عدم بروز باند قابل‌شناسایی در استفاده از پرایمر اختصاصی کلاذ B، تعیین کارایی آن امکان‌پذیر نبود. نمونه‌هایی که دارای تعداد بیشتری از یک کلاذ خاص از زوزانتله همزیست بودند، دارای Ct یا چرخه آستانه پایین‌تری بودند. در مقابل در نمونه‌هایی که میزان کمتری از ژنوم یک کلاذ خاص را دارا می‌باشند، احتمالاً دارای چرخه آستانه بالاتری می‌باشند.

بررسی اجمالی و مقدماتی Ct نمونه‌ها نشان داد که Ct حاصل از PCR مربوط به کلاذ D در مقایسه با دیگر کلاذها (C و A) به مراتب پایین‌تر بود که به معنی فراوانی بیشتر این کلاذ روی مرجان‌های موردبررسی بود (جدول ۵). همچنین به نظر می‌رسد در هر دو فصل تابستان و زمستان، Ct به‌دست‌آمده از PCR مربوط به کلاذ D در نمونه‌های مرجانی گونه *Acropora sp.* پایین‌تر از گونه *Porites sp.* بود که می‌تواند نشانه‌ای از بالاتر بودن تراکم کلاذ مذکور روی مرجان *Acropora sp.* باشد. از سویی درحالی‌که در فصل تابستان با افزایش عمق از ۵ متر به ۱۰ متر، Ct به‌دست‌آمده از PCR مربوط به کلاذ D در مرجان‌های گونه *Porites sp.* افزایش‌یافته است (افزایش Ct از حدود ۲۲ به ۲۷/۷)، در زمستان با کاهش Ct، احتمالاً میزان متراکمتری از زوزانتله در بخش‌های عمیق‌تر در همزیستی با جلبک وجود داشت. تغییر عمق در زمستان و تابستان اثر شاخصی بر Ct به‌دست‌آمده از PCR مربوط به کلاذ D در مرجان‌های گونه *Acropora sp.* نشان نداد. Ct های به‌دست‌آمده از PCR مربوط به کلاذهای A و C در هیچ‌کدام از مرجان‌های مورد مطالعه، با تغییر فصل و عمق تفاوت‌هایی به‌شدت آنچه در کلاذ D رخ داد را از خود نشان ندادند.

جدول ۵: میانگین چرخه آستانه (Ct) حاصل از PCR مربوط به کلاذ های A، C و D زوزانتله در مرجان‌های گونه *Acropora sp.* و *Porites sp.* در فصول تابستان و زمستان و در اعماق ۵ و ۱۰ متری.

فصل	مرجان میزبان	عمق (متر)	میانگین چرخه آستانه (Ct) * کلاذ A	میانگین چرخه آستانه (Ct) * کلاذ C	میانگین چرخه آستانه (Ct) * کلاذ D
تابستان	<i>Acropora sp.</i>	۵	۳۲/۴۵ ± ۰/۳۵	۳۳/۳۶ ± ۰/۳۳	۱۷/۸۸ ± ۰/۲۳
		۱۰	۳۳/۳۱ ± ۰/۱۶	۳۳/۷۴ ± ۰/۳۰	۱۷/۵۲ ± ۱/۲۲
	<i>Porites sp.</i>	۵	۳۲/۲۲ ± ۰/۳۵	۳۰/۰۶ ± ۰/۷۴	۲۲/۰۸ ± ۰/۰۸
		۱۰	۳۱/۱۳ ± ۰/۴۸	۲۸/۶۹ ± ۰/۶۴	۲۷/۶۹ ± ۰/۴۸
زمستان	<i>Acropora sp.</i>	۵	۳۲/۲۳ ± ۰/۱۱	۳۳/۴۹ ± ۰/۲۳	۲۰/۲۴ ± ۰/۴۶
		۱۰	۳۱/۹۴ ± ۰/۱۰	۳۳/۱۷ ± ۰/۲۲	۲۰/۴۸ ± ۰/۱۷
	<i>Porites sp.</i>	۵	۳۲/۲۱ ± ۰/۱۰	۳۳/۱۰ ± ۰/۴۴	۲۸/۸۶ ± ۰/۵۵

۲۵/۵۱ ± ۰/۳۵

۳۱/۵۳ ± ۰/۲۵

۳۲/۱۱ ± ۰/۱۴

۱۰

در جدول ۶ نتایج حاصل از مقایسه کمی کلادهای مختلف زوزانتله (A، C و D) نسبت به یکدیگر، در میزبان‌های مرجانی گونه‌های *Acropora* و *Porites* در دو عمق ۵ متر و ۱۰ متر در فصول تابستان و زمستان آورده شده است. نتایج نشان داد که کلاد D در تمامی نمونه‌های مورد آزمایش از تراکم کاملاً بالاتری نسبت به دو کلاد دیگر (A و C) برخوردار است و پس از آن کلادهای C و در آخر کلاد A قرار داشت. بالاتر بودن نسبت کلاد D به کلادهای A و C در هر دو فصل تابستان و زمستان در مرجان گونه *Acropora sp.* نسبت به *Porites sp.* و در هر دو عمق مورد مطالعه مشهود بود. در حالی که در تابستان و با افزایش عمق از ۵ متر به ۱۰ متر در *Acropora sp.* شاهد افزایش نسبت کلاد D نسبت به دو کلاد دیگر (A و C) هستیم، در *Porites sp.* این نسبت به‌طور واضحی کاهش یافته است. در مقابل در زمستان با نتایج کاملاً متفاوتی مواجهیم. به‌طوری‌که در زمستان و با افزایش عمق در *Acropora sp.* شاهد کاهش نسبت کلاد D به دو کلاد دیگر (A و C) هستیم، در *Porites sp.* این نسبت به‌طور واضحی افزایش یافته است. اگرچه شدت تغییرات در نسبت کلاد C/A به نسبت کلادهای D/A و D/C محدودتر است، با این وجود نوعی افزایش نسبی کلاد C به A از عمق ۵ متر به ۱۰ متر در هر دو فصل تابستان و زمستان در مرجان میزبان *Porites sp.* نیز مشاهده گردید. در مجموع مرجان گونه *Acropora sp.* از نسبت‌های بالاتری از کلادهای D/A و D/C در هر دو فصل تابستان و زمستان و در هر دو عمق برخوردار است.

جدول ۶: میانگین فراوانی کلادهای A، C و D زوزانتله نسبت به هم در مرجان‌های گونه *Acropora sp.* و *Porites sp.* در فصول تابستان و زمستان و در اعماق ۵ و ۱۰ متری.

فصل	مرجان میزبان	عمق	کلاد D/A	کلاد D/C	کلاد C/A
تابستان	<i>Acropora sp.</i>	۵ متر	۲۴۲۲۱	۴۵۵۷۶	۰/۵
		۱۰ متر	۵۶۸۳۵	۷۶۲۶۱	۰/۷
	<i>Porites sp.</i>	۵ متر	۱۱۲۷	۲۵۳	۴/۴۵
		۱۰ متر	۱۰/۸	۱	۱۰/۸
زمستان	<i>Acropora sp.</i>	۵ متر	۴۰۷۳	۱۹۴۹۳	۰/۲
		۱۰ متر	۲۸۲۳	۱۳۲۳۱	۰/۲
	<i>Porites sp.</i>	۵ متر	۱۰/۱	۱۸/۹	۰/۵
		۱۰ متر	۹۶/۷	۶۴/۸	۱/۵

### بحث و نتیجه‌گیری

مبتنی بر نتایج حاصل از این پژوهش، حضور سه کلاد A، C و D در همزیستی با مرجان‌های مورد مطالعه (*Acropora* و *Porites*) در آب‌های اطراف جزیره کیش، از تنوع همزیستی ارزشمندی میان زوزانتله‌ها و مرجان‌های ساکن در این ناحیه حکایت دارد. این تنوع کلادی جلبک‌های همزیست، مورد توجه و تأیید محققین دیگر نیز قرار داشته و مشخص گردیده که با وجود محدود بودن تنوع گونه‌های مرجان‌ها در خلیج فارس، تنوع جلبک‌های همزیست (زوزانتله) تابعی از فراوانی تعداد گونه‌های مرجانی آن نیست (Mostafavi et al., 2007؛ Ghavam et al., 2009؛ Fard Yazani et al., 2014). حضور کلاد D در گونه‌های *Pavona*، *Favia pallida*، *Cyphastrea microphthalma*، *Acropora clathrata*، *Platygyra daedalea*، *decussata*، *Psammocora contigua*، *Porites compressa* و حضور کلادهای D و C در گونه *Porites compressa* قبلاً توسط مصطفوی و همکارانش گزارش شده بود (Mostafavi et al., 2007). در مطالعه‌های دیگر Baker و همکاران (۲۰۰۴) در سواحل عربستان حضور سه کلاد A، C و D در همزیستی با مرجان‌های این ناحیه را با وجود تنها ۵۰ گونه مرجان سخت در این سواحل نشان دادند که غنای کلادی قابل توجهی محسوب می‌شود (Baker et al.,).

(2004). وجود کلادهای متنوع در همزیستی با مرجان‌ها، ظرفیت بالاتری را برای استفاده از انرژی نورانی و مواد غذایی، جهت تأمین نیازهای فتوسنتزی میزبان، رشد مرجان و مقاومت در برابر تنش‌های زیستی فراهم می‌کند (Innis et al., 2018). مشخص شده که در این‌گونه همزیستی‌های واجد تنوع کلادی در کلنی‌های منفرد، یک کلاد از نظر عددی غالب و جمعیت‌های دیگر در پس‌زمینه این همزیستی قرار می‌گیرند (Silverstein et al., 2012). چنین سازوکاری، پتانسیل ارزشمندی را برای پاسخ به تغییرات زیست‌محیطی در صورت بروز تنش، از طریق "تغییر در فراوانی نسبی کلادها" ایجاد می‌کند (Jones et al., 2008).

نتایج این تحقیق بیانگر حضور هر سه کلاد شناسایی‌شده (A, C و D) در هر دو فصل نمونه‌برداری (تابستان و زمستان)، است که مؤید ثبات در ترکیب نوع کلادهای همزیست زوزانتله در مرجان‌های مورد مطالعه در فصول سرد و گرم است. آنچه مسلم است، به نظر نمی‌رسد که تغییر فصل‌ها اثری روی ترکیب کلادهای همزیست مرجان‌ها و حتی تغییر غلبه یک زوزانتله خاص داشته باشد. پایداری ترکیب زوزانتله‌های خلیج‌فارس حتی پس از وقوع ال‌نینو بزرگ منطقه طی سال‌های ۱۹۹۶ تا ۱۹۹۸ و رخداد افزایش ناگهانی دما در آگوست ۲۰۰۷ نیز تداوم داشته است (شاهحسینی و همکاران، ۲۰۱۱). این نتیجه در تضاد با یافته‌های Baker و همکارانش در ۲۰۰۴ است. آنجا که تغییر در گونه زوزانتله همزیست با مرجان را تحت تغییرات اقلیمی و از جمله پدیده سفید شدگی مطرح می‌کنند و جایگزینی کلاد مقاوم‌به‌گرمای D را پس از بروز یک حادثه سفید شدگی شدید در همزیستی با مرجان‌ها گزارش می‌کند (Baker et al., 2004). برخی معتقدند که کلاد D درجایی بروز می‌یابد که سایر کلادها، همزیستی در آن شرایط را نمی‌پسندند (شاهحسینی و همکاران، ۲۰۱۱). گزارش Innis و همکارانش در ۲۰۱۸ در جریان مطالعه روی مرجان *capitata Montipora* به این نکته اشاره دارد که در کلنی‌هایی که کلاد C در آن‌ها غالب است کلاد D غایب است اما در کلنی‌هایی که کلاد D در آن‌ها غالب است، کلاد C تقریباً همیشه وجود داشت (Innis et al., 2018). این موضوع ممکن است بیانگر آن باشد که کلاد C به‌طور رقابتی مانع حضور کلاد D است (Baker et al., 2013)، درحالی‌که کلاد D به‌ندرت مانعی برای سایر کلادها است. آنچه مسلم است در این پژوهش شاهد پدیده جایگزینی همزیست تکسلولی (Symbiont shuffling) که می‌تواند امکان مشاهده کلادهای متفاوتی در یک کلنی مرجان را در طول سال فراهم آورد دستکم در بازه زمانی مورد پژوهش و در منطقه مورد نمونه‌برداری، نیستیم. این موضوع می‌تواند ناشی از پائین بودن سطح اثر تغییرات اقلیمی در طی سال و در بین فصول، کمتر از سطحی که طی آن، تغییر شرایط به بیرون راندن یک کلاد از مرجان و جایگزینی آن با سایر کلادها می‌شود، مرتبط باشد. از سویی استقرار کلادهای مقاوم نظیر کلاد D در همزیستی با مرجان‌ها در شرایط طبیعی خلیج‌فارس به سبب نزدیک بودن شرایط زیست‌محیطی این دریا به آستانه تنش و سفید شدگی مرجان‌ها (Paparella et al., 2019)، امکان جایگزینی کلادها را با کلادهای مقاوم‌تر غیرممکن ساخته است. گاهی چنین عدم‌تغییر در نوع کلاد همزیست همراه مرجان در کلنی‌های موجود و جدید را به وقوع نوعی سازش ایجاد یا اقلیمی شدن مرجان‌های ساکن آن ناحیه نسبت می‌دهند (فردیزدانی، ۲۰۱۴).

در مجموع برخی یافته‌ها از این دیدگاه که تغییرات اقلیمی و محیطی تنشی، به تغییر در ترکیب و غلبه کلاد خاصی در یک جمعیت مرجانی می‌انجامد، حمایت می‌کنند (Sampayo et al., 2007; Bongaerts et al., 2015; Ezzat et al., 2017). موضوعی که در زیستگاه‌های جدا افتاده با شرایط زیستی منحصربه‌فرد، به‌وضوح قابل‌مشاهده است (Yorifuji et al., 2021). در مقابل گزارش‌هایی نیز بر بروز تغییرات اندک و حتی عدم بروز تغییر در نوع زوزانتله غالب در همزیستی با یک مرجان خاص دلالت دارد که این ثبات می‌تواند طی سال‌های متمادی باقی بماند. چنانکه مطالعه Thornhill و همکاران طی سال‌های ۱۹۹۸ تا ۲۰۰۴، در جریان بررسی کلادهای همزیست با مرجان‌های *A. cervicornis*، *Acropora palmata*، *Siderastrea siderea*، *Montastrea faveolata*، *M. annularis* و *M. franksi* ساکن آب‌های باهاماس و فلوریدا در آمریکا نیز نشان داد که حتی پس از یک رخداد سفید شدگی طی آن سال‌ها، تغییری در کلاد زوزانتله همزیست با مرجان‌های منطقه رخ نداد (Thornhill et al., 2006). تناقض میان داده‌های Baker و همکارانش (۲۰۰۴) و Thornhill و همکاران (۲۰۰۶) طبق اظهار نظر ایشان می‌تواند ناشی از تفاوت در استراتژی‌های حاکم بر تحقیقات هر یک از آن‌ها باشد. چنانکه عدم نمونه‌برداری‌های متوالی و مستمر در مطالعه Baker و همکارانش امکان رفع این شبهه را که ممکن است علت تغییر به

کلاد D در تغییرات شدید اقلیمی، ناشی از مرگومیر افتراقی کلادها و از بین رفتن بیشتر و موقت سایر کلادها و از جمله کلاد C باشد و نه ناشی از بهبود شرایط اقلیمی و زیستی برای این کلاد، فراهم نمی‌آورد. در مقابل، این اشکال به ادعای Thornhill و همکاران (۲۰۰۶) وارد است که ممکن است شدت تغییرات اقلیمی و النینوی رخ داده در ۱۹۹۸ برای القای تغییر شیفت کلاد در همزیستی با مرجان‌های مورد مطالعه کافی نبوده باشد. اشکالی که Thornhill خود تا حدی به آن اذعان دارد. یک ثبات در ترکیب همزیست میکروبیوم مرجانی در فصول چهارگانه سال، توسط Sharp و همکارانش در ۲۰۱۷ گزارش شده است. آن‌ها ترکیب همزیست میکروبیوم مرجانی در مرجان نواحی معتدله *Astrangia poculata* را مورد بررسی و کنکاش قرار دادند (Sharp et al., 2017). همچنین در پژوهش آن‌ها، افزایش قابل توجه تراکم جلبک همزیست در تابستان نسبت به سایر فصول مورد تأکید قرار گرفته است که در پژوهش حاضر چنین نتیجه‌ای در خصوص همه کلادهای مورد مطالعه و به خصوص کلاد D حاصل گردید (جدول ۶). در کل فراوانی بالاتر زوزانتله در فصل گرم را ممکن است بتوان به تقویت فعالیت سیستم فتوسنتزی زوزانتله و تأمین ترکیبات آلی بیشتر برای مرجان و متقابلاً ارتقای کیفیت همزیستی ارائه شده توسط مرجان، از طریق تغییر در فیزیولوژی میزبان نسبت داد. اثبات اینکه افزایش محسوس‌تر کلاد D در این مطالعه ناشی از مرگومیر سایر کلادها در این فصل و کاهش جمعیت آن‌ها است یا به سازگاری زیستی بیشتر این کلاد در دمای بالاتر آب مربوط است، نیاز به تحقیقات تکمیلی دارد. گاهی کلاد D را یک کلاد فرصت طلب می‌شناسند که تحت شرایط سخت محیطی (نظیر افزایش دما و شدت نور در تابستان) غالب می‌گردد (Stat and Gates, 2011). در مواردی تغییر این همزیستی به رفتاری انگلی، متأثر از تغییر شرایط محیطی نیز گزارش گردیده است (Baker et al., 2018). Shenkar و همکاران (۲۰۰۰) عنوان کردند که تراکم زوزانتله از شهریور تا آبان افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد (Shenkar et al., 2006). نوسانات مقادیر کلروفیل در فصول مختلف و افزایش آن در فصل تابستان که نشان از افزایش همزیستی است، در مرجان‌های ساکن آب‌های اطراف جزیره کیش گزارش شد (بهزادی و همکاران، 1390).

نتایج این تحقیق همچنین بیانگر آن است که تغییر عمق زیستگاه مرجانی (از ۵ متر به ۱۰ متر) در هیچ‌کدام از مرجان‌های مورد بررسی و در هیچ‌یک از فصول مورد مطالعه، اثری روی ترکیب کلادی زوزانتله همزیست با مرجان نداشته است. هر سه کلاد شناسایی شده (A، C و D) در هر دو فصل نمونه‌برداری، در هر دو عمق مورد کنکاش، مشاهده گردیدند. با این وجود تراکم زوزانتله‌ها تحت تأثیر تغییرات محیطی (فصل و عمق) واقع و تظاهراتی متفاوت در گونه‌های مرجان مورد بررسی و در اعماق مختلف (۵ و ۱۰ متر) داشت. به نحوی که بالاترین تراکم حضور جلبک در این تحقیق در نمونه *Acropora sp.* طی فصل تابستان و در عمق ۱۰ متر مشاهده شد. در *Porites sp.*؛ اما در تابستان، در عمق ۵ متری با تراکم بالاتری از همزیست کلاد D با مرجان، مواجه هستیم. افزایش نسبی کلاد C به A از عمق ۵ متر به ۱۰ متر در هر دو فصل تابستان و زمستان در مرجان میزبان *Acropora sp.* نیز از نتایج مشاهده شده در این پژوهش است.

برخلاف نتایج ما برخی مشاهدات مؤید اثر معنی‌دار عمق بر نوع کلاد زوزانتله همزیست غالب در یک‌گونه خاص مرجان است. به عنوان مثال در مرجان سخت *Stephanocoenia intersepta* در حالی که در نمونه‌های مستقر در عمق متوسط حضور کلاد نوع D غالب است، استقرار در عمق کم‌تر با ترتیب با همراهی کلادهای A و C همراه است (Correa et al., 2009). در گونه *Montastraea franksi* در تالیوان کلاد D در عمق زیاد غالب است (Toller et al., 2001). در مطالعه Innis و همکارانش در ۲۰۱۸ در آب‌های هاوایی مشخص گردید که با وجود پراکندگی کلنی‌هایی با کلادهای مختلف غالب در همه اعماق، در کلنی‌های نواحی کم عمق بیشتر کلاد D و در کلنی‌های مناطق عمیق‌تر عمدتاً کلاد C، غالب بودند (Innis et al., 2018). مطالعه Thornhill و همکارانش طی ۶ سال (۱۹۹۸ تا ۲۰۰۴) روی کیفیت همزیستی کلادهای زوزانتله با ۶ گونه مرجان در دو عمق ۱ تا ۴ متر به عنوان ناحیه کم عمق و ۱۲ تا ۱۵ متر به عنوان ناحیه عمیق در باهاماس و فلوریدا نشان داد که مشارکت‌ها در همزیستی نواحی کم عمق نسبت به نواحی عمیق، ناهمگن‌تر بوده و تنوع کمتری از جمعیت‌های همزیست در ناحیه عمیق آب که از میزان نور محیطی کمتری برخوردار است، دیده می‌شود (Thornhill et al., 2006). نتیجه‌ای که در مطالعات LaJeunesse و همکارانش در (۲۰۰۲) به آن اشاره شده است و طی آن به پایین‌تر بودن تنوع و مشارکت همزیست‌ها با مرجان *M. annularis* در آب‌های فلوریدا اشاره و علت آن را تنوع کمتر عوامل محیطی حاکم بر این عمق می‌دانند (La Jeunesse, 2002). با افزایش عمق آب، میزان اشعه UV و نور مرئی ورودی به آب تضعیف می‌شود

(Fitt et al., 2000). در این شرایط انواع سیمیوودینیوم ممکن است متناسب با عمق و نور دریافتی به رژیم نوری خاصی سازگار شوند و در این میان کلاد D به‌طور خاص ممکن است در عمق‌های کم به نور زیاد، مقاوم باشد (Yuyama et al., 2012). تغییر میانگین دمای روزانه نیز روی مرجان‌های مستقر در آب مناطق عمیق‌تر، کمتر است که می‌تواند تنوع زوزانتله‌های همزیست با مرجان را محدود سازد (Fitt et al., 2000). در مطالعه‌ای دیگر به جایگزینی کلاد A در کلنی‌های *Stylophora pistillata* مستقر در نواحی کم‌عمق دریای سرخ، با کلاد C، موجود در کلنی‌های نواحی عمیق‌تر اشاره شده که به خاطر قدرت تثبیت کربن بیشتر کلاد C، در مناطق با تابش پائین تشعشع است (Ezzat et al., 2017). باوجود تمامی این شواهد همان‌طور که اشاره شد تغییر عمق باعث تغییر در نوع کلاد زوزانتله غالب در مرجان‌های مورد مطالعه در این تحقیق نشد. به نظر می‌رسد زندگی در شرایط نزدیک به آستانه تنش در کلادهای زوزانتله همزیست با مرجان‌های خلیج‌فارس و به‌احتمال زیاد وقوع نوعی سازش ایجادی در رابطه همزیستی موجود در طی زمان‌های طولانی، به پایداری معنی‌داری در ترکیب و تنوع زوزانتله همزیست با مرجان‌های ساکن این دریا در فصول و اعماق مختلف انجامیده است که دامنه نوسان در اشکال همزیستی موجود آن‌ها تا حد زیادی محدود می‌کند. از سویی بالا بودن آستانه تحمل محیطی زوزانتله کلاد D نسبت به سایر کلادهای رایج این منطقه، نوعی برتری و غلبه مطلق را برای این کلاد در شرایط سخت اکولوژیکی خلیج‌فارس ایجاد نموده است.

در اینجا تغییر نسبی تراکم جلبک در میان فصول و در اعماق مختلف در میزبان‌های مختلف مرجانی را شاید بتوان به وقوع نوعی اخراج رقابتی (Competitive exclusion) که در آن تفاوت در میزان رشد میان انواع کلادهای مختلف زوزانتله منجر به کاهش، حذف یا جایگزینی گونه‌های با رشد کمتر با گونه‌های دارای رشد سریع‌تر می‌شود (Fitt, 1985) یا اخراج ترجیحی (Preferential expulsion) که ناشی از زایل شدن و مرگ همزیست‌هایی است که به‌طور مستقیم از نظر فیزیولوژیکی تحت تأثیر شرایط محیطی آسیب می‌بینند، دانست.

استقرار مرجان‌های ساکن خلیج‌فارس و مناطق اطراف جزیره کیش در شرایط محیطی و اقلیمی تنش آلود و سخت، سبب گردیده که شرایط زیستی آن‌ها فاصله بسیار اندکی با آستانه تحمل تنش در غالب مرجان‌های جهان را داشته باشد. در این شرایط بهره‌گیری از استراتژی‌های منحصربه‌فرد در روابط همزیستی آن‌ها با زوزانتله همراهشان دور از انتظار نیست. تلاش برای حفظ حداکثری ثبات در ترکیب کلادها، حفظ سازگاری‌های موجود در همزیستی میان زوزانتله و مرجان میزبان و تحمل سطح محدودی از تغییر در تراکم زوزانتله همزیست تا جایی که به ثبات شرایط موجود آسیبی نرساند از خطوط اصلی این استراتژی است. از آنجاکه کلادهای ساکن آب‌های منطقه خود نوعاً از گونه‌های سازگار با شرایط اقلیمی نامساعد می‌باشند و تغییرات نسبتاً وسیعی را تحمل می‌کنند. جایگزینی آن‌ها با کلادهای دیگر در جریان تغییر فصل، دستاوردی برای مرجان محسوب نمی‌شود.

### سپاسگزاری

این مقاله بخشی از نتایج حاصل از یک تحقیق دانشجویی دکتری است که توسط دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران مورد حمایت قرار گرفته است. نگارندگان مقاله، مراتب تشکر صمیمانه خود را از مسئولین و کارشناسان محترم آزمایشگاه‌های دانشگاه آزاد واحد علوم تحقیقات که امکان اجرای این پروژه را فراهم نمودند، ابراز می‌نمایند.

### منابع

بهبادی، س.، درویشی، م.، سالاری‌پور، ع. و مرتضوی، م. ص. و مومنی، م. ۱۳۹۰. مطالعه گونه‌های فرصت‌طلب *Acropora* در جزیره کیش (خلیج‌فارس) و سفید شدگی مرجان. مجله ابریان و شیلات، شماره ۳، صفحات ۵۶-۷۲.

شاه‌حسینی، م. ح.، قوام مصطفوی، پ. گ.، وثوقی، غ. و آزادبادی، س. ۱۳۹۰. حضور کلاد D در زوزانتله مرجان‌های نرم و سخت غالب اطراف جزیره لارک، خلیج‌فارس. فصلنامه علمی پژوهشی دنیای میکروبیها، شماره ۴، صفحات ۴۹-۴۱.

فردیزدانی، م.، قوام مصطفوی، پ. گ. و شاه‌حسینی، م. ح.، ۱۳۹۲. پایش مقایسه‌ای کلاهای غالب زوگرانتله‌های همزیست با مرجان‌های آیسنگ ساز نواحی شرقی جزیره کیش (خلیج‌فارس). مجله تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی-مولکولی، شماره ۴، صفحات ۵۶-۶۰.

- Achituv, Y. and Dubinsky, Z., 1990.** Evolution and zoogeography of coral reefs. *Ecosystems of the world* 25: 1-9.
- Baker, A., Rowan, R. and Knowlton, N., 1997.** Symbiosis ecology of two Caribbean acroporid corals, *Proc 8th Int Coral Reef Symp*, pp. 1295-1300.
- Baker, A. C., Starger, C. J., McClanahan, T. R. and Glynn, P. W., 2004.** Coral reefs: corals' adaptive response to climate change. *Nature*, 430, 741.
- Baker, D. M., Andras, J. P., Jordán-Garza, A. G. and Fogel, M. L., 2013.** Nitrate competition in a coral symbiosis varies with temperature among Symbiodinium clades. *The ISME journal*, 7: 1248-1251.
- Baker, D. M., Freeman, C. J., Wong, J. C., Fogel, M. L. and Knowlton, N., 2018.** Climate change promotes parasitism in a coral symbiosis. *Journal of International Society of Microbial Ecology*, 12: 921-930.
- Bongaerts, P., Carmichael, M., Hay, K. B., Tonk, L., Frade, P. R. and Hoegh-Guldberg, O., 2015.** Prevalent endosymbiont zonation shapes the depth distributions of scleractinian coral species. *Royal Society Open Science*, 2: 140297.
- Burt, J. A., Feary, D. A. and Van Lavieren, H., 2013.** Persian Gulf reefs: an important asset for climate science in urgent need of protection. *Challenger Society for Marine Science*, 20, 49-56.
- Camp, E. F., Schoepf, V., Mumby, P. J., Hardtke, L. A., Rodolfo-Metalpa, R., Smith, D. J. and Suggett, D. J., 2018.** The future of coral reefs subject to rapid climate change: lessons from natural extreme environments. *Marine Science*, 5, 4.
- Chauvin, A., Denis, V. and Cuet, P., 2011.** Is the response of coral calcification to seawater acidification related to nutrient loading? *Coral Reefs*, 30, 911.
- Cohen, I. and Dubinsky, Z., 2015.** Long term photoacclimation responses of the coral *Stylophora pistillata* to reciprocal deep to shallow transplantation: photosynthesis and calcification. *Front. Mar. Sci.*, 2, 45.
- 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 Research Bulletin*.
- Correa, A. M., McDonald, M. D. and Baker, A. C., 2009.** Development of clade-specific Symbiodinium primers for quantitative PCR (qPCR) and their application to detecting clade D symbionts in Caribbean corals. *Marine Biology*, 156: 2403-2411.
- Davy, S. K., Allemand, D. and Weis, V. M., 2012.** Cell biology of cnidarian-dinoflagellate symbiosis. *Microbiology and Molecular Review*, 7: 229-261.
- Douglas, A., 2003.** Coral bleaching—how and why? *Marine Pollution Bulletin*, 46: 385-392.
- Ezzat, L., Fine, M., Maguer, J. F., Grover, R. and Ferrier-Pagès, C., 2017.** Carbon and nitrogen acquisition in shallow and deep holobionts of the scleractinian coral *S. pistillata*. *Frontiers Marine Science*, 4, 102.
- Fard Yazani, M., Ghavam Mostafavi, P. and Shahhosseiny, M. H., 2014.** Comparative monitoring of dominant symbiont clades of Symbiodinium in reef-building corals of eastern Kish Island, Persian Gulf. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*, 4: 56-60.
- Fitt, W., 1985.** Effect of different strains of the zooxanthella *Symbiodinium microadriaticum* on growth and survival of their coelenterate and molluscan hosts, *Proceedings of the 5th International Coral Reef Congress*, pp. 131-136.
- Fitt, W. K., McFarland, F., Warner, M. E., Chilcoat, G. C., 2000.** Seasonal patterns of tissue biomass and densities of symbiotic dinoflagellates in reef corals and relation to coral bleaching. *Limnology Oceanography*, 45: 677-685.
- Ghavam, M. P., Fatemi, S. M. R., Shah, H. M. and Vosoughi, G. H., 2009.** Molecular Identification of Symbiotic Zooxanthellae on Coral Reefs of Kish Island, Persian Gulf. *Marine Biology*, 4: 56-60.
- Innis, T., Cuning, R., Ritson-Williams, R., Wall, C. and Gates, R., 2018.** Coral color and depth drive symbiosis ecology of *Montipora capitata* in Kāne 'ohe Bay, O 'ahu, Hawai 'i. *Coral Reefs*, 37: 423-430.
- Jones, A. M., Berkelmans, R., Van Oppen, M. J., Mieog, J. C. and Sinclair, W., 2008.** A community change in the algal endosymbionts of a scleractinian coral following a natural bleaching event: field evidence of acclimatization. *Proceedings of the Royal Society B: Biology Science*, 275: 1359-1365.

- Kahng, S. E., Akkaynak, D., Shlesinger, T., Hochberg, E. J., Wiedenmann, J. and Tamir, R., Tchernov, D., 2019.** Light, temperature, photosynthesis, heterotrophy, and the lower depth limits of mesophotic coral ecosystems, *Mesophotic Coral Ecosystems*, Springer, pp. 801-828.
- Kirk, J. T., 1994.** Light and photosynthesis in aquatic ecosystems. Cambridge university press.
- Kühl, M., Cohen, Y., Dalsgaard, T., Jørgensen, B.B. and Revsbech, N. P., 1995.** Microenvironment and photosynthesis of zooxanthellae in scleractinian corals studied with microsensors for O<sub>2</sub>, pH and light. *Marine Ecology Progress Series*, 117: 159-172.
- LaJeunesse, T., 2002.** Diversity and community structure of symbiotic dinoflagellates from Caribbean coral reefs. *Marine Biology*, 141: 387-400.
- LaJeunesse, T. C., Parkinson, J. E., Gabrielson, P. W., Jeong, H. J., Reimer, J. D. and Voolstra, C. R., Santos, S.R., 2018.** Systematic revision of Symbiodiniaceae highlights the antiquity and diversity of coral endosymbionts. *Current Biology*, 28: 2570-2580. e2576.
- Lesser, M. P., Slattery, M., Stat, M., Ojimi, M., Gates, R. D. and Grottoli, A., 2010.** Photoacclimatization by the coral *Montastraea cavernosa* in the mesophotic zone: light, food, and genetics. *Ecology*, 91: 990-1003.
- Little, A. F., Van Oppen, M. J. and Willis, B. L., 2004.** Flexibility in algal endosymbioses shapes growth in reef corals. *Science*, 304: 1492-1494.
- Moghaddam, S., Shokri, M. R. and Tohidfar, M., 2021.** The enhanced expression of heat stress-related genes in scleractinian coral '*Porites harrisoni*' during warm episodes as an intrinsic mechanism for adaptation in 'the Persian Gulf'. *Coral Reefs*, 1-16
- Mostafavi, P. G., Ghayyem Ashrafi, M. and Dehghani, H., 2013.** Are symbiotic algae in corals in northern parts of the Persian Gulf resistant to climate change? *Aquatic Ecosystem Health & Management*, 16: 177-182.
- Mostafavi, P. G., Fatemi, S.M.R., Shahhosseiny, M. H., Hoegh-Guldberg, O., and Loh, W. K. W., 2007.** Predominance of clade D Symbiodinium in shallow-water reef-building corals off Kish and Larak Islands (Persian Gulf, Iran). *Marine Biology*, 153: 25-34.
- Muscantine, L. and Porter, J. W., 1977.** Reef corals: mutualistic symbioses adapted to nutrient-poor environments. *Bioscience*, 27: 454-460.
- Nybakken, J. W., 2001.** *Marine biology: an ecological approach*. Benjamin Cummings San Francisco.
- Oliver, T., Palumbi, S., 2011. Do fluctuating temperature environments elevate coral thermal tolerance? *Coral Reefs*, 30: 429-440.
- Paparella, F., Xu, C., Vaughan, G. O., Burt, J. A., 2019.** Coral bleaching in the Persian/Arabian Gulf is modulated by summer winds. *Frontiers Marine Science*, 6: 205.
- Pochon, X., Montoya-Burgos, J. I., Stadelmann, B., Pawlowski, J., 2006.** Molecular phylogeny, evolutionary rates, and divergence timing of the symbiotic dinoflagellate genus Symbiodinium. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 38: 20-30.
- Sampayo, E., Ridgway, T., Bongaerts, P. and Hoegh-Guldberg, O., 2008.** Bleaching susceptibility and mortality of corals are determined by fine-scale differences in symbiont type. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105: 10444-10449.
- Sampayo, E.M., Franceschinis, L., Hoegh-Guldberg, O. and Dove, S., 2007.** Niche partitioning of closely related symbiotic dinoflagellates. *Molecular Ecology*, 16: 3721-3733.
- Shahhosseiny, M. H., Mostafavi, P. G., Fatemi, S. M. R. and Karimi, E., 2011.** Clade identification of symbiotic zooxanthellae of dominant scleractinian coral species of intertidal pools in Hengam Island. *African Journal of Biotechnology*, 10: 1502-1506.
- Sharp, K. H., Pratte, Z. A., Kerwin, A. H., Rotjan, R. D. and Stewart, F. J., 2017.** Season, but not symbiont state, drives microbiome structure in the temperate coral *Astrangia poculata*. *Microbiome*, 5: 120.
- Shenkar, N., Fine, M., Kramarsky-Winter, E. and Loya, Y., 2006.** Population dynamics of zooxanthellae during a bacterial bleaching event. *Coral Reefs*, 25:223-227.

- Sheppard, C., Price, A. and Roberts, C., 1992.** Marine ecology of the Arabian region: patterns and processes in extreme tropical environments.
- Silverstein, R. N., Correa, A. M. and Baker, A. C., 2012.** Specificity is rarely absolute in coral–algal symbiosis: implications for coral response to climate change. *Proceedings of the Royal Society B: Biology Science*, 279: 2609-2618.
- Smith, E. G., D'angelo, C., Sharon, Y., Tchernov, D. and Wiedenmann, J., 2017.** Acclimatization of symbiotic corals to mesophotic light environments through wavelength transformation by fluorescent protein pigments. *Proceedings of the Royal Society B: Biol. Sci.*, 284,: 20170320.
- Stat, M., Gates, R. D., 2011.** Clade D Symbiodinium in scleractinian corals: a “nugget” of hope, a selfish opportunist, an ominous sign, or all of the above? *Journal Marine Biology*, 2011.
- Tchernov, D., Gorbunov, M. Y., De Vargas, C., Yadav, S. N., Milligan, A. J. and Häggblom, M., Falkowski, P. G., 2004.** Membrane lipids of symbiotic algae are diagnostic of sensitivity to thermal bleaching in corals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101: 13531-13535.
- Thornhill, D. J., LaJeunesse, T. C., Kemp, D. W., Fitt, W. K. and Schmidt, G. W., 2006.** Multi-year, seasonal genotypic surveys of coral-algal symbioses reveal prevalent stability or post-bleaching reversion. *Marine Biology*, 148:711-722.
- Titlyanov, E. A., Titlyanova, T. V., 2020.** Symbiotic Relationships between Microalgal Zooxanthellae and Reef-Building Coral Polyps in the Process of Autotrophic and Heterotrophic Nutrition. *Russian Journal of Marine Biology*, 46, 307-318.
- Toller, W. W., Rowan, R. and Knowlton, N., 2001.** Zooxanthellae of the *Montastraea annularis* species complex: patterns of distribution of four taxa of Symbiodinium on different reefs and across depths. *Biology Bulletin.*, 201: 348-359.
- Veron, J. E. N., 1995.** Corals in space and time: the biogeography and evolution of the Scleractinia. Cornell University Press.
- Ward, S., Harrison, P. and Hoegh-Guldberg, O., 2002.** Coral bleaching reduces reproduction of scleractinian corals and increases susceptibility to future stress, *Proceedings of the Ninth International Coral Reef Symposium, Bali, 23-27 October 2000*, pp. 1123-1128.
- Xu, H., Feng, B., Xie, M., Ren, Y., Xia, J., Zhang, Y., Wang, A. and Li, X., 2020.** Physiological Characteristics and Environment Adaptability of Reef-Building Corals at the Wuzhizhou Island of South China Sea. *Frontiers in Physiology*, 11, 390.
- Yorifuji, M., Yamashita, H., Suzuki, G., Kawasaki, T., Tsukamoto, T., Okada, W. and Harii, S., 2021.** Unique environmental Symbiodiniaceae diversity at an isolated island in the northwestern Pacific. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 161: 107158.
- Yuyama, I., Harii, S. and Hidaka, M., 2012.** Algal symbiont type affects gene expression in juveniles of the coral *Acropora tenuis* exposed to thermal stress. *Marine Environmental Research.*, 76: 41-47.