



University of Hormozgan

Journal of Aquatic Ecology

ISSN Print: 2322-2751 ISSN Online: 2980-9355

Homepage: <https://jae.hormozgan.ac.ir>



Separation and identification of unicellular symbiotic algae with dominant species of reef-building corals on Lavan Island using Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) method

Amir Arbabinia¹, Pargol Ghavam Mostafavi^{1✉}, Mohammadhassan Shahhosseiny²

1. Department of Natural Resources and Environment, SR.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran

2. Department of Microbiology, Shahr-e Qods University, Tehran, Iran.

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received: 23 December 2025
Accepted: 10 May 2026
Published: 22 June 2026

Corresponding Author:
mostafavi_pa@srbiau.ac.ir

Keywords:
Reef-building corals,
Symbiodinium,
Lavan Island,
DGGE,
ITS2,
Persian Gulf.

ABSTRACT

Reef-building corals harbor diverse communities of unicellular dinoflagellate algae that provide essential photosynthetic energy and contribute to host calcification. Coral colonies can associate with multiple algal symbiont types, and environmental changes may alter the relative abundance of these symbionts, potentially favoring thermally and environmentally tolerant types that enhance coral persistence under stressful conditions. In this study, seven species of scleractinian corals—*Cyphastrea microphthalma*, *Platygyra daedalea*, *Pavona decussata*, *Acropora downingii*, *Psammocora contigua*, *Dipsastraea pallida*, and *Porites compressa*—were collected at depths of 3–5 m around Lavan Island using SCUBA diving. Following collection, DNA was extracted from coral tissues, and the Internal Transcribed Spacer 2 (ITS2) region was amplified using ITS2-specific primers and a GC-clamp primer. Polymerase chain reaction (PCR) followed by denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) was used to characterize and distinguish the dominant Symbiodiniaceae lineages associated with each coral species. Among the seven coral species examined, sub-clade D1 was dominant in *C. microphthalma*, *D. pallida*, and *P. daedalea*, whereas sub-clade C1 was dominant in *P. contigua* and *P. compressa*. Notably, *P. compressa* harbored symbionts belonging to both clades C and D, with C1 being the dominant sub-clade. The detection of thermally and salinity-tolerant Symbiodiniaceae lineages, particularly clades C and D, suggests that these symbiotic associations may contribute to the ability of coral hosts to persist under the highly variable environmental conditions of the Persian Gulf. These findings provide baseline information on coral–Symbiodiniaceae associations around Lavan Island and contribute to understanding the potential role of symbiont diversity in coral resilience to environmental stress.



Publisher: University of Hormozgan

EXTENDED ABSTRACT

Introduction

Reef-building corals commonly harbor diverse clades of symbiotic dinoflagellates, traditionally referred to as zooxanthellae and currently classified within the family Symbiodiniaceae. A single coral colony may harbor multiple symbiont clades simultaneously, and the relative abundance of these symbionts can vary among coral species and geographic locations. Environmental conditions can influence the composition and dominance of symbiont communities, potentially favoring lineages with greater tolerance to local environmental stressors. Consequently, coral–Symbiodiniaceae associations are considered an important component of coral acclimatization and persistence under variable environmental conditions.

Given the important role of Symbiodiniaceae in coral bleaching and the functioning and persistence of reef-building coral communities, understanding the association between corals and their symbiotic algae is particularly important in the Persian Gulf, where corals are exposed to pronounced temperature and salinity fluctuations. Because the morphological characteristics of symbiotic dinoflagellates provide limited information about their genetic and physiological diversity, molecular approaches are required for reliable identification and characterization of their lineages. Therefore, this study aimed to characterize and identify different symbiotic dinoflagellate clades associated with selected reef-building coral species around Lavan Island using denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and subsequent sequencing.

Materials and Methods

Seven species of reef-building corals, including *Cyphastrea microphthalma*, *Platygyra daedalea*, *Pavona decussata*, *Acropora downingii*, *Psammocora contigua*, *Dipsastraea pallida*, and *Porites compressa*, were collected from depths of 3–5 m around Lavan Island in the northern Persian Gulf using SCUBA diving. Coral species were identified using the taxonomic key of Veron (2000). Following transportation to the laboratory, DNA was extracted from coral tissue samples. The Internal Transcribed Spacer 2 (ITS2) region was amplified using ITS2-specific primers and a GC-clamp primer. Polymerase chain reaction (PCR) products were separated using denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) to resolve different symbiont profiles. Distinct DGGE bands were subsequently characterized by sequencing to identify the associated Symbiodiniaceae clades and sub-clades.

Results

Seven reef-building coral species were identified around Lavan Island. DGGE profiles revealed multiple symbiont lineages within the examined coral samples, indicating that several Symbiodiniaceae clades could occur simultaneously within individual coral species. Among the seven coral species examined, sub-clade D1 was dominant in *C. microphthalma*, *D. pallida*, and *P. daedalea*, whereas sub-clade C1 was dominant in *P. contigua* and *P. compressa*. Notably, *P. compressa* harbored symbionts belonging to both clades C and D, with sub-clade C1 being particularly prominent. These results demonstrate considerable variation in Symbiodiniaceae composition among the coral species examined.

Conclusion

The present study identified clades C and D and their respective sub-clades C1 and D1 as the dominant Symbiodiniaceae lineages associated with the investigated coral species around Lavan Island. The occurrence of multiple symbiont clades within the studied corals indicates that coral colonies can maintain diverse Symbiodiniaceae associations under the environmental conditions of the northern Persian Gulf. The predominance of clades C and D may reflect their ability to persist under the region's relatively high and variable temperature and salinity conditions, although their specific physiological tolerance was not directly evaluated in this study. The findings provide baseline information on coral–Symbiodiniaceae associations around Lavan Island and contribute to a better understanding of the potential role of symbiont composition in coral persistence under environmental stress.

تفکیک و شناسایی جلبک‌های تک سلولی همزیست با گونه های غالب مرجان های آبسنگ ساز
حزبه لاوان با استفاده از روش Denaturing Gradient Gel Electrophoresis

امیر اربابی نیا^۱، یرگل قوام مصطفوی^۱، محمد حسن شاه حسینی^۲

۱. دانشکده کشاورزی، منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.

۲. گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرقدس، تهران، ایران.

اطلاعات مقاله
نوع مقاله: مقاله پژوهشی
تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۰/۰۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۲/۲۰
تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۰۴/۰۱
نویسنده مسئول: Mostafavi_pa@srbiau.ac.ir
کلیدواژه‌ها: مرجان های آب سنگ ساز، جلبک های تک سلولی، DGGE، ITS ۲، خلیج فارس

چکیده
 مرجان های آب سنگ ساز دارای جمعیت هایی از جلبک های تک سلولی داینوفلاژله هستند که نقش مهمی در تأمین انرژی و کربنات کلسیم برای مرجان ها و در نتیجه آهکی شدن آنها ایفا می کنند. مرجان های آبسنگ ساز معمولاً دارای چندین نوع از این جلبک به طور همزمان می باشند که در صورت تغییر شرایط محیطی، نوع مقاوم می تواند غالب شده و باعث بقای مرجان میزبان در محیط شود. در این مطالعه ۷ گونه از مرجان های سخت اطراف جزیره لاون (*Acropora*، *Pavona decussata*، *Platygyra daedalea*، *Cyphastrea microphthalma*، *Psammocora contigua downingi*، *Dipsastraea pallida*، *Porites compressa*) از عمق ۳ تا ۵ متری با روش غواصی جمع آوری و پس از انتقال به آزمایشگاه، DNA استخراج و ژن هدف ۲ (Internal Transcribed 2) ITS spacer 2) با پرایمرهای اختصاصی ITS ۲ و GC-Clamp تکثیر گردید. با استفاده از واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) و روش (DGGE) Denaturing Gradient Gel Electrophoresis کلاهای متنوع همزیست با یک گونه مرجان مشخص تفکیک و مشخص گردید که در ۳ گونه از ۷ گونه مورد مطالعه (*Cyphastrea*، *Psammocora contigua*، *Porites compressa*) زیرکلا ۱ C به عنوان غالب ترین زیرکلاها در این مطالعه وجود داشتند و گونه *Porites compressa* میزبان هردو کلا ۱ C و ۲ D بود. از آنجا که این کلاها مقاوم به تغییر درجه حرارت و شوری هستند به علت شرایط خاص خلیج فارس، حضور کلاهای همزیست مقاوم با مرجان ها باعث بقای مرجان ها در محیط پر استرس خلیج فارس می شود.

مقدمه

آب‌سنگ‌های مرجانی با جلبک تک سلولی دوتاژکی همزیست بوده و بخش عمده‌ای از انرژی مورد نیاز مرجان‌ها از طریق فتوسنتز همین جلبک‌های همزیست صورت می‌گیرد. مرجان و زوزانتله همزیست، به استرس‌های محیطی از قبیل شوری، درجه حرارت، سطح نوری بالا و کم‌دورت حساس می‌باشند (Hoeigh-Guldborg, 1999; Baker, 2001; Baker et al. 2004).

خلیج فارس به علت قرار گرفتن در عرض‌های جغرافیایی نیمه گرمسیری، محدودیت‌هایی را برای جوامع مرجانی به وجود آورده است. به طوری که دامنه وسیع تغییرات دمای آب، شوری بالا و کم‌دورت در خلیج فارس، موجب کاهش تنوع آب‌سنگ‌های مرجانی در این منطقه گردیده است و آب‌سنگ‌های مرجانی خلیج فارس به علت شرایط خاص محیطی مذکور همواره تحت استرس می‌باشند (Ghavam Mostafavi et al. 2007; Baker et al., 2004; Ghavam Mostafavi et al. 2013).

آب‌سنگ‌های مرجانی می‌توانند کلادهای مختلفی از زوزانتله‌ها را به صورت همزیست با خود داشته باشند. حتی گاهی برخی آب‌سنگ‌ها می‌توانند کلادهای مختلفی را به صورت همزمان دارا باشند و گاهی اوقات ممکن است زوزانتله خود را در جهت تعویض و تغییر نوع کلاد از دست بدهند (Mieog et al. 2007; Ghavam Mostafavi et al. 2025). در هر مرجان بسته به نوع گونه و موقعیت جغرافیایی که مرجان در آن قرار دارد کلادهای متفاوتی وجود دارد. هر کلاد دارای خصوصیات منحصر به فردی می‌باشد که می‌تواند نسبت به موقعیت در شرایطی که مرجان در آن وجود دارد، یک نوع کلاد به صورت کلاد غالب نمایان شود (Apprill and Gates 2007; Mashini et al. 2015; Mashini et al. 2017; Ghavam Mostafavi et al. 2025).

تحقیقات در مورد زوزانتله همزیست با آب‌سنگ‌های مرجانی خلیج فارس از سال ۲۰۰۷ نشان می‌دهد که در سواحل ایرانی خلیج فارس کلاد D و C ۹۰ و در سواحل جنوبی خلیج فارس نیز کلاد D غالب بوده (Baker, 2001; Baker et al. 2004; Ghavam Mostafavi et al. 2007; Mostafavi et al. 2007). که به دلیل جلوگیری از آسیب دیدن آنها در مقابل تغییرات محیط شکل گرفته است. مرجان‌ها در پاسخ به استرس‌های محیطی جلبک‌های همزیست خود را از دست داده و کلادهای جدیدی را به عنوان همزیست انتخاب می‌کنند (Baker, 2001; Ghavam Mostafavi et al. 2007; Ghavam Mostafavi et al. 2013; Mashini et al. 2015; Mashini et al. 2017; Ghavam Mostafavi et al. 2025).

سفیدشدگی می‌تواند باعث افزایش مرگ و میر مرجان‌ها شود که در نهایت منجر به خطر افتادن سلامت آب‌سنگ‌های مرجانی می‌گردد (Hoeigh-Guldborg et al. 2007; Hume et al. 2013). تمام مرجان‌ها قادر به تعویض زوزانتله خود نمی‌باشند، توانایی تعویض زوزانتله به توانایی مرجان در داشتن همزمان زوزانتله‌های مختلف، عمق زیست آن‌ها حتی در گونه‌های یکسان و مکان‌های جغرافیایی زیستی متفاوت بستگی دارد (Goulet et al. 2005; Hume et al. 2015; Kaveh et al. 2025).

با توجه به اهمیت زوزانتله در پدیده سفیدشدگی جوامع مرجان‌های آب‌سنگ ساز و به منظور اهمیت رابطه زیستی بین مرجان‌های آب‌سنگ ساز و جلبک‌های همزیست آنها، در خلیج فارس و همچنین چگونگی پایداری و بقا مرجان‌ها در برابر شرایط نامساعد و سخت زیست محیطی تعیین و شناسایی نوع کلادهای مقاوم تک سلولی‌های دوتاژکی از جنس *Symbiodinium* در برابر شرایط سخت و استرس‌های محیطی به عنوان اهمیت اصلی از انجام این تحقیق در نظر گرفته شده است و از آنجا که خصوصیات مورفولوژیک زوزانتله بیانگر خصوصیات فیزیولوژیک آن نیست، لذا برای شناسایی آن از روش‌های مولکولی استفاده می‌شود. هدف از این مطالعه تفکیک و شناسایی کلادهای متنوع زوزانتله همزیست بصورت همزمان با یک گونه‌های مرجانی مورد مطالعه با استفاده از روش Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) و توالی‌یابی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جزیره لاوان در بخش غربی استان هرمزگان و در مختصات جغرافیایی (عرض: $26^{\circ} 8' 12''$ / طول: $53^{\circ} 27' 30''$) قرار گرفته است. این جزیره از جمله جزایر مهم خلیج فارس است. مساحت جزیره لاوان در حدود $8/76$ کیلومترمربع و عمق آب دریا در نزدیکی این جزیره، بین ۱۸ تا ۲۴ متر می‌باشد. این جزیره پس از جزیره قشم و کیش بزرگ‌ترین جزیره ایران در خلیج فارس محسوب می‌شود (Shafeian, 2023).

مرجان‌های سخت اطراف جزیره لاوان از عمق ۳ تا ۵ متری با روش غواصی جمع‌آوری شدند و به آزمایشگاه رازی واقع در دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران منتقل شده و در فریزر -80° نگهداری شدند. توده زوزانتله با استفاده از دستگاه ایر براش و بافر (EDTA mm ۵۱، DNAB ۱.۴M، pH=۸) جدا شده و برای مطالعات مولکولی مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌های مرجانی بعد از سفید شدن توسط ماده سفیدکننده، مورد شناسایی قرار گرفتند. شناسایی گونه توسط دستگاه فتواستریومیکروسکوپ، با بررسی و عکسبرداری از کورالیت مرجانها و با کمک کلید شناسایی Veron ۲۰۰۰ انجام گرفت.

استخراج DNA با روش CTAB (ستیل تری متیل آمونیوم بروماید-کلروفرم) (Baker, 1999) انجام شد. ژن هدف ITS با استفاده از دو پرایمر ۱ و ۲ تکثیر شد:

1) ITS^۲ (Pochon *et al.* 2010) OD: ۲۰ GC: ۴۳%

ITS^۲F: ۵'-GTGAATTGCAGAACTCCGTG-۳'

ITS^۲R: ۵'-CCTCCGCTTACTTATATGCTT-۳'

2) ITS^۲Clamp (LaJeunesse & Trench, 2000) OD: ۲۰

ITSintfor^۲: ۵'-GAATTGCAGAACTCCGTG-۳' GC: ۵۰%

ITS^۲CLAMP: ۵'-CGCCCCGCCGCGCCCCGCGCCCGTCCC GC: ۷۷%

سیکل حرارتی بصورت 94° سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، 94° سانتی گراد ۳۰ ثانیه، 60° سانتی گراد ۶۰ ثانیه، 72° سانتی گراد ۳۰ ثانیه و 72° سانتی گراد ۷ دقیقه در 30° سیکل مورد استفاده قرار گرفت.

پس از انجام واکنش زنجیره ای پلیمرز، کیفیت قطعات بدست آمده با الکتروفورز ژل آگارز ۲٪ و کمیت آنها با استفاده از نانودراپ مورد بررسی قرار گرفت.

محصولات بدست آمده از واکنش زنجیره ای پلیمرز (پرایمر ITS ۲) به روش Dideoxy Chain Termination بصورت دوطرفه توسط شرکت ژن فن آوران توالی یابی شدند. با توجه به نتایج توالی یابی که نشان دهنده Multiplex بودن نمونه‌ها بود، برای گرفتن نتیجه ی مطلوب و درست و جداسازی ژنهای متنوع از یکدیگر، روش (DGGE Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) انجام گرفت. برای انجام این روش از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز که توسط پرایمر ITS2Clamp انجام گرفت، استفاده شد. سیکل حرارتی آن بصورت زیر است:

94° سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، 94° سانتی گراد ۳۰ ثانیه، 54° - 60° سانتی گراد ۶۰ ثانیه، 72° سانتی گراد ۳۰ ثانیه و 72° سانتی گراد ۷ دقیقه در 35° سیکل مورد استفاده قرار گرفت.

بعد از اطمینان از کیفیت و کمیت محصول PCR، نمونه‌ها آماده ی بررسی توسط دستگاه DGGE شدند.

ژل گرادیان ۴۰٪ و ۸۰٪ با تغییر در مقادیر فرم امید و اوره ساخته شد و محلول های ساخته شده بر اساس شیب گرادیان مورد نظر به داخل پلیت ریخته شد و الکتروفورز ژل آکریلامید به مدت ۱۴ ساعت با ولتاژ ۱۰۰ ولت و دمای 60° درجه سانتی گراد انجام

شد. پس از رنگ آمیزی با نیترات نقره و محلول NaOH باندهای موردنظر جدا شده و پس از استخراج از ژل با استفاده از کیت ۰۵۱۳ Fermentas K ، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز توسط پرایمر ITS2 clamp انجام گرفت.

محصولات PCR موردنظر توسط شرکت ژن فن آوران با روش Dideoxy Chain Termination بصورت دوطرفه توالی یابی شد.

نتایج

در این مطالعه، ۷ گونه مرجان آبسنگ ساز در اطراف جزیره لوان که عبارتند از *P. daedalea* ، *C. microphthalma* ، *P. compressa* ، *D. pallida* ، *P. contigua* ، *A. downingi* ، *decussata* با استفاده از کلید ۲۰۰۰ Veron شناسایی شدند.

Cyphastrea microphthalma (Lamarck, 1816)

کلنی‌ها توده‌ای بوده و بخش‌های قشری، جایی که نور کمتر است، نازک‌تر می‌شوند. معمولاً به حالت گلوله‌ای رشد می‌کنند (Corallites). کورالیت‌ها بلند و مخروطی شکل هستند. کلنی‌هایی که در برابر نور شدید قرار می‌گیرند، کورالیت‌ها به هم فشرده می‌شوند، در حالیکه در کلنی‌های قشری فاصله زیادی دارند. کورالیت‌ها معمولاً دارای ۱۱، Septa اولیه هستند، گرچه این تعداد در بین کورالیت‌ها متفاوت است. به رنگ قهوه‌ای، کرم یا سبز دیده می‌شوند، و Septa ها معمولاً سفید هستند (شکل ۱، ۲و۳) (Veron, 2000).

Platygyra daedalea (Ellis & Solander, 1786)

کلنی‌ها توده‌های تا قشری و Meandroid یا Submeandroid بوده و دیواره‌های ضخیمی دارند. Septa ها برآمده هستند و یک ظاهر ناهموار و زیر متمایزی دارند. Columellae ها به صورت ضعیفی توسعه یافته‌اند و مرکز آن‌ها نامعلوم می‌باشد. معمولاً روشن، اغلب با دیواره‌های قهوه‌ای و شیارهای خاکستری یا سبز دیده می‌شوند و در بیشتر آبسنگ‌ها، به خصوص پشت و لبه‌ی صخره‌ها یافت می‌شوند (شکل ۱، ۳و۴) (Veron, 2000).

Pavona decussata (Dana, 1846)

در این گونه کلنی به شکل صفحات قائم مستقیم که حالت گل کلم پیدا می‌کند، رشد می‌کند. ضخامت آن‌ها به ۱ تا ۳ میلی متر می‌رسد و معمولاً دارای برگ‌های کوتاه هستند. کورالیت‌ها نامنظم، عمیق و از نوع ستاره‌ای و یا سامستروئید می‌باشند. معمولاً قهوه‌ای، کرم مایل به زرد یا متمایل به سبز هستند (شکل ۱، ۵و۶) (Veron, 2000).

Acropora downingi (Wallace, 1999)

کلنی‌های این گونه به صورت پهن و مسطح بوده و دارای شاخه‌های به هم پیوسته افقی است که در کلنی‌های بزرگ شاخه‌ها در قسمت وسط به هم ملحق می‌شوند. از خصوصیات بارز این گونه که وجه تمایز آن با سایر گونه‌های این جنس در آن است که نوک شاخه‌ها در این جنس به طرف بالا برگشته و کلنی دارای شاخه‌های عمودی است. کورالیت‌های محوری کوچک بوده و کورالیت‌های شعاعی نیز فشرده با لبه تیز و دهانه ریز بوده و با اندازه‌های محوری کوچک بوده و با اندازه‌های مختلف یافت می‌شوند. رنگ قهوه‌ای، خاکستری یا سبز و اغلب حاشیه‌های بیرنگ و کمرنگ دارند. در نواحی بالایی شیب آبسنگ‌ها یافت می‌شوند و کلنی‌ها اغلب توسط مقداری شن پوشانده شده‌اند (شکل ۱، ۷و۸) (Veron, 2000).

Psammocora contigua (Esper, 1794)

مشخصات: این گونه دارای کلنی‌های نودولار بوده و کورالیت‌های آن نازک و از نوع ستاره‌ای می‌باشند. سطح خارجی کلنی زیر بوده، در واقع کورالیت‌ها در این ساختار باعث زیر شدن سطح کلنی می‌گردد و septa و costa دارای حاشیه‌های دنداندار

است. کلوملا دارای تعدادی بالچه بوده و تانتاکول‌ها در شب قابل رویت هستند. به رنگ قهوه‌ای یا خاکستری کم رنگ تا پررنگ دیده می‌شوند (شکل ۱، ۹ و ۱۰) (Veron, 2000).

Dipsastraea pallida (Dana, 1846)

مشخصات: کلنی به شکل توده‌ای و کوچک به قطر ۲ تا ۴ سانتی متر است. کورالیت نوعی پلاکوئید بوده که در آب‌های کم عمق به شدت فشرده است و در آب‌های عمیق‌تر با فاصله نسبت به هم قرار گرفته‌اند. به طور معمول قطر کورالیت بین ۴ تا ۱۳ میلی متر متغیر است. سپت‌ها دارای اندازه‌های مختلف و دندان‌دار هستند که در سه دسته و با فاصله نسبت به هم قرار دارند. تعداد سپت‌ها ۲۸ عدد است که در کورالیت‌های بزرگ‌تر تا ۴ عدد نیز می‌رسد و معمولاً ۱۳ تا ۱۵ عدد از سپت‌ها به کلوملا می‌رسند. به رنگ‌های زرد کم رنگ، کرم و یا سبز دیده می‌شوند (شکل ۱، ۱۱ و ۱۲) (Veron, 2000).

Porites compressa (Dana, 1846)

مشخصات: کلنی‌ها ممکن است پراکندگی‌های وسیعی از آبسنگ‌های مرجانی را تشکیل دهند. اغلب به شکل شاخه‌های استوانه‌ای بوده و در قاعده به هم وصل می‌شوند. کورالیت‌ها از نوع Cerioid و با قطر ۳/۹ میلی متر می‌باشد. برخی اوقات کلنی‌های این گونه باعث تشکیل آبسنگ‌های مرجانی عظیم می‌شوند. این گونه در این تحقیق اکثراً به رنگ قهوه‌های مشاهده گردید (شکل ۱، ۱۳ و ۱۴) (Veron, 2000).



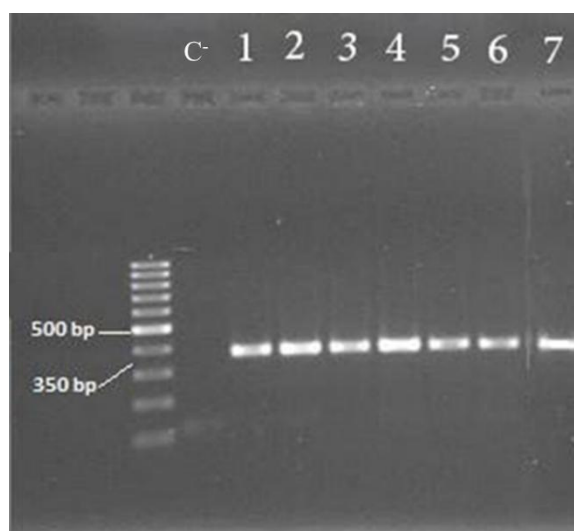
شکل ۱) نمونه سفید شده *C. microphthalma* (۲، کورالیت های *C. microphthalma* (۳، نمونه سفید شده *P. daedalea* (۴، کورالیت های *P. daedalea* (۵، نمونه سفید شده *P. decussata* (۶، کورالیت های *P. decussata* (۷، نمونه سفید شده *A. downingi* (۸، کورالیت های *A. downingi* (۹، نمونه سفید شده *P. contigua* (۱۰، کورالیت های *P. contigua* (۱۱، نمونه سفید شده *D. pallida* (۱۲، کورالیت های *D. pallida* (۱۳، نمونه سفید شده *P. compressa* (۱۴، کورالیت های *P. compressa*

پس از انجام واکنش PCR با پرایمر ITS2، و بررسی آن توسط ژل آگارز ۲٪ تمام گونه های مرجانی دارایی یک باند ۳۵۰ جفت بازی بودند (شکل ۲).

باندهای حاصل از واکنش PCR با پرایمر ITS2 clamp با اندازه ۳۵۰ جفت باز برای روش DGGE مورد استفاده قرار گرفتند.

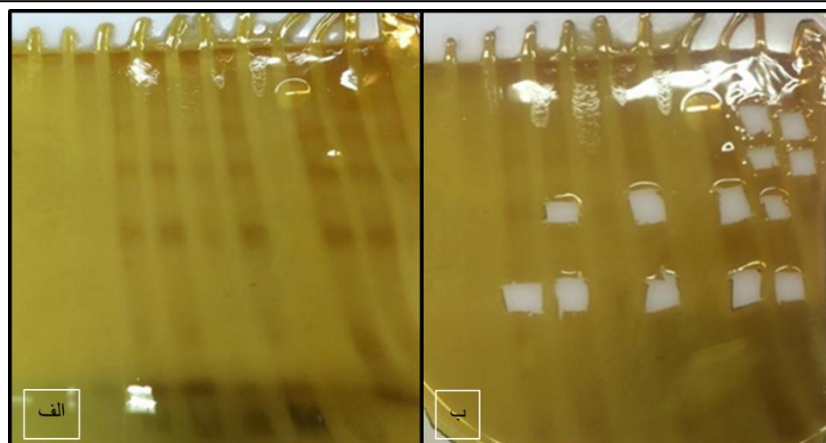
بافتهای تشکیل شده بر روی ژل آکریلامید حاصل از روش DGGE در شکل ۳ الف نشان دهنده حضور چندین کلاد بصورت همزمان بر روی هرگونه از مرجان‌های مورد بررسی می‌باشد و باندهای برش خورده از ژل آکریلامید به منظور انجام واکنش PCR مجدد و سپس توالی‌یابی در شکل ۳ ب قابل مشاهده است.

نتیجه حاصل از انجام واکنش PCR با پرایمر ITS2 clamp بر روی نمونه‌های استخراج شده از ژل آکریلامید در شکل ۴ قابل مشاهده است. پس از تعیین ترادف ژنی روی محصول PCR بدست آمده، دو نوع کلاد D و C در گونه‌های زیر شناسایی شد: *P. daedalea* میزبان جمعیت‌های زیر کلاد D۱ بود، درحالی‌که در آزمایشات مربوط به گونه *P. decussata* با روش‌های زنجیره‌ای پلیمرز با پرایمرهای اختصاصی، کلادهای C و D مشاهده شد، در گونه *C. microphthalma* در عمق ۳-۵ متر، کلاد D و زیر کلاد‌های D۱a، D۱ مشاهده شد. در گونه *A. downingi* تنها کلاد D به عنوان کلاد غالب رویت گردید، در گونه *P. contigua* کلاد C و زیر کلاد C۱ و در گونه *P. compressa* کلاد D و C و زیر کلاد C۱ از باند مربوطه از ژل آکریلامید شناسایی شد، در گونه *D. pallida* نیز کلاد غالب D و زیر کلاد D۱ مشاهده گردید.

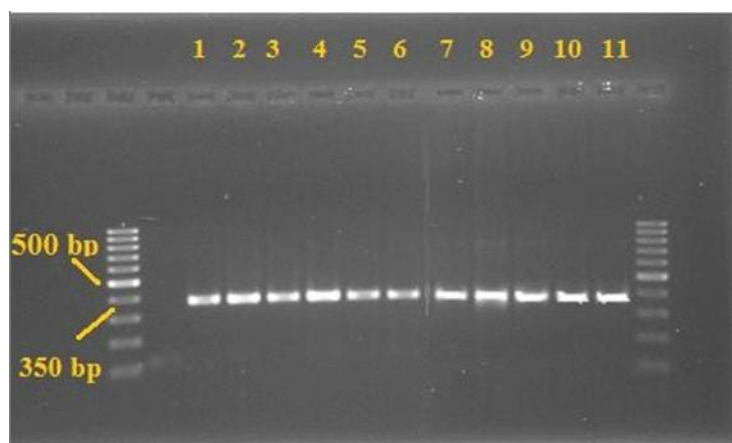


شکل ۲- محصول PCR انجام گرفته با پرایمر ITS2

(۱) *C. microphthalma*، (۲) *P. daedalea*، (۳) *P. decussata*، (۴) *A. downingi*، (۵) *P. contigua*، (۶) *D. pallida*، (۷) *P. compressa*



شکل ۳- الف) باند های تشکیل شده بر روی ژل آکریلامید. ب) باند های برش خورده از ژل آکریلامید



شکل ۴- محصول PCR انجام گرفته با DNA استخراج شده از ژل

بحث

در این مطالعه کلادهای D و C و زیرکلاد ۱ D و ۱ C در گونه های مرجانی بررسی شده به عنوان کلاد غالب شناسایی شدند. کلاد D شایع ترین کلاد همزیست در میان گونه های مرجانی بود که در قسمت های مختلف شمال خلیج فارس مورد بررسی قرار گرفتند. طبق تحقیقات انجام شده بین سال های ۲۰۰۵ تا ۲۰۲۵ در مکان های مختلف و همچنین مطالعه حاضر (Ghavam Mostafavi et al. 2007; Shahhosseiny et al. 2011; Ghavam Mostafavi et al. 2013; Mashini et al. 2017; Ghavam Mostafavi et al. 2025)، کلاد D یکی از رایج ترین جلبک های همزیست در خلیج فارس است. در مطالعه حاضر، مرجان های غالب سازنده آبسنگ های مرجانی مانند *C. microphthalma*، *P. daedalea*، *P. decussata*، *A. downingi* و *D. pallida* دارای کلاد D و زیرکلادهای آن بودند که معمولاً وقتی مرجان ها در معرض گرما و نوسانات دما، محیط های استرس زا و سایر شرایطی که بر سلامت مرجان تأثیر منفی می گذارند قرار می گیرند، به تعداد بیشتری دیده می شود (Baker et al. 2001; State and Gates, 2011). کلاد D به دلیل مقاومت بالاتر در برابر تنش حرارتی (۱ تا ۱/۵ درجه سانتیگراد) نسبت به سایر کلادها، احتمال بیشتری برای زنده ماندن در پدیده سفید شدن مرجان ها دارد (Toller et al. 2001; Baker et al. 2004).

Goulet, 2006; Hume *et al.* 2020; Kaveh *et al.* 2025) از آنجا که کلاد D از نظر حرارتی مقاوم است، مرجان‌هایی که میزبان آنها هستند، در برابر افزایش دمای سطح دریا انعطاف‌پذیرتر هستند (Dehghani *et al.* 2018).

همانطور که گفته شد، در این مطالعه گونه *P. contigua* با کلاد C و زیر کلاد ۱ C و گونه *P. compressa* با کلاد D و C و زیر کلاد ۱ C همزیستی نشان دادند. گزارش شده است که کلاد C دومین کلاد فراوان نمونه‌برداری شده در جزایر شمالی خلیج فارس است (Ghavam Mostafavi *et al.* 2007). مطالعات انجام شده در سواحل جنوبی خلیج فارس، حضور کلاد C و همچنین وجود گونه مقاوم به گرما *Symbiodinium thermophilum* sp. را نشان داده است (Hume *et al.* 2013; Hume *et al.* 2015). در مطالعه حاضر، *P. contigua* و *P. compressa* همزیستی با زیر کلاد ۱ C را نشان دادند. زیر کلاد ۱ C یک زیر کلاد متداول در هند و اقیانوسیه است که از میزبان‌های مختلف و مکان‌های جغرافیایی متعدد گزارش شده است (LaJeunesse *et al.* 2006; Reimer *et al.* 2005).

طبق مطالعات انجام شده بعضی از گونه‌های مرجان‌های مورد بررسی بطور همزمان دارای چند کلاد زوزانتله هستند که این مسئله بدین دلیل است که مرجان افسنگ ساز برای حفظ بقای خود می‌تواند بطور همزمان میزبان زوزانتله‌های مختلف باشد و با تغییر شرایط محیطی میزان، نوع و نسبت این جلبک تک سلولی همزیست را تغییر دهد (Goulet *et al.* 2005; Ghavam Mostafavi *et al.* 2007).

نتیجه‌گیری

در این تحقیق گونه‌های مرجان‌های افسنگ ساز مورد مطالعه بطور همزمان دارای چندین کلاد زوزانتله بودند که با روش DGGE تفکیک و سپس با توالی‌یابی شناسایی شدند. کلاد D و کلاد C و زیر کلادهای مربوط به آنها کلادهای غالب در این تحقیق بوده که علت حضور آنها مقاومت به تغییر درجه حرارت و همچنین شوری بالا در شرایط استرس زای خلیج فارس می‌باشد.

References

- Apprill, A.M. and Gates, R.D., 2007. Recognizing diversity in coral symbiotic dinoflagellate communities. *Molecular Ecology*, 16(6), 1127-1134. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2006.03214.x>
- Baker, A.C., 1999. The symbiosis ecology of reef-building corals. University of Miami.
- Baker, A.C., 2001. Reef corals bleach to survive change. *Nature*, 411(6839), pp.765-766. <https://doi.org/10.1038/35081151>
- Baker, A.C., Starger, C.J., McClanahan, T.R. and Glynn, P.W., 2004. Corals' adaptive response to climate change. *Nature*, 430(7001), pp.741-741. <http://dx.doi.org/10.1038/430741a>
- Dehghani, H., Ghavam Mostafavi, P., Fatemi, S.M.R. and Fallah Mehrabadi, J., 2018. Molecular diversity of *Symbiodinium* spp. within six coral species in Larak Island, the Persian Gulf. *Iranian Journal of Fisheries Science*, 17(1), 151-161. URL: <http://jifro.ir/article-1-3275-en.html>
- Ghavam Mostafavi, P., Ashrafi, M.G. and Dehghani, H., 2013. Are symbiotic algae in corals in northern parts of the Persian Gulf resistant to thermal stress? *Aquatic Ecosystem Health & Management*, 16(2), 177-182. <https://doi.org/10.1080/14634988.2013.790281>
- Ghavam Mostafavi, P., 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. <https://doi.org/10.1007/s00227-007-0796-8>
- Ghavam Mostafavi, P., Salmanpour, M., Ahmadi, A., Qayyem Ashrafi, M., Parsa, S. and Dehghani, H., 2025. Do the reef-building corals around non-residential Shidvar Island tend to be symbionts with

- heat-resistant Clade D?. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 24(4), pp.953-968. <https://doi.org/10.22092/ijfs.2025.134036>
- Goulet, T.L., 2006. Most corals may not change their symbionts. *Marine Ecology Progress Series*, 321, 1-7. <https://doi.org/10.3354/meps>
- Goulet, T.L., Cook, C.B. and Goulet, D., 2005. Effect of short-term exposure to elevated temperatures and light levels on photosynthesis of different host-symbiont combinations in the *Aiptasia pallida*/Symbiodinium symbiosis. *Limnology and Oceanography*, 50(5), pp.1490-1498.
- Hoegh-Guldberg, O., 1999. Climate change, coral bleaching and the future of the world's coral reefs. *Marine and freshwater research*, 51(8), pp.839-866. URL: <https://www.vliz.be/imisdocs/publications/344259.pdf>
- Hoegh-Guldberg, O., Mumby, P.J., Hooten, A.J., Steneck, R.S., Greenfield, P., Gomez, E., Harvell, C.D., Sale, P.F., Edwards, A.J., Caldeira, K. and Knowlton, N., 2007. Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification. *science*, 318(5857), pp.1737-1742. <https://doi.org/10.1126/science.1152509>
- Hume, B., D'angelo, C., Burt, J., Baker, A.C., Riegl, B. and Wiedenmann, J., 2013. Corals from the Persian/Arabian Gulf as models for thermotolerant reef-builders: prevalence of clade C3 Symbiodinium, host fluorescence and ex situ temperature tolerance. *Marine pollution bulletin*, 72(2), pp.313-322. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.11.032>
- Hume, B.C., D'Angelo, C., Smith, E.G., Stevens, J.R., Burt, J. and Wiedenmann, J., 2015. Symbiodinium thermophilum sp. nov., a thermotolerant symbiotic alga prevalent in corals of the world's hottest sea, the Persian/Arabian Gulf. *Scientific reports*, 5(1), p.8562. <https://doi.org/10.1038/srep08562>
- Hume, B.C., Mejia-Restrepo, A., Voolstra, C.R. and Berumen, M.L., 2020. Fine-scale delineation of Symbiodiniaceae genotypes on a previously bleached central Red Sea reef system demonstrates a prevalence of coral host-specific associations. *Coral Reefs*, 39(3), 583-601. <https://doi.org/10.1007/s00338-020-01917-7>
- Kaveh, S., Ghavam Mostafavi, P., Hosseini Tafreshi, S.A. and Shahhosseiny, M., 2025. Changes in the symbiotic dinoflagellate and GFP-like protein in heat stress tolerant *Porites harrisoni* versus heat stress sensitive *Acropora downingi*: a case study in the Persian Gulf. *Aquatic Ecology*, 1-17. <https://doi.org/10.1007/s10452-025-10183-0>
- LaJeunesse, T.C. and Trench, R.K., 2000. Biogeography of two species of Symbiodinium (Freudenthal) inhabiting the intertidal sea anemone *Anthopleura elegantissima* (Brandt). *The Biological Bulletin*, 199(2), pp.126-134. <https://doi.org/10.2307/1542872>
- LaJeunesse, T.C., 2005. "Species" radiations of symbiotic dinoflagellates in the Atlantic and Indo-Pacific since the Miocene-Pliocene transition. *Molecular Biology and Evolution*, 22(3), 570-581. <https://doi.org/10.1093/molbev/msi042>
- Mashini, A.G., Fard Yazdani, M., Ghavam Mostafavi, P. and Shahhosseiny, M.H., 2017. Analysis of symbiotic Symbiodinium in scleractinian corals off Northwestern Kish Island, Persian Gulf. *Marine Ecology*, 38(2), 12424. <https://doi.org/10.1111/maec.12424>
- Mashini, A.G., Parsa, S. and Mostafavi, P.G., 2015. Comparison of Symbiodinium populations in corals from subtidal region and tidal pools of northern coasts of Hengam Island, Iran. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 473, 202-206. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2015.09.007>
- Mieog, J.C., van Oppen, M.J., Cantin, N.E., Stam, W.T. and Olsen, J.L., 2007. Real-time PCR reveals a high incidence of Symbiodinium clade D at low levels in four scleractinian corals across the Great

- Barrier Reef: implications for symbiont shuffling. *Coral Reefs*, 26(3), pp.449-457. <https://doi.org/10.1007/s00338-007-0244-8>
- Pochon, X., Stat, M., Takabayashi, M., Chasqui, L., Chauka, L.J., Logan, D.D. and Gates, R.D., 2010. COMPARISON OF ENDOSYMBIOTIC AND FREE-LIVING SYMBIODINIUM (DINOPHYCEAE) DIVERSITY IN A HAWAIIAN REEF ENVIRONMENT 1. *Journal of Phycology*, 46(1), pp.53-65. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2009.00797.x>
- Reimer, J.D., Takishita, K., Ono, S., Maruyama, T. and Tsukahara, J., 2006. Latitudinal and intracolony ITS-rDNA sequence variation in the symbiotic dinoflagellate genus Symbiodinium (Dinophyceae) in *Zoanthus sansibaricus* (Anthozoa: Hexacorallia). *Phycological Research*, 54(2), pp.122-132. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1835.2006.00419.x>
- Shafeian, E., 2023. Study of seasonal change of antibacterial and antifungal activities of steroids in *Haliclona* sp. (in Lavan and Larak Island, Persian Gulf). *Ph.D. Thesis. Department of Marine Biology. Islamic Azad University, Science and Research Branch*. 47 p. (in Persian).
- 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(9), 1502-1506. <https://doi.org/10.5897/AJB10.1093>
- State, M. and 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 of Marine Science* 2011(1), p.730715. <https://doi.org/10.1155/2011/730715>
- Toller, W.W., Rowan, R. and Knowlton, N., 2001. Repopulation of zooxanthellae in the Caribbean corals *Montastraea annularis* and *M. faveolata* following experimental and disease-associated bleaching. *The Biological Bulletin*, 201(3), 360-373. <https://doi.org/10.2307/1543614>
- Veron, J.E.N. and Stafford-Smith, M., 2000. Corals of the World. Volumes 1-3. Australian Institute of Marine Science, Townsville, Australia, 1382.