



بررسی ریخت‌شناسی و مولکولی دو گونه ستاره دریایی

(Echinodermata: Asteroidea: Asterinidae) در سواحل چابهار (دریای عمان)

گیلان عطاران فریمان^{*}، نسرین پناهلو، فریبرز سهیلی

گروه زیست دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریانوردی چابهار

نوع مقاله:	چکیده
پژوهشی	در مطالعه حاضر ستاره‌های دریایی <i>Aquilonastra watersi</i> از منطقه بین جزر و مدی ساحل شنی-ماسه‌ای تیس واقع در غرب خلیج چابهار و ستاره‌های دریایی <i>Patiriella paradoxa</i> از عمق ۸-۷ متری منطقه کنارک واقع در شرق خلیج چابهار از بستر صخره‌ای در آبان ماه ۱۳۹۳ جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها جهت انجام عملیات آزمایشگاهی در ظروف پلاستیکی حاوی آب دریا قرار گرفته و به آزمایشگاه علوم دریایی چابهار منتقل شدند. نمونه‌ها ابتدا از لحاظ ریخت‌شناسی شناسایی شدند. سپس به منظور بررسی توالی ژنی استخراج DNA به روش CTAB انجام شد و پس از انجام PCR ژن میتوکندریایی 16S rRNA تعیین توالی شد. به منظور بررسی فیلوژنی گونه‌ها از آنالیز Maximum Likelihood استفاده گردید. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که با وجود تفاوت‌های ریخت‌شناسی، گونه <i>A. watersi</i> در گروه خواهری <i>A. batheri</i> قرار دارد. گونه <i>P. paradoxa</i> مطالعه حاضر، با گونه <i>P. regularis</i> در یک کلاد مونوفایلیتیک با بوت‌استرپ بالا حمایت شد.
تاریخچه مقاله: دریافت: ۹۶/۰۲/۱۶ اصلاح: ۹۶/۱۱/۱۳ پذیرش: ۹۶/۱۲/۱۴	
کلمات کلیدی:	
چابهار	
ستاره سانان	
فیلوژنی	
مورفولوژی	
16S rRNA	

مقدمه

ستاره‌های دریایی خانواده Astrinidae یکی از عناصر اجتماعات بی‌مهرگان آب‌های کم‌عمق جهان می‌باشند که به‌طور وسیعی در آب‌های اقیانوس هند پراکنش دارند (Clark and Rowe, 1971; Blake, 1990). Clark در سال ۱۹۹۳، ۱۸ جنس و ۱۱۷ گونه Astrinidae را از سراسر آب‌های جهان لیست کرد. همچنین Clark و Rowe در سال ۱۹۷۱، ۲۶ گونه ستاره دریایی Astrinidae را از آب‌های کم‌عمق غرب اقیانوس هند گزارش کردند. شکل کلی ستاره‌های دریایی جنس *Astrinids* به صورت پنج‌وجهی و یا ستاره مانند می‌باشد که با سطح شکمی پهن برای چسبیدن به سطوح سخت سازگار شده است (Clark and Downey, 1992).

یکی از ویژگی‌هایی که نقش اصلی را در واگرایی گونه‌ها ایفا می‌کند، تغییر سرعت در تاریخچه زندگی موجودات می‌باشد که ستاره‌های دریایی خانواده Astrinidae در مقایسه با دیگر ستاره‌های دریایی با این ویژگی ظاهر شده‌اند (Dartnall et al., 2003). مطالعات فیلوژنی Hart و همکاران (۱۹۹۷)، بر روی دوازده گونه از جنس *Patiriella* و *Asterina* (به‌طور غالب از اقیانوس هند) بر اساس نشانگر COI، ثابت کرد که این دو جنس با یکدیگر در یک کلاد مونوفایلیتیک (تک‌نیا) قرار نمی‌گیرند. Matsuoka در سال ۱۹۸۱، رابطه فیلوژنی بین ۵ گونه ستاره دریایی جنس *Asterina* را مورد بررسی قرار داد. در این بررسی داده‌های حاصل از نتایج فیلوژنتیکی، داده‌های حاصل از نتایج بررسی ریخت‌شناسی و تولیدمثلی را مورد تأیید قرار داد.

^{*} نویسنده مسئول، پست الکترونیک: Gilan.attaran@gmail.com

گونه‌های مختلفی از ستاره‌سانان در سواحل ایران وجود دارند، اما تاکنون مطالعه‌ای جامع و مستقل بر روی شناسایی گونه‌های و فیلولونی آن‌ها صورت نگرفته است. در این بررسی مطالعه فیلولونی آن‌ها برای اولین بار در ایران صورت گرفته است. تاکنون تنها مطالعات صورت گرفته بر روی ستاره‌سانان اکولوژیکی بوده و در زمینه‌های شناسایی، پراکنش و تنوع انجام گرفته است (Esfandyarpoor, 2014; Izadi, 2007; Kuranloo, 2007; Khaleghi, 2010; Pourvali, 2013; Pourvali *et al.*, 2014). فون ستاره‌های دریایی خانواده Astrinidae ثبت شده برای سواحل جنوبی ایران شامل: *A. iranica* (Mortensen, 1940;) و *A. samyni* (Clark and Rowe, 1971; Price, 1981; 1982; 1983) *A. burtoni* (O'Loughlin and Rowe, 2006) می‌باشد. در تحقیق حاضر گونه‌های *A. watersi* و *P. paradoxa* برای اولین بار برای سواحل جنوبی ایران و چابهار ثبت شد. پراکنش گونه *A. watersi* از منطقه بین جزر و مدی تا آب‌های کم‌عمق غرب اقیانوس هند شامل دریای عرب، دریای سرخ و مصر (حدود ۱۰ متر)، بر روی بسترهای صخره‌ای، آب‌سنگ‌های مرجانی و جلبک‌ها می‌باشد (O'Loughlin and Rowe, 2006). گونه *P. paradoxa* برای اولین بار توسط Rowe و Campbell در سال ۱۹۹۷ از خلیج دوفار عمان گزارش شد. متخصصان سیستماتیک برای کشف ارتباط تکاملی بین گونه‌ها از داده‌های مورفولوژیکی و مولکولی استفاده می‌کنند. آنان با قرار دادن این داده‌ها در کنار هم سعی می‌کنند تا توالی صحیح اجداد مشترک در هر گروه را تعیین کنند (Khosravi, 1996). از آنجایی که شناسایی موجودات بر اساس داده‌های ریخت‌شناسی پایه‌ای برای اغلب تحقیقات اکولوژیکی، فیزیولوژیکی و آناتومی است، تطبیق داده‌های متنوع ژنتیکی و ریخت‌شناسی اصولی برای فهم ما از بیولوژی بی‌مهرگان دریایی می‌باشد (Flowers and Flotz, 2001). هدف از این مطالعه شناسایی ستاره‌های دریایی تحت بررسی ریخت‌شناسی و مولکولی و مقایسه با سایر گونه‌های مناطق گرمسیری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

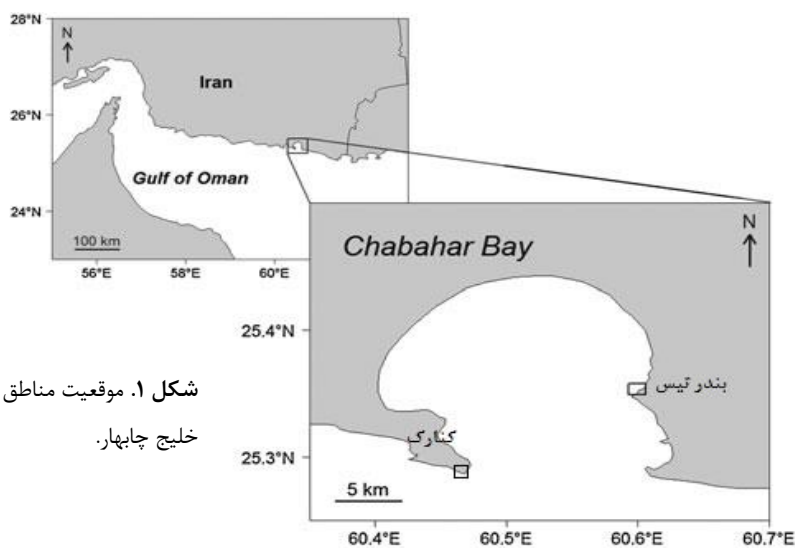
نمونه‌برداری

ستاره‌های دریایی *Aquilonastra watersi* از منطقه بین جزر و مدی ساحل شنی-ماسه‌ای تیس واقع در غرب خلیج چابهار (E: ۶۰°۳۶'۰۰،۳۶" و N: ۲۵°۲۰'۵۷،۵۸") به طور دستی جمع‌آوری شدند. ستاره‌های دریایی *Patiriella paradoxa* در آبان ماه ۱۳۹۳، از عمق ۷-۸ متری منطقه کنارک واقع در شرق خلیج چابهار (E: ۶۰°۲۵'۴۳،۶۸" و N: ۲۵°۱۸'۲،۵۱")، از بستر صخره‌ای-سنگی با غواصی جمع‌آوری شدند (شکل ۱). تعدادی نمونه از هر گونه جهت انجام عملیات آزمایشگاهی در ظروف پلاستیکی حاوی آب دریا قرار گرفت و به آزمایشگاه منتقل شد. نمونه‌ها پس از تثبیت در بافر فرمالین ۴٪ به الکل ۷۵٪ منتقل شدند و براساس شاخص‌های شناسایی، با استریو میکروسکوپ مدل T6AL250V (21V150W) مجهز به دوربین مدل C-DS مورد بررسی قرار گرفتند. شناسایی ریخت‌شناسی نمونه‌ها با استفاده از چندین کلید معتبر انجام گرفت (Campbell and Rowe, 1997; O'Loughlin *et al.*, 2002; O'Loughlin *et al.*, 2003; O'Loughlin and Waters, 2004; O'Loughlin and Rowe, 2005). سایر نمونه‌ها در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری و برای عملیات مولکولی آماده شدند.

استخراج DNA

استخراج DNA به روش CTAB (Panahloo, 2016)، با استفاده از پاهای لوله‌ای انجام شد. تکثیر ژن ناحیه 16S rRNA با استفاده از آغازگرهای 16Sbr-F (CCG GTC T(C/G)A (GA/AC)T CAG ATC ACG) و 16Sar-R (CGC CTG TTT) (Palumbi, 1996) انجام شد. در هر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز (PCR)، ۱۰ نانوگرم DNA به عنوان نمونه الگو، 20mM MgCl₂ 10x Buffer، 100mM dNTPs، 5X PCR Buffer، 5unit/μl Taq DNA Polymerase و ۱۰ پیکومول از آغازگرهای رفت و برگشت در حجم ۵۰ میکرو لیتری استفاده شد. برنامه‌ی واکنش‌های زنجیره‌ای پلی‌مرز شامل واسرشت سازی اولیه به مدت ۲ دقیقه در درجه حرارت ۹۶ درجه سانتی‌گراد، واسرشته سازی به مدت ۴۵ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، اتصال آغازگرها به مدت ۱ دقیقه در ۴۹ درجه سانتی‌گراد، بسط پلی‌مرز به مدت ۹۰ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد و بسط نهایی به مدت ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد، در ۳۵ سیکل انجام شد. پس از ارزیابی کیفیت

محصولات به دست آمده از واکنش PCR (دستگاه ترموسایکلر مدل ۹۶ چاهکی مدل 5331) توسط ژل آگارز یک درصد، برای تعیین توالی به شرکت Life Bioscience کشور انگلیس فرستاده شد. سپس نتایج به دست آمده از تعیین توالی محصولات با استفاده از نرم‌افزار Bioedit (Hall, 1999) ویرایش و سپس توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار Clustal W هم‌ردیف گردیدند. تجزیه و تحلیل درخت فیلوژنتیک با استفاده از ماتریس‌های هم‌ردیف‌سازی شده به کمک نرم‌افزار MEGA 5 (Kumar et al., 1994) با ۱۰۰۰ بوت‌استرپ انجام شد. توالی گونه‌های مورد بررسی در بانک ژن (GenBank) ثبت خواهد شد. به منظور بررسی فیلوژنی گونه‌ها از آنالیز Maximum Likelihood استفاده گردید. در این بررسی گونه‌های مقایسه‌ای بر اساس بیش‌ترین تشابه ترادف نوکلوتیدی با گونه مورد نظر از بانک ژن (GenBank) استخراج شد. ستاره دریایی گونه‌ی *Crossaster papposus* در جنس *Crossaster* از خانواده Solasteridae نیز با کمترین ترادف نوکلوتیدی به عنوان برون گروه (یک گروه مرجع برای شناسایی روابط خویشاوندی بین موجودات مونوفایلیتیک) در نظر گرفته شده است.



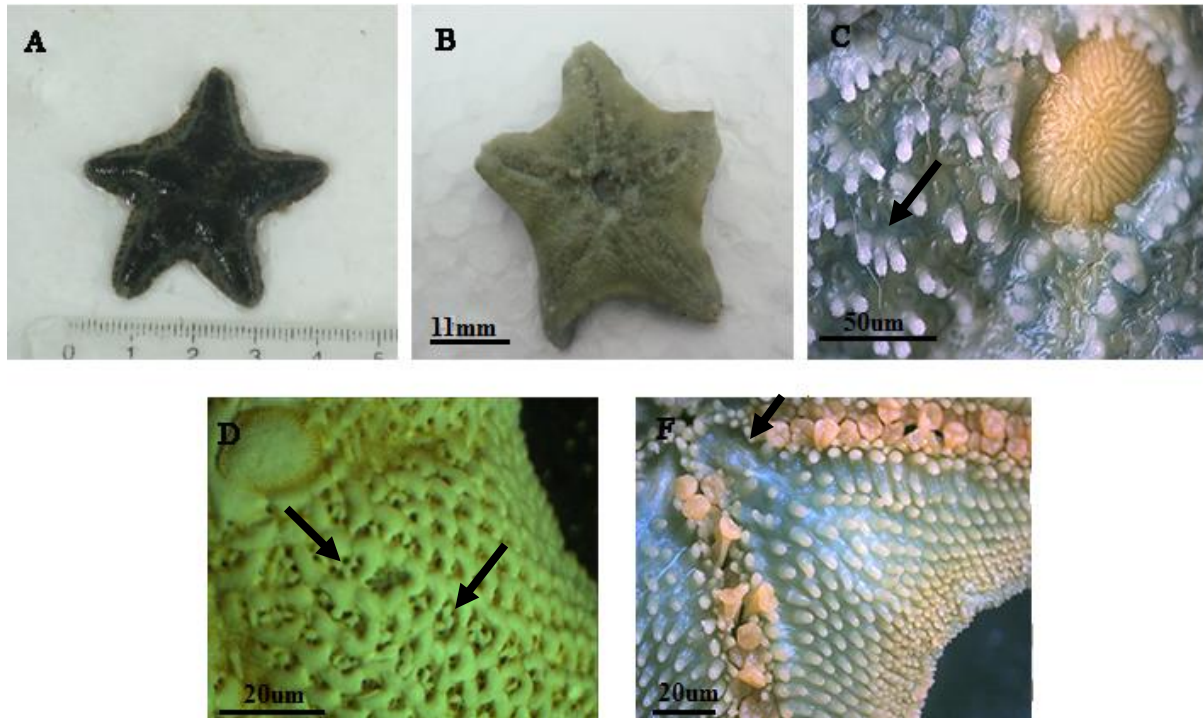
شکل ۱. موقعیت مناطق نمونه‌برداری شده در خلیج چابهار.

نتایج

ریخت‌شناسی *Patiriella paradoxa*

شکل کلی ستاره دریایی *Patiriella paradoxa*، ستاره مانند و میانگین قطر دیسک مرکزی ۱۱ میلی‌متر و میانگین طول بازو ۲۰ میلی‌متر می‌باشد (n:۲۰؛ دارای ۵ بازوی (به ندرت ۶-۴) مخروطی می‌باشد که در پایه پهن و به سمت نوک بازو باریک شده است؛ همچنین انتهای نوک بازو گرد شده است؛ دارای پوشش پوستی قابل توجه، سطح شکمی پهن و سطح پشتی برآمده شده است (شکل ۲، A و B). یک مادرپورایت بیضی شکل مشخص در منطقه بین بازویی قرار دارد که توسط خارچه‌ها احاطه شده است (شکل ۲، C). فاقد پدیسلرایای سطح پشتی و شکمی می‌باشد. صفحات پشتی فلس فلس بر روی یکدیگر قرار دارند و در دو شکل متفاوت بر روی بازو قرار گرفته‌اند. صفحات پشتی میانه بازو در ردیف‌های نامنظم و صفحات کناره‌های پایینی بازو در ردیف‌های منظم قرار دارند. مناطق پاپولا بر روی سطح پشتی توسعه‌یافته‌تر از مناطق غیر پاپولا هستند؛ مناطق پاپولا به نسبت بزرگ هستند، ۳-۶ پاپولای بزرگ و تعداد کمی صفحات ثانویه در هر فضا قرار دارد (شکل ۲، D). صفحات پشتی مبدأیی در ردیف‌های نامنظم قرار گرفته‌اند، برجستگی‌های شیشه‌ای بر روی صفحات پشتی به جز صفحات مبدأیی قرار دارد. خارچه‌های پشتی دانه‌ای شکل می‌باشند؛ ۴-۵ خارچه بر روی هر صفحه پشتی قرار دارد. صفحات Supermarginal و Inferomarginal در ردیف‌های منظم قرار دارند؛ شکل خارچه‌های سطح آن‌ها مشابه خارچه‌های سطح پشتی می‌باشد. صفحات Supermarginal بزرگ‌تر از صفحات Inferomarginal می‌باشند. صفحات سطح شکمی در ردیف‌های مورب قرار دارند؛ یک خار انگشتی شکل بر روی هر صفحه قرار دارد که ممکن است در صفحات دورتر ۲ خار در هر صفحه نیز مشاهده شود.

حدود ۶ خار دهانی حضور دارد، همچنین فاقد خارهای فرعی دهانی می‌باشد (شکل ۲، F). در هر شیار آمبولاکرال ۲ خار درونی و ۱ خار بلند بیرونی قرار دارد؛ همچنین در ردیف‌های ناکامل ۱ خار کوتاه ستونی بر روی برخی صفحات فوقانی آمبولاکرال قرار دارد. صفحات Superambulacral و Superactinal حضور دارند. سوراخ‌های تناسلی در سطح شکمی قرار ندارد و در سطح پشتی نیز قابل تشخیص نمی‌باشد. سطح پشتی گونه به رنگ سبز تیره می‌باشد که در ناحیه دیسک مرکزی و سطح فوقانی بازو به رنگ سیاه می‌باشد (شکل ۲، A).

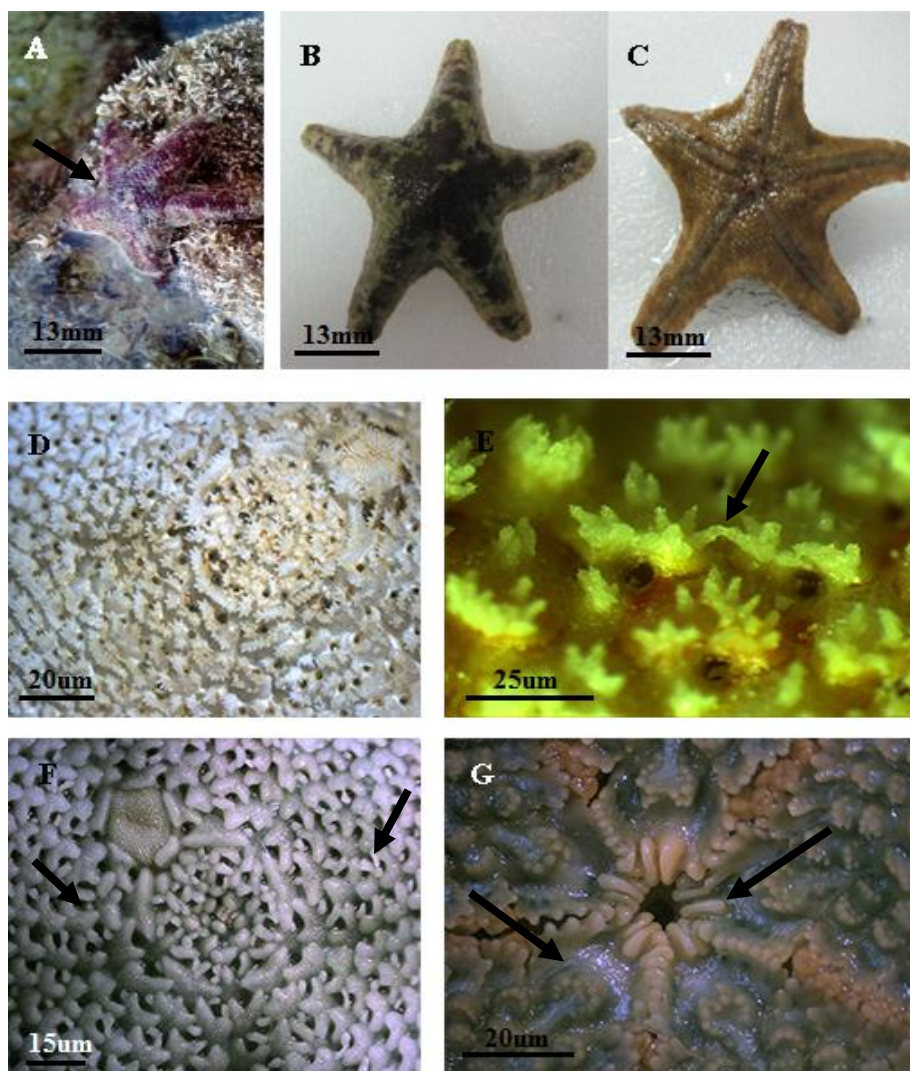


شکل ۲. ریخت‌شناسی *Patiriella paradoxa*: (A) سطح پشتی گونه (نمونه زنده در آزمایشگاه)، (B) سطح شکمی گونه (نمونه زنده در آزمایشگاه)، (C) مادرپورایت و خارچه‌های پشتی (با پیکان مشخص شده)، (D) پاپولا (پیکان سمت چپ) و صفحات ثانویه (پیکان سمت راست) (نمونه خشک شده)، (E) آمبولاکرال و منطقه بین‌بازویی، فاقد خار دهانی (با پیکان مشخص شده) (نمونه نگه‌داری شده در فرمالین).

ریخت‌شناسی *Aquilonastra watersi*

شکل کلی ستاره دریایی *Aquilonastra watersi* ستاره مانند و میانگین قطر دیسک مرکزی ۱۳ میلی‌متر و میانگین طول بازو ۲۶ میلی‌متر می‌باشد (n: ۱۱)؛ دارای ۵ بازوی انگشتی شکل فرعی مجزا نامتقارن می‌باشد که در پایه پهن و به سمت نوک بازو باریک شده است؛ حاشیه بین بازویی به‌طور شدیدی کج شده است؛ سطح شکمی پهن و سطح پشتی برآمده شده است (شکل ۳، B و C). مادرپورایت مشخص می‌باشد که توسط خارچه‌ها احاطه شده است (شکل ۳، D). بر روی سطح پشتی تعداد کمی پدیسلاریا در مناطق بین بازویی قرار دارد (شکل ۳، E). صفحات پشتی فلس فلس و در ردیف‌های منظم بر روی یکدیگر قرار دارند. فضای پاپولار کوچک می‌باشد و تنها یک پاپولا در هر فضا قرار دارد؛ دارای تعداد کمی صفحات ثانویه می‌باشد (شکل ۳، F). صفحات پشتی مبدایی در ردیف‌های نامنظم قرار گرفته‌اند. برجستگی‌های شیشه‌ای بر روی صفحات پشتی قرار دارد. خارچه‌های پشتی مخروطی شکل می‌باشند؛ ۱۲-۵ خارچه در دسته‌های حدود ۴ تایی بر روی هر صفحه پشتی قرار دارد. صفحات Supermarginal کوچک‌تر از صفحات Inferomarginal می‌باشند؛ هر دو صفحات در ردیف‌های منظم قرار دارند؛ حدود ۱۶ خار بر روی هر دو صفحات قرار دارد که خارهای صفحات Inferomarginal ضخیم‌تر می‌باشد. صفحات سطح شکمی

در ردیف‌های طولی قرار دارند؛ ۱۴-۵ خار مخروطی ضخیم بر روی هر صفحه منطقه بین بازویی قرار دارد که در صفحات دورتر ۷ خار مشاهده می‌شود. دارای ۱۲ خار دهانی و ۱۰ خار فرعی دهانی می‌باشد (شکل ۳، G). در هر شیار آمبولاکرال ۶ خار قرار دارد؛ همچنین ۵ خار به‌طور کامل بر روی هر صفحه فوقانی آمبولاکرال قرار دارد. صفحات Superactinal و Superambulacral حضور دارند. سوراخ‌های تناسلی در سطح پشتی قرار دارد. قسمت مرکزی دیسک و روی بازو به صورت خالدار به رنگ قرمز می‌باشد (شکل ۲، C).

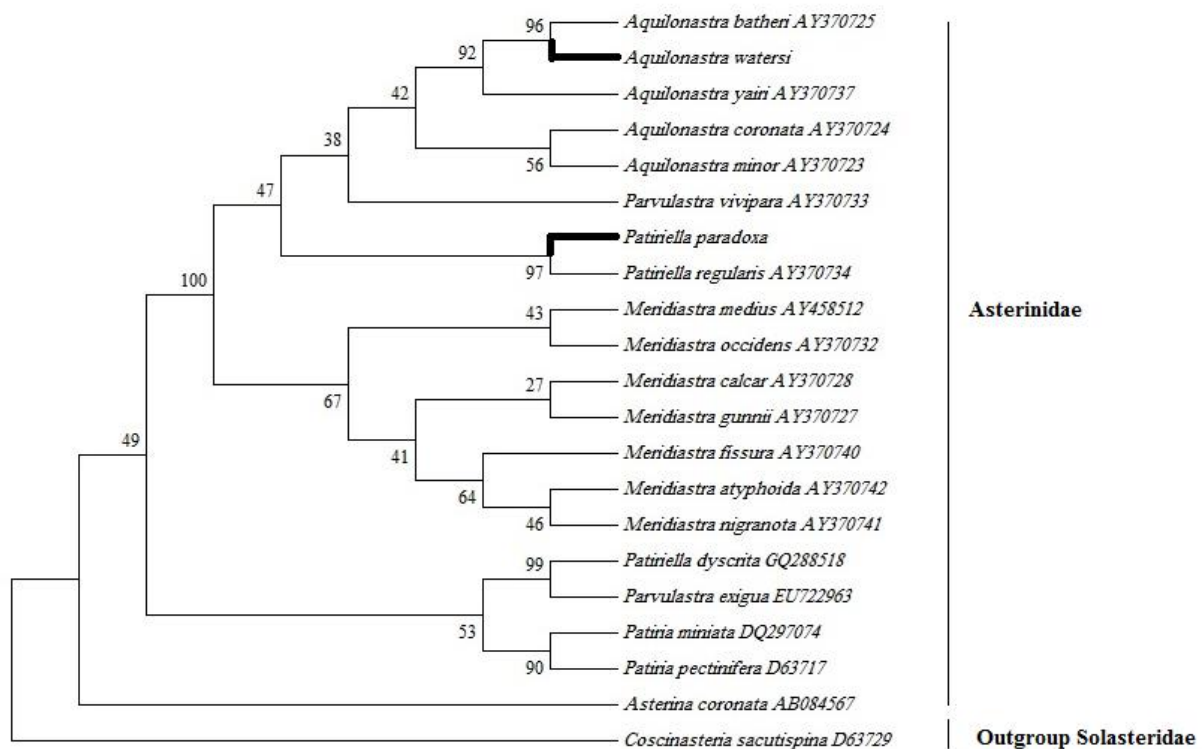


شکل ۳. ریخت‌شناسی *Aquilonastra watersi* (A) نمونه در محیط طبیعی، (B) سطح پشتی گونه (نمونه زنده در آزمایشگاه)، (C) سطح شکمی گونه (نمونه زنده در آزمایشگاه)، (D) مادرپورایت و خارچه‌های پشتی (نمونه خشک شده)، (E) خارچه‌های سطح پشتی و پدیسلاریا (با پیکان مشخص شده) (نمونه خشک شده)، (F) پاپولا (پیکان سمت چپ) و صفحات ثانویه (پیکان سمت راست) (سطح پشتی از خارچه‌ها زوده شده است)، (G) خارهای دهانی (پیکان سمت راست) و خارهای فرعی دهانی (پیکان سمت چپ) (نمونه نگهداری شده در فرمالین).

آنالیزهای فیلوژنتیکی

درخت فیلوژنی گونه‌های *Aquilonastra watersi* و *Patiriella paradoxa* با روش Maximum Likelihood (ML) رسم گردید. مقایسه توالی ژنی و هم‌ردیف‌سازی و آنالیزهای تبارزایی هر دو گونه با ۱۹ گونه ستاره دریایی از بانک جهانی ژن در منطقه ژنی مشابه مقایسه گردید. گونه‌هایی که در این درخت فیلوژنی آمده‌اند متعلق به خانواده Asterinidae شامل ۶ جنس *Aquilonastra*, *Meridiastra*, *Asterina*, *Parvulastra*, *Patiria* و *Patiriella* می‌باشند. هر دو گونه *P. Paradoxa* و

A. watersi با ۴۷٪ بوت استراپ در یک کلاد قرار گرفتند. گونه *P. Paradoxa* با ۹۷٪ بوت استراپ با بیش‌ترین شباهت ژنتیکی در کلاد جنس *Patiriella* در گروه خواهری گونه *P. regularis* حمایت شد. شایان ذکر است که تعداد توالی ژنی کم‌تری از گونه‌های جنس *Patiriella* در بانک ژن ثبت شده بود که امکان مقایسه‌ی گونه *P. Paradoxa* با سایر گونه‌های هم‌جنس خود که بیش‌ترین شباهت ریخت‌شناسی را با یکدیگر داشتند، فراهم نشد. گونه *A. watersi* با ۹۶٪ بوت استراپ در کلاد جنس *Aquilonastra* در گروه خواهری گونه *A. batheri* حمایت شد؛ گونه *A. watersi* با توجه به بررسی ریخت‌شناسی بیش‌ترین شباهت را با دو گونه *A. batheri* و *A. yairi* نشان داد که با ۹۲٪ بوت استراپ در کلاد مونوفایلیتیک (تک‌نیا) جنس *Aquilonastra* قرار گرفت. در این بررسی ستاره دریایی گونه‌ی *Crossaster papposus* در جنس *Crossaster* از خانواده Solasteridae به عنوان برون گروه در نظر گرفته شد (شکل ۴).



شکل ۴. فیلوژنی گونه *Aquilonastra watersi* و *Patiriella paradoxa* با استفاده از روش *Maximum Likelihood* مدل Tamura-Nei

بحث

جنس *Patiriella* یکی از غنی‌ترین گونه‌ها در خانواده Astrinidae می‌باشد (Rowe and Gates, 1995). به جز *P. fimbriata* که از منطقه بین جزر و مدی تا عمق ۳۰۰ متر پراکنده شده‌اند، اغلب گونه‌های *Patiriella* درون جزر و مدی می‌باشند و بیشتر تا حدود عمق ۳۰ متری یافت می‌شوند. اگرچه برخی گونه‌های *Patiriella* در جنوب آفریقا، نیوزیلند و غرب اقیانوس هند وجود دارند، ولی اغلب آن‌ها در آب‌های معتدله پراکندگی دارند (Dartnall, 1971). بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی، جغرافیایی، اکولوژیکی و تولیدمثلی، جنس *Patiriella* به سه زیر گروه *P. regularis*، *P. gunnii* و *P. exigua* تقسیم‌بندی شده است.

ویژگی‌های تشخیصی *P. paradoxa* شامل: شکل خارچه‌های پشتی، عدم حضور پدیسلاریا، تعداد صفحات ثانویه و پاپولا در هر فضا، عدم حضور خارهای فرعی دهانی و حضور خارهای صفحات فوقانی آمبولاکرال در ردیف‌های ناتمام می‌باشد. بر اساس ترتیب و شکل صفحات اسکلتی و ویژگی‌های ریخت‌شناسی بدون شک گونه *P. paradoxa* تحقیق حاضر هم‌جنس با

P. regularis می‌باشد. تفاوت این گونه با اکثریت هم‌جنس‌های خود، در شکل صفحات روی بازو، عدم حضور خارهای فرعی دهانی و تعداد کم صفحات ثانویه و پاپولا در هر فضا می‌باشد (Campbell and Rowe, 1997). همچنین چهار گونه جنس *Patiriella* که فاقد خار فرعی دهانی می‌باشند، از سواحل جنوبی استرالیا گزارش شده است. گونه *P. parvivipara* کوچک، زنده‌زا و پنج‌وجهی می‌باشد. ستاره‌های دریایی کوسنی شکل *P. brevispina* و *P. gunni* دارای شش بازوی نامشخص می‌باشند که شکل کلی آن‌ها به شکل کوسن و یا شش‌وجهی می‌باشد. همچنین این سه گونه در افزایش دو خار بر روی هر صفحه مبدایی ناحیه بین بازویی سطح شکمی و در گونه *P. gunni* وجود ۲ خار بر روی هر صفحه فوقانی آمبولاکرال با گونه *P. paradoxa* متفاوت می‌باشند. گونه *P. paradoxa* با توجه به ویژگی‌های ریخت‌شناسی ممکن است با گونه *P. calcar* رابطه نزدیکی داشته باشد. تفاوت بین *P. paradoxa* با *P. calcar* بیشتر در ظریف بودن و ترتیب صفحات پشتی و داشتن ۵ بازو به جای ۷-۱۱ بازوی کوتاه می‌باشد. واضح است که جدایی جغرافیایی *P. paradoxa* از هم‌جنس‌های خود باعث تکامل مجموعه ویژگی‌های ریخت‌شناسی و در نهایت تمایز آن از هم‌جنس‌های خود شده است (Campbell and Rowe, 1997). تفاوت‌های تشخیصی بین گونه‌های *Patiriella* در جدول ۱ بیان شد.

نمونه مورد بررسی در تحقیق حاضر مشابه با *P. paradoxa* می‌باشد (Campbell and Rowe, 1997). نمونه‌های حاضر در این مطالعه به‌طور میانگین دارای قطر دیسک مرکزی ۱۱ میلی‌متر و طول بازو ۲۰ میلی‌متر می‌باشد. Rowe و Campbell در سال ۱۹۹۷، تنها یک فرد از این نمونه را با طول بازو ۱۷/۸ میلی‌متر و طول دیسک مرکزی ۹ میلی‌متر گزارش کرد. نمونه‌های حاضر در این مطالعه دارای طول بازو و دیسک مرکزی متغیری می‌باشند که طی بررسی‌های ریخت‌شناسی هیچ تفاوتی در ویژگی‌های شناسایی مشاهده نشد و به نظر می‌رسد که طول بازو و دیسک مرکزی متغیر تأثیری در تغییر ویژگی‌های ریخت‌شناسی ندارد. برای اولین بار نمونه زنده مورد بررسی در مطالعه حاضر به رنگ سبز تیره که سطح دیسک مرکزی و سطح فوقانی بازوها به رنگ مشکی می‌باشد، گزارش شد. رنگ نمونه زنده در *P. paradoxa* خلیج دوفار عمان ثبت نشد (Campbell and Rowe, 1997).

در این مطالعه، *P. paradoxa* برای اولین بار از منطقه زیر جزر و مدی کنارک با بستر صخره‌ای از عمق ۸-۷ متری گزارش شد. همچنین تاکنون این گونه از سواحل جنوبی ایران گزارش نشده است. با توجه به توزیع این نمونه در خلیج دوفار عمان، حضور این گونه در این منطقه دور از انتظار نمی‌باشد. Rowe و Campbell (۱۹۹۷)، این گونه را برای اولین بار با فراوانی کم از خلیج دوفار عمان گزارش کردند؛ درحالی‌که فراوانی این نمونه در منطقه مورد مطالعه بالا بود. جریان‌ات چرخشی آب (Upwelling) حداقل برای بخشی از سال شرایط معتدلی را برای برخی از سواحل گرمسیری جهان فراهم می‌کند که مناسب برای جنس *Patiriella* می‌باشد (Campbell and Rowe, 1997). از آنجایی که خلیج چابهار دارای شرایط آب و هوایی گرمسیری است و در معرض ورزش بادهای مانسون قرارداد، این فرضیه می‌تواند دلیلی بر ایجاد شرایط مناسب برای پراکنش *P. paradoxa* در این منطقه باشد.

ستاره دریایی *P. paradoxa* از منطقه زیر جزر و مدی کنارک مورد بررسی مولکولی قرار گرفت و جایگاه آن در درخت فیلوژنتیکی مشخص شد. این گونه با ۱۶ گونه ستاره دریایی از دو خانواده Asterinidae شامل پنج جنس *Patiriella*، *Parvulastra*، *Aquilonastra* و *Asteropsis* و خانواده Odontasteridae شامل سه جنس *Odontaster*، *Diplodontias* و *Asterodon* مقایسه گردید که در آنالیز ML با ۹۷ درصد بوت استرپ با *P. regularis* در یک گروه خواهری حمایت شد. درخت فیلوژنی گونه *P. paradoxa* با درصد بوت استرپ متوسطی از مونوفیلیتیک بودن جنس *Patiriella* با جنس‌های *Aquilonastra* و *Parvulastra* پشتیبانی کرد. در مطالعات O'Loughlin و Rowe (۲۰۰۵)، *P. regularis* با ۵۷ درصد بوت استرپ در کلاد مونوفیلیتیک خانواده Astrinidae شامل جنس‌های *Aquilonastra* و *Cryptasterina* قرار گرفت.

همان‌طور که ذکر شد این گونه از لحاظ ریخت‌شناسی هم‌جنس با *P. regularis* می‌باشد و با سایر گونه‌های این جنس مقایسه گردید که از لحاظ تفاوت‌هایی که ذکر شد از هم متمایز گردیدند (جدول ۱). طی بررسی درخت فیلوژنتیکی، *P. paradoxa* با *P. regularis* در یک گروه خواهری قرار گرفت که به نظر می‌رسد تأییدی بر نتایج ریخت‌شناسی باشد. بنابراین حمایت شدن گونه *P. paradoxa* در کلاد مربوط به گونه *P. regularis* منطقی به نظر می‌رسد. با توجه به اینکه هیچ کار ژنتیکی بر روی

گونه *P. paradoxa* در دنیا انجام نشده است ما نمی‌توانیم ساختار ژنتیکی گونه خلیج چابهار را با دیگر مناطق گرمسیری مورد مقایسه قرار دهیم و تحلیل دقیق‌تری ارائه دهیم.

ستاره‌های دریایی جنس *Aquilonastra* به‌آسانی توسط شکل ستاره مانند، بازوهای مجزا، وجود یک پاپولای بزرگ در ردیف‌های طولی در کناره‌های بازو و اغلب دارای خار و خارچه‌های شیشه‌ای و ظریف قرار گرفته به‌صورت دسته‌ای تشخیص داده می‌شوند (O'Loughlin and Rowe, 2005; O'Loughlin and Rowe, 2006). ویژگی‌های تشخیصی گونه *A. watersi* شامل: شکل بازوها، شکل خارچه‌های سطح پشتی، حضور تعداد کم صفحات ثانویه و پاپولا در هر فضا و حضور تعداد کم پدیسلاریا محدود به مناطق بین بازویی می‌باشد (O'Loughlin and Rowe, 2006). در مطالعه حاضر ستاره دریایی *A. watersi* برای اولین بار از منطقه بین جزر و مدی ساحل تیس و پایگاه دریایی کنارک با پوشش سنگی-قلوه‌سنگی سواحل چابهار گزارش شد. با توجه به پراکندگی این گونه در محدوده دریای عرب حضور این گونه در این منطقه دور از انتظار نمی‌باشد. Rowe و O'Loughlin (۲۰۰۶)، پراکنش این گونه را از منطقه بین جزر و مدی تا آب‌های کم‌عمق غرب اقیانوس هند شامل: دریای عرب، دریای سرخ و مصر (تا حدود ۱۰ متر)، بر روی بسترهای صخره‌ای، آبسنگ‌های مرجانی و جلبک‌ها گزارش کردند. نمونه مطالعه حاضر در زمانی که جزر کامل اتفاق می‌افتد از قسمت پایین جزر و مدی از روی درز و شکاف‌های روی سطوح صخره‌ای و آبگیرهای کوچک جمع‌آوری شدند.

جدول ۱. مقایسه ویژگی‌های شناسایی *Patiriella paradoxa* با گونه‌های جنس *Patiriella*

ویژگی‌های شناسایی	^a <i>P. paradoxa</i>	^b <i>P. paradoxa</i>	^c <i>P. inornata</i>	^d <i>P. oliveri</i>
رنگ نمونه زنده	سبز تیره	ثابت نشده	ثابت نشده	خارچه‌های پشتی آبی، صفحات زیرین نارنجی (نمونه خشک)
شکل بازو	پهن، مخروطی، نوک بازو گرد	پهن، مخروطی، نوک بازو گرد	مخروطی، نوک بازو گرد	کوتاه، مخروطی، نوک بازو نقطه‌ای
شکل خارچه‌های پشتی	دانه‌ای	دانه‌ای	کروی	کوتاه نقطه‌ای
تعداد خارچه‌ها در هر صفحه	در یک ردیف، ۴-۵	در یک ردیف، ۴-۵	-	در دو ردیف تا حدود ۲۰
تعداد صفحات ثانویه و پاپولا	در هر فضا ۳-۶	در هر فضا ۳-۶	تعداد زیادی در هر فضا، ۱۲ یا بیشتر	در هر فضا ۱
ردیف‌های صفحات مرکزی	نامنظم	نامنظم	نامنظم	منظم
خارهای ناحیه بین بازویی سطح شکمی	ستونی، ضخیم، در هر صفحه ۱	ستونی، ضخیم، در هر صفحه ۱	مخروطی کوتاه، در هر صفحه ۲-۳ (معمولاً ۱)	کمی متورم، در هر صفحه ۱
تعداد خارهای شیار آمبولاکرال	به‌طور متداول ۲	به‌طور متداول ۲	۲-۳ خار بسیار کوچک	به‌طور متداول ۲
خارهای فوقانی صفحات آمبولاکرال	در ردیف‌های ناقص	در ردیف‌های ناقص	در ردیف‌های کامل	در ردیف‌های کامل
خار فرعی دهانی	عدم حضور	عدم حضور	حاضر	حاضر

منابع: (a) مطالعه حاضر، (b) Campbell (1997) Rowe، (c) Livingstone (1933)، (d) McKnight (1968).

با توجه به بررسی دقیق ریخت‌شناسی، نمونه یافت شده در این بررسی، مشابه با گونه *A. watersi* است. Rowe و O'Loughlin (۲۰۰۶)، رنگ گونه *A. watersi* را به صورت خال‌های کم‌رنگ قهوه‌ای، قرمز-قهوه‌ای، آبی-خاکستری گزارش کردند.

در صورتی که در این بررسی رنگ قسمت مرکزی دیسک و روی بازو در نمونه‌های یافت شده به صورت خالدار قرمز و کناره‌های بازو خاکستری می‌باشد (شکل ۴-۷). در نمونه مشاهده شده در این بررسی تعداد خارهای سطح شکمی متفاوت با یافته‌های O'Loughlin و Rowe (۲۰۰۶) (تعداد خارهای سطح دهانی را حدود: ۱۲، خار فرعی دهانی: ۱۰ و خار صفحه فوقانی آمبولاکرال: ۵) بود.

با توجه به کلیدهای شناسایی O'Loughlin و Waters (۲۰۰۴) و O'Loughlin و Rowe (۲۰۰۶)، این گونه از سایر گونه‌های جنس *Aquilonastra* قابل تشخیص می‌باشد. در گونه *A. batheri* تعداد زیادی پدیسلاریا در مناطق بین بازویی سطح پشتی قرار گرفته و خارچه‌ها به صورت گروهی در چندین دسته بر روی صفحات پشتی می‌باشند (O'Loughlin and Waters, 2004; O'Loughlin and Rowe, 2006) که در گونه *A. watersi* یافت شده از سواحل چابهار، اندازه کوچک نمونه نسبت به *A. batheri* حضور تعداد کم پدیسلاریا در مناطق بین بازویی و قرار گرفتن خارچه‌ها به صورت گروهی در دسته‌های کمتر بر روی صفحات پشتی، این گونه را از *A. batheri* متمایز می‌کند. در گونه *Aquilonastra samyni* خارچه‌های سطح پشتی کوتاه و ضخیم، دارای هفت خار بر روی شیار آمبولاکرال و هشت خار بر روی صفحات فوقانی آمبولاکرال و خارهای سطح شکمی کیسه‌ای شکل، کوتاه و بی‌نوک می‌باشد (O'Loughlin and Rowe, 2006)؛ که در گونه *A. watersi* یافت شده از سواحل چابهار، خارچه‌های سطح پشتی مخروطی شکل، دارای پنج خار بر روی شیار آمبولاکرال و شش خار بر روی صفحات فوقانی آمبولاکرال و خارهای سطح شکمی به شکل مخروطی ضخیم می‌باشد. در گونه *A. burtonii* بازوها متقارن، حضور تعداد زیاد صفحات ثانویه و مادرپورایت در منطقه بین بازویی نامشخص می‌شد (O'Loughlin and Rowe, 2006)؛ که در نمونه *A. watersi* یافت شده از سواحل چابهار، بازوها نامتقارن، تعداد صفحات ثانویه کم و مادرپورایت در منطقه بین بازویی مشخص می‌باشد. در گونه *A. coronate* حضور تعداد زیاد پدیسلاریا بر روی سطح پشتی، ناصاف بودن سطح پشتی با حضور صفحات پاکسیلایی شکل و حضور خارچه‌های سطح پشتی در دو شکل متفاوت که خارچه‌های روی صفحات حاشیه‌ای نازک و کوتاه و به صورت دسته‌ای نمی‌باشند و خارچه‌های ضخیم، بلند انگشتی شکل که در رأس صفحات قرار گرفته‌اند (O'Loughlin and Rowe, 2006; Waters, 2004)؛ که در نمونه *A. watersi* یافت شده از خلیج چابهار، صفحات سطح پشتی صاف، حضور تعداد کم پدیسلاریا در مناطق بین بازویی و قرار گرفتن خارچه‌ها به صورت گروهی و در یک شکل بر روی صفحات سطح پشتی می‌باشد. در گونه *A. minor* حضور خارچه‌های روی سطح شکمی در گروه‌های کوچک (تا حدود ۴ عدد در هر گروه) در یک یا دو ردیف و صفحات ثانویه کمیاب می‌باشد (O'Loughlin and Rowe, 2006)؛ که در نمونه *A. watersi* یافت شده از خلیج چابهار، حضور ۱۲-۵ خارچه در دسته‌های حدود ۴ تایی بر روی هر صفحه پشتی و واجد صفحات ثانویه می‌باشد.

گونه *A. watersi* از منطقه بین جزرومدی تیس مورد بررسی مولکولی قرار گرفت و موقعیت آن در درخت فیلوژنتیکی تعیین شد. طی بررسی مولکولی این گونه در آنالیز ML با ۹۶ درصد بوت استرپ در کلاد در کلاد جنس *Aquilonastra* در گروه خواهری گونه *A. batheri* حمایت شد. با توجه به تفاوت‌های ریخت‌شناسی، گونه *A. watersi* از دو گونه *A. coronata* و *A. minor* متمایز گردید. درخت فیلوژنی گونه *A. watersi* از مونوفایلیتیک بودن این جنس حمایت کرد. همچنین جنس *Aquilonastra* و *Meridiastra* در یک کلاد کلی مونوفایلیتیک قرار گرفتند. با توجه به اینکه مطالعه فیلوژنی گونه *A. watersi* تاکنون در جهان انجام نگرفته است، برای اولین بار فیلوژنی این گونه در ایران انجام گرفت. در طبقه‌بندی *Astrinidae* بر پایه ویژگی‌های ریخت‌شناسی و مولکولی تجدیدنظر شده است. اساس مقایسه برای گروه‌های گونه‌های *Astrinid* ژنتیک مولکولی بوده است. ترکیب بررسی‌های مولکولی و ریخت‌شناسی منجر به کشف تنوع گونه‌های کریپتیک مهم شده است (Hart et al., 2006).

منابع

Blake, D.B. 1990. Adaptive zones of the class Asteroidea (Echinodermata). *Bulletin of Marine Science*. 46(3): 701-718.

- Campbell, A.C., Row, F.W.E. 1997. A new species in the asterinid genus *Patiriella* (Echinodermata: Asterozoa) from Dhofar, southern Oman: a temperate taxon in a tropical locality. *Bulletin of the Natural History Museum Zoology Series*. 63: 129-136.
- Clark, A., Rowe, F. 1971. *Monograph of shallow water Indo-West pacific Echinoderms*. London: Trustees of the British Museum (Natural History). 234 p.
- Clark, A.M., Downey, M.E. 1992. *Starfishes of the Atlantic*. Chapman and Hall, New York. 794 p.
- Clark, A.M. 1993. An index of names of recent Asterozoa— Part 2. Valvatida. *Echinoderm Studies*. 4: 187-366.
- Dartnall, A.J. 1971. Australian seastars of the genus *Patiriella* (Asterozoa, Asterinidae). *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales*. 96: 39-51.
- Dartnall, A.J., Byrne, M., Collins, J., Hart, M.W. 2003. A new viviparous species of asterinid (Echinodermata, Asterozoa, Asterinidae) and a new genus to accommodate the species of pantropical exiguoid sea stars. *Zootaxa*. 359: 1-14.
- Esfandyarpoor, F. 2014. Study on distribution of starfish in the intertidal zone of Chabahar Bay. MSc thesis. Marine biology department. University of Chabahar, Iran. 84 p. (in persian)
- Flowers, J.M., Flotz, D.W. 2001. Reconciling molecular systematics and traditional taxonomy in a species-rich clade of sea stars (*Leptasterias* subgenus *Hexasterias*). *Marine Biology*. 139: 475-483.
- Hart, M.W., Byrne, M., Smith, M. 1997. Molecular phylogenetic analysis of life history evolution in asterinid starfish. *Evolution*. 51: 1848-1861.
- Hart, M.W., Keever, C.C., Dartnall, A.J., Byrne, M. 2006. Morphological and genetic variation indicate cryptic species within Lamarck's Little Sea Star, *Parvulastra (Patiriella) exigua*. *Biology Bulletin*. 210: 158-167.
- Hall, T.A. 1999. BIOEDIT: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acid Symposium Series (London)*. 41: 95-98.
- Izadi, S. 2007. Identification and study the time variation of echinoderms species diversity in intertidal areas in the southern coast of the Geshm Island. MSc thesis. Marine biology department. University martyr Beheshti. 122 p. (in persian)
- Khosravi, A. 1996. Plant taxonomy and biological systematic. Klio, A. S. Shiraz University Press. 390 p. (in persian)
- Khaleghi, M. 2010. Echinoderms species of Chabahar Bay. MSc thesis. Marine biology department. University of Khoramshahr. 120 p. (in persian)
- Kumar, S., Tamura, K., Nei, M. 1994. MEGA: Molecular evolutionary genetics analysis software for microcomputers. *Computer Applications in the Biosciences*. 10(2): 198-91.
- Kuranloo, S. 2007. Identification different species of echinoderms branch in the Persian Gulf coasts (Qeshm and Bandar Lengeh). MSc thesis. Marine biology department. Islamic Azad University of Tehran- North. 110 p. (in persian)
- Livingstone, A. 1933. Some genera and species of the Asterinidae. *Records of the Australian Museum*. 19(1): 1-20.
- Matsuoka, N. 1981. Phylogenetic relationships among five species of starfish of the genus, *Asterina*: an electrophoretic study. *Comp. Biochem. Physiology*. 70: 739-743.
- McKnight, D.G. 1968. Some echinoderms from the Kermadec Islands. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*. 2(3): 505-526.
- Mortensen, T.H. 1940. Echinoderms from the Iranian Gulf. *Danish Scientific Investigations in Iran*. 2: 55-112, pls 1, 2. Ejnar Munksgaard: Copenhagen.
- O'Loughlin, P.M., Waters, J.M., Roy, M.S. 2002. Description of a new species of *Patiriella* from New Zealand, and review of *Patiriella regularis* (Echinodermata: Asterozoa) based on morphological and molecular data. *Journal of the Royal Society of New Zealand*. 58(2): 697-711.
- O'Loughlin, P.M., Waters, J.M., Roy, M.S. 2003. A molecular and morphological review of the asterinid, *Patiriella gunnii* (Gray) (Echinodermata: Asterozoa). *Memoirs of Museum Victoria*. 60(2): 181-195.
- O'Loughlin, P.M., Waters, J.M. 2004. A molecular and morphological revision of genera of Asterinidae (Echinodermata: Asterozoa). *Memoirs of Museum Victoria*. 61(1): 1-40.

- O'Loughlin, P.M., Rowe, F.W.E. 2005. A new *Asterinid* genus from the Indo-West Pacific region, including five new species (Echinodermata: Asteroidea: Asterinidae). *Memoirs of Museum Victoria*. 62(2): 181-189.
- O'Loughlin, P.M., Rowe, F.W.E. 2006. A systematic revision of the asterinid genus *Aquilonastra* O'Loughlin, 2004 (Echinodermata: Asteroidea). *Memoirs of Museum Victoria*. 63(2): 257-287.
- Palumbi, S.R. 1996. PCR and molecular systematics. In: Hillis, D., Moritz, C., Mable, B.K. (eds.). *Molecular systematics*. 2nd edition. Sunderland MA: Sinauer Press. 655 p.
- Panahloo, N. 2016. Morphological and molecular phylogeny assessment of some Asteroidea species in the Chabahar Coasts. MSc thesis. Marin biology department. University of Chabahar, Iran. 108 p. (in persian)
- Pourvali, N. 2013. New Report of Sea Star, *Aquilonastra samyni* (Echinodermata, Asteroidea), from the Strait of Hormuz, the Persian Gulf. *World Journal of Zoology*. 8(4): 415-416.
- Pourvali, N., Nabavi, M.B., Rezai, H., Doraghi, A., Mahvari, A. 2014. Echinodermata, species diversity and distribution in Hormuz Island (The Persian Gulf), Iran. *Middle-East Journal of Scientific Research*. 21(4): 583-587.
- Rowe, F.E.W., Gates, J. 1995. Echinodermata. In: Wells, A. (ed.). *Zoological Catalogue of Australia*. Vol. 33. CSIRO, Melbourne, Australia, xiii +510 p.
- Price, A.R.G. 1981. Studies on the echinoderm fauna of the western Gulf. *Journal of Natural History*. 15: 1-15.
- Price, A.R.G. 1982. Echinoderm of Saudi Arabia. Comparison between Echinoderm faunas of Persian Gulf, SE Arabia, Red Sea, Gulfs of Aqaba and Suez. *Fauna of Saudi Arabia*. 4: 3-21.
- Price, A.R.G. 1983. Echinoderms of Saudi Arabia. *Echinoderm of the Gulf Coast of Saudi Arabia*. *Fauna of Saudi Arabia*. 5: 28-108.