مجله بوم شناسی آبزیان

Journal homepage: http://jae.hormozgan.ac.ir

بررسی بیان ژن *Hsp70* در آبسنگ مرجانی *Acropora downingi* (Wallace, 1999) در پاسخ به تنش حرارتی

پگاه جاوید[۱و۲]، سیامک بهزادی[۳]، ناصر فرخی[٤]، محمدرضا بختیاری زاده[٥]، سید مهدی علوی[٦]، محمد شریف رنجبر[۱و۷*]

[۱] گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس

[۲] دپارتمان تخصصی بیوتکنولوژی زیست فناوری نوین، مرکز آموزش‌های فنی و حرفه‌ای استان اصفهان، اصفهان

[۳] پژوهشکده اکولوژی خلیج‌فارس و دریای عمان، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس

[٤] گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

[٥] گروه علوم دام و طیور، دانشکده ابوریحان، دانشگاه تهران، تهران

[٦] گروه زیست‌فناوری مولکولی گیاهی، پژوهشکده زیست فناوری کشاورزی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری، تهران

[۷] پارک زیست فناوری خلیج فارس، جزیره قشم، هرمزگان

نوع مقاله:
پژوهشی

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۹۹/۰۱/۱۲
اصلاح: ۹۹/۰۲/۱۵
پذیرش: ۹۹/۰۶/۰۹

کلمات کلیدی:
پروتئین شوک حرارتی
تغییر اقلیم
تنش گرمایی
گرمایش جهانی
مرجان

چکیده

خلیج فارس پهنه‌ی آبی نیمه بسته‌ای است که تغییرات اقلیمی اثرات شدیدتری بر جانداران ساکن در آن، خصوصاً موجودات غیر متحرک دارد. سفیدشدگی یکی از آثار ابتدایی تغییر شرایط مطلوب در مرجان‌های سخت می‌باشد که در نتیجه‌ی فروپاشی رابطه‌ی همزیستی مرجان و جلبک همزیست آن ایجاد می‌شود. سلول‌ها در پاسخ به تنش حرارتی، پروتئین‌های شوک حرارتی تولید می‌کنند که میزان و نحوه‌ی تولید، به بیان ژن‌های کدکننده‌ی آن‌ها بستگی دارد. در این مطالعه بیان ژن شوک حرارتی *Hsp70* در پاسخ به افزایش دما در آبسنگ مرجانی *Acropora downingi* (Wallace, 1999) بررسی شده است. نمونه‌برداری، در اسفند ۱۳۹۷ انجام شد. نمونه‌ها به مدت ۲ هفته با شرایط آزمایشگاهی سازگار شدند. دمای آب در شرایط کنترل ۲۵ °C بود که جهت ایجاد تنش حرارتی، به ۳۴ °C افزایش داده شد. بیان ژن مذکور در زمان‌های کنترل (دمای ۲۵ °C) و همچنین ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت پس از اعمال تنش حرارتی (دمای ۳۴ °C) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد بیان ژن *Hsp70*، پس از اعمال تنش، در زمان ۲۴ ساعت افزایش و در زمان ۴۸ ساعت کاهش یافت. این در حالی است که در زمان ۴۸ ساعت، مرجان‌ها نسبتاً سفید شده بودند و این می‌تواند دلیل بر زوال موجود و کاهش مقاومت آن در برابر شوک حرارتی باشد.

مقدمــه

تغییرات محیطی مرتبط با تغییر اقلیم بر اکوسیستم‌های طبیعی تأثیر بسیاری می‌گذارند (Putnam *et al*., 2012; Vanderwel and Purves, 2014). دمای محیط آبسنگ‌های مرجانی، اهمیت بالایی در زیست آن‌ها دارد و عملکرد آن‌ها در کلیه سطوح

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: Sharif.ranjbar@gmail.com

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-02-14]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1400.11.1.4.7]

بیولوژیکی، از جمله اندامک‌ها و ترکیب موجود تا سطوح مولکولی، تحت تأثیر تغییرات دمایی محیط قرار می‌گیرد (Hochachka and Somero, 2002). عوامل مختلفی از جمله فعالیت‌های مخرب انسانی و همچنین تغییر مداوم اقلیم (Lesser *et al.*, 2007) تهدیدهایی برای آبسنگ‌های مرجانی و اکوسیستم آن‌ها محسوب می‌شوند که ممکن است باعث شوند تداوم طولانی مدتی در آینده نداشته باشند (Hoegh-Guldber *et al.*, 2007). تغییر اقلیم اثرات منفی بر ثبات اکوسیستم‌های مرجانی دارد (Pinzón *et al.*, 2015). تنش حرارتی منجر به از دست رفتن همزیست‌های داخلی مرجان و سفیدشدگی و در صورت تداوم استرس، منجر به مرگ آن‌ها می‌شود (Glynn, 1993; Kenkel *et al.*, 2013).

سفیدشدگی آبسنگ‌های مرجانی در طی چند دهه‌ی گذشته بسیار متداول و تخریب‌کننده بوده است (Hoegh-Guldberg, 2011; Sammarco and Strychar, 2013). برخی اثرات نامطلوب سفیدشدگی در آبسنگ‌های مرجانی، سال‌ها پس از سفیدشدگی، با کاهش مقدار پروتئین و لیپید بروز می‌کنند (Fitt *et al.*, 1993). مرجان‌ها در برابر حوادث گرم‌شدگی تا کنون بسیار مقاومت کرده‌اند (Pandolfi, 1999) و در گستره عظیمی از عرض‌های جغرافیایی با شرایط دمایی مختلف دیده می‌شوند (Hughes *et al.*, 2003). در یک گونه از مرجان، افرادی که در محیط‌های طبیعتاً گرم زندگی می‌کنند، نسبت به افرادی که ساکن محیط‌های سردتر هستند، تحمل بیشتری نسبت به تنش گرمایی دارند (Oliver and Palumbi, 2011; Barshis *et al.*, 2013). سفیدشدگی آبسنگ‌های مرجانی، به دلیل از دست رفتن جلبک‌های همزیست دینوفلاژله (زوزانتله) ویا رنگدانه‌های فتوسنتزکننده‌ی آن‌ها است و این معمول‌ترین نشانه‌ی تنش‌های محیطی است و سفیدشدگی حجیم، دلیل بسیار مهم و رو به افزایش مرگ و تخریب مرجان‌ها در مقیاس جهانی و از عواقب تغییر اقلیم است (Dunn *et al.*, 2004).

مرجان‌ها نیز مانند سایر جانوران، می‌توانند به افزایش درجه حرارت، هم در سطح فردی و هم در سطح جمعیت پاسخ دهند و باعث تطابق فیزیولوژی مرجان با شرایط محیطی شوند (Brown *et al.*, 2002; Oliver and Palumbi, 2011). شواهد حاصل از تجزیه و تحلیل بیان ژن نشان داده‌اند که کلنی‌هایی که برای دوره‌های نسبتاً کم در معرض دمای بالا قرار گرفته‌اند، توانایی افزایش بیان ژن‌های مقاوم به تنش حرارتی را در هنگام تنش گرمایی دارند (Barshis *et al.*, 2013). اگرچه اثرات تنش حرارتی بر روی آبسنگ‌های مرجانی تا حدودی بررسی و شناخته شده است و حتی در بسیاری از گونه‌ها ممکن است یکسان باشد (DeSalvo *et al.*, 2008, 2010)، اثرات سفیدشدگی ناشی از گرمای طبیعی بر روی فعالیت سلولی و مولکولی مرجان تا حد زیادی ناشناخته است (Pinzón *et al.*, 2015). تغییرات محیطی در سیگنال‌های سلولی منعکس می‌شود که مطالعه چنین سیگنال‌هایی مورد توجه کمی قرار گرفته است (به استثناء رابطه دما و *HSP*) که ممکن است در درک روابط بین محیط و گونه‌ها نقش بسزایی داشته باشد (Rossi *et al.*, 2006).

رشد، عملکرد و بقای سلولی، از عوامل اصلی تاخوردگی، بلوغ و حتی تخریب مناسب پروتئین‌ها است. این فعالیت‌ها توسط چپرون‌های مولکولی انجام می‌شوند که بسیاری از آن‌ها، پروتئین‌های شوک حرارتی هستند (Lackie *et al.*, 2017). واکنش پروتئین شوک حرارتی یا Heat Shock Protein (که از این پس به اختصار HSP نامیده می‌شود) یا پروتئین تنشی، تقریباً در همه موجودات زنده وجود دارد و شامل سنتز سریع مجموعه‌ای از پروتئین‌ها به نام پروتئین‌های استرسی و توقف سنتز پروتئین "طبیعی" می‌شود. ماهیت همه‌گیر و بسیار محافظت شده پاسخ پروتئین تنشی، بیان‌کننده‌ی نقش اساسی آن در فیزیولوژی سلولی است (Anderson *et al.*, 1993, Javid *et al.*, 2020). پروتئین‌های خانواده *Hsp70* نوعی از چپرون‌های بسیار فراوان هستند که تقریباً در تمام بافت‌ها بیان می‌شوند و در بسیاری از فرآیندهای بیولوژیکی از جمله جابجایی پروتئین، مراحل اولیه فولدینگ پلی‌پپتید تازه ساخته شده و تاشدگی مجدد یا تخریب محصولات پپتیدی تجمع یافته، شرکت می‌کنند (Bukau *et al.*, 2006).

موجودات زنده در پاسخ به تنش‌های محیطی، سلول‌ها را وادار به تولید پروتئین‌های شوک حرارتی (*HSP*ها) می‌کنند که نقش‌های مهمی در ترمیم سلولی و مکانیسم‌های حفاظتی بازی می‌کنند (Arya *et al.*, 2007; Lanneau *et al.*, 2008). *HSP*ها در تسهیل پیچ‌خوردگی‌های پروتئین و نظم بخشی فعالیت‌های پیچیده سلولی اهمیت بسیاری دارند (Chow *et al.*,

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-02-14]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1400.11.1.4.7]

2009). الگوهای خاص جمعیت در بیان ژن‌های پروتئین شوک حرارتی با نیچ‌های حرارتی یک جمعیت سازگار است، به این صورت که در افراد و جمعیت‌هایی که در مکان‌های سرد زندگی می‌کنند مانند بی‌مهرگان دریایی و علف‌های دریایی، ژن‌های *Hsp* در دماهای پایین‌تر بیان می‌شوند (Osovitz and Hofmann, 2005; Bergmann *et al.*, 2010). آن‌ها از تجمع پروتئین جلوگیری می‌کنند و آپوپتوز ناشی از استرس را تنظیم می‌کنند. تنش کمتر از حد کشندگی، برای تحریک *HSP*ها کافی است و این باعث حصول حفاظت سلولی می‌شود و همین مسئله این امکان را به سلول‌ها می‌دهد که از شرایط تنش‌زای کشنده، جان سالم به در ببرند (Kregel, 2002).

صخره‌های مرجانی خلیج فارس آخرین افرادی بودند که در برابر رویداد سفیدشدگی مرجان در مقیاس جهانی که از سال ۲۰۱۵ آغاز شد، تسلیم شدند (Burt *et al.*, 2019). با توجه به اینکه ماهی‌های زیستگاه مرجانی حدود ۷۰ درصد از ماهی‌های خلیج فارس را تشکیل می‌دهند، رو به زوال و نابودی گراییدن زیستگاه‌های مرجانی ممکن است پیامدهای عمیقی برای ماهیگیری داشته باشد که ماهی‌های صخره‌های مرجانی را هدف قرار دهد (Grandcourt, 2012). مرجان‌های خلیج فارس در محیطی با شرایط حاد سکونت دارند و نشان داده شده است که بسیار مقاوم‌تر از همتایان خود در آب‌های دیگر هستند. مشاهدات و مدل‌سازی‌ها بیان می‌کنند که این زیستگاه در حال حاضر به طور قابل‌توجهی تحت تأثیر تغییرات آب و هوا به صورت رژیم‌های سفیدشدگی و مزاحمت قرار گرفته است (Riegl, 2003; Riegl *et al.*, 2018). با نظر به اینکه آبسنگ‌های مرجانی خلیج فارس مقاومت بالایی در برابر تنش‌های حرارتی محیطی دارند (Javid *et al.*, 2018)، انجام مطالعه حاضر دید بازتری نسبت به شرایط و ویژگی‌های مقاومتی مرجان‌های خلیج فارس به دست می‌دهد. ما در این مطالعه میزان بیان ژن *Hsp70* را در مرجان‌های شاخ گوزنی گونه‌ی *A. downingi* بررسی کرده‌ایم. هدف از این مطالعه بررسی اثر پارامتر حرارتی بر بیان *Hsp70* بوده است که می‌تواند یکی از فاکتورهای محیطی مؤثر در سفیدشدگی آبسنگ‌های مرجانی در طی تغییر فصول و گرمایش جهانی باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه و بافت‌گیری

نمونه‌های آبسنگ مرجانی گونه *A. downingi* در اسفند ماه ۱۳۹۷، از خلیج فارس، شمال جزیره لارک، موقعیت جغرافیایی ۵۶/۲۳ درجه شرقی و ۲۶/۵۴ درجه شمالی، عمق ۵/۵۰ متری در طی اجرای عملیات غواصی جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها به صورت زنده و به کمک هواده، به سیستم شبیه‌سازی از پیش آماده شده در پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان در شهر بندرعباس، انتقال داده شدند. نمونه‌ها جهت سازگار شدن با شرایط آزمایشگاه، به مدت ۲ هفته در دمای ^{o}C ۲۵، با pH ثابت ۸، شوری ثابت ۳۴، جریان آب مداوم و رژیم نوری ۱۰ ساعت روشنایی ـ ۱۴ ساعت تاریکی، نگهداری شدند. همچنین با استفاده از یک سیستم نوردهی داخلی از رسیدن هرگونه نور خارج از این سیستم جلوگیری به عمل آمد. پس از بافت‌گیری از نمونه‌های پوشانده شاهد در دمای مذکور، دمای آب تانک‌های تیمار به ^{o}C ۳۴ افزایش داده شد. حدود ۱۲ ساعت پس از اعمال تنش حرارتی، دمای آب ظرف روی ^{o}C ۳۴ ثابت شد. از هر یک از نمونه‌های تیمار، پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت از رسیدن دما به دمای تنش ^{o}C ۳۴، در ۴ تکرار بافت‌گیری انجام شد. بافت‌های جدا شده در کرایوویال و بلافاصله در ازت مایع قرار داده سپس تا زمان انجام آزمایش در فریزر ^{o}C ۷۰- نگهداری شدند.

استخراج *RNA* و سنتز *cDNA*

جهت استخراج RNA از هر یک از ۱۲ نمونه، هاون و دسته هاون از قبل در ازت مایع قرار داده شدند تا از حرارت دیدن بافت و شکسته شدن RNA جلوگیری به عمل آید. بافت‌ها درون هاون از پیش سرد شده قرار داده شدند و توسط دسته هاون سرد به صورت پودر درآمدند. در حدود ۱۰۰ میلی‌گرم از پودر هر نمونه به میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتر انتقال داده شد و بلافاصله ۱ میلی‌لیتر از ترایزول Ambion / Invitrogen به تیوب‌های حاوی پودر نمونه اضافه گردید. مراحل استخراج RNA طبق پروتوکل

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-02-14]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1400.11.1.4.7]

شرکت سازنده ترایزول Ambion (Invitrogen) پیش رفت (Chomczynski, 1993). کیفیت RNA با استفاده از سنجش الکتروفورز در ژل آگارز ۱/۵٪ و کمیت آن با استفاده از دستگاه نانودراپ (مدل Thermo Scientific محصول امریکا) بررسی گردید. DNA با استفاده از کیت DNase محصول شرکت سیناکلون از نمونه‌های RNA استخراج شده حذف شد و کمیت RNA حاصله مجدداً با استفاده از دستگاه نانودراپ سنجیده شد. با توجه به شرایط حاصل، cDNA با استفاده از کیت سنتز cDNA شرکت یکتاتجهیز طبق پروتوکل سنتز شد. ۱ µg RNA الگو جهت ساخت cDNA مورد استفاده قرار گرفت. ترکیبات لازم جهت انجام واکنش در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به RNA اضافه شدند. پس از ۵ دقیقه تیمار دمایی مذکور، ادامه‌ی واکنش با آنزیم‌ها و بافر مربوط تحت برنامه دمایی خاص (۶۰ دقیقه در دمای ۴۲ °C و ۵ دقیقه در دمای ۷۰ °C)، انجام شد. cDNA حاصل تا زمان استفاده در فریزر ۷۰- °C نگهداری شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز کمی *(qPCR)*

در این بررسی، ژن بتااکتین (که از این پس به صورت *βAct* نشان داده می‌شود) به عنوان ژن رفرانس در نظر گرفته شد. برای انجام واکنش، پرایمرهای مخصوص ژن‌ها، شامل پرایمر ژن‌های عملکردی و همچنین رفرانس، با استفاده از برنامه‌های نرم‌افزاری طراحی پرایمر به صورت جدول زیر به دست آمد:

جدول ۱. توالی قطعات آغازگر و طول و دمای عملکرد آن‌ها

نام آغازگر	آغازگر رفت	آغازگر برگشت	Tm (°C)	طول قطعه آغازگر
βAct	5'- ATCATGAAGTGCGATGTGGA - 3'	5'- GGAGCAATGATCTTGATCTTCA - 3'	۵۵,۲۵ ۵۶,۵۳	۱۵۲
Hsp70	5'- GACTGTGAAGAATGCGGTGA – 3'	5' – CAGCTGTGGGCTCATTGATA – 3'	۵۱,۸ ۵۱,۸	۱۲۵

کارایی پرایمرها با استفاده از تهیه رقت، مورد بررسی انجام گرفت و از cDNA سنتز شده، پنج رقت متوالی ۱:۱، ۱:۳، ۱:۹، ۱:۲۷ و ۱:۸۱ تهیه شد. از رقت‌های فوق، طبق پروتوکل Real-time، به مسترمیکس هر پرایمر اضافه شد و در دستگاه ترموسایکلر MIC Real-time PCR قرار داده شد. سپس کارایی واکنش هر پرایمر طبق فرمول $E\% = (10^{-1/\text{شیب}} - 1) \times 100$ محاسبه شد (Radonic *et al*., 2004). واکنش‌های چرخه PCR جهت بررسی بیان کمّی ژن *Hsp70*، برای تک‌تک ۱۲ نمونه و هرکدام با ۲ تکرار تکنیکال، طبق پروتوکل مسترمیکس شرکت Ampliqon با حجم نهایی ۱۰ µl و تحت برنامه‌ی ۹۵ °C به مدت ۱۰ دقیقه، ۹۵ °C به مدت ۳۰ ثانیه، ۶۰ °C به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ °C به مدت ۲۰ ثانیه و با ۴۵ چرخه انجام گرفت. بیان ژن شوک حرارتی *Hsp70* با استفاده از *βAct* به عنوان ژن رفرانس یا کنترل داخلی، نرمال‌سازی شد. برای این منظور از فرمول $\Delta\Delta C_T = (\Delta C_{Ttarget} - \Delta C_{Tcalibrator})$ (Livak and Schmittgen 2001) استفاده گردید. نتایج حاصل از منحنی ذوب و تکثیر مربوط به رونوشت‌های ژن‌های مورد مطالعه، با استفاده از Excel بررسی شد.

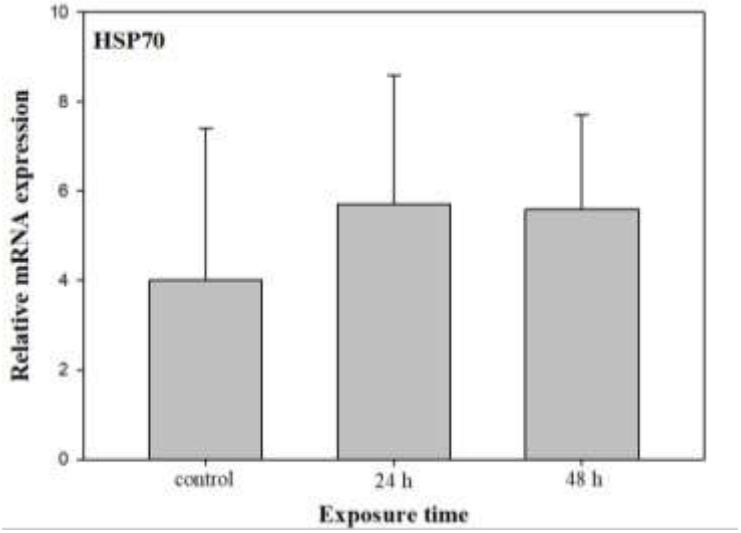
آنالیزهای آماری

آنالیز واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) با استفاده از نرم افزار SPSS انجام گرفت و داده‌ها به صورت میانگین و خطای استاندارد (mean ± SD) نشان داده شدند. درجه اطمینان در این بررسی‌ها ۹۵٪ ($p < ۰,۰۵$) در نظر گرفته شد.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-02-14]
[DOR: 20.1001.1.23222751.1400.11.1.4.7]

نتایــج

ژن هدف *Hsp70* با استفاده از ژن *βAct* به عنوان کنترل داخلی نرمال‌سازی شد. بررسی کارایی واکنش پرایمرهای ژن رفرانس (*βAct*) و پرایمر ژن هدف (*Hsp70*) به ترتیب ٪۷۵/۱۹ و ٪۹۶/۷۷ محاسبه شد. بیان در مقایسه بیان ژن *Hsp70* در زمان‌های ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت در مرجان *A. downingi* تحت تنش حرارتی، افزایش بیان ژن در ۲۴ ساعت اولیه پس از شوک حرارتی از ۲۵ به ۳۴ درجه سانتی‌گراد مشاهده گردید و به دنبال آن، این بیان در ۲۴ ساعت بعدی (۴۸ ساعت پس از رسیدن دما به ۳۴ °C) کاهش یافت که البته این کاهش نسبت به زمان ۲۴ ساعت، چشمگیر نبود. با این حال بیان ژن *Hsp70* از لحاظ آماری معنادار نبود (p = ۰/۲۳۱). در شکل ۱، مقایسه بیان ژن *Hsp70* در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت در دمای شوک حرارتی نسبت به زمان کنترل آورده شده است.



شکل ۱. بیان ژن *Hsp70* در آبسنگ مرجانی *A. downingi* در زمان کنترل (دمای ۲۵ °C)، ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت پس از تیمار حرارتی (دمای ثابت ۳۴ °C) که در ۴ تکرار بیولوژیک و ۲ تکرار تکنیکال صورت گرفت.

بحث

اکوسیستم مرجانی خلیج فارس، بیشترین مقاومت را در برابر گرمایش جهانی نسبت به اکوسیستم‌های مرجانی موجود در آب‌های دیگر جهان از خود نشان داده است (Burt *et al.*, 2019). مطالعه حاضر، پاسخ بیانی ژن شوک حرارتی *Hsp70* را در آبسنگ مرجانی *A. downingi*، ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت پس از اعمال تنش حرارتی بررسی کرده است. بیان ژن در این مطالعه، در شرایط استرس، در ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت؛ اگرچه کاهش بیان ژن *Hsp70*، ۴۸ ساعت پس از قرارگیری در شرایط تنش حرارتی، نسبت به زمان تیمار اول (۲۴ ساعت) چندان قابل‌توجه نبوده است، احتمال می‌رود که با گذشت زمان و ادامه‌ی تنش، بیان بسیار کاهش یابد.

مطالعات انجام شده در خصوص بیان ژن در مرجان‌هایی که در معرض تنش‌زاهای محیطی مختلف مانند دما، شوری، رسوب، نور کم و زیاد قرار داشته‌اند، بیان‌های بسیار منحصر به فرد و خاصی را نشان داده‌اند (Edge *et al.*, 2008; Császár *et al.*, 2009). جانوران در پاسخ به محرک‌های تنشی، *HSP* القا می‌کنند که در اصل نقشی اساسی در ترمیم سلولی و مکانیسم‌های حفاظتی ایفا می‌کنند (Arya *et al.*, 2007). اگرچه افزایش دما، بیش از سایر تنش‌های القاکننده‌ی HSP مطالعه شده است (Kregel, 2002)، سایر عوامل استرس‌زا، همچون کمبود اکسیژن، سموم و فلزات سنگین نیز می‌توانند باعث تحریک HSP شوند (Chow *et al.*, 2009). بررسی‌هایی نشان داده‌اند که با افزایش دما در آبسنگ‌های مرجانی، بیان پروتئین‌های شوک حرارتی، از جمله *Hsp70* به صورت کلی، افزایش می‌یابند (Downs *et al.*, 2005; Choresh *et al.*, 2007; Rodriguez-Lanetty *et al.*, 2009; Brown *et al.*, 2014).

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-02-14]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1400.11.1.4.7]

در بررسی‌هایی نشان داده‌شده است که تنش شدت نور، اثر تنش حرارتی را در سفیدشدگی مرجان‌ها تشدید می‌کند و بر همولوگ‌های پروتئین شوک حرارتی *Hsp60* در سیانوباکترها مؤثر است (Lesser and Farrell, 2004; Kojima and Nakamoto, 2007; Chow *et al.*, 2009). بنابراین در مطالعه‌ی حاضر اثر افزایش تنش حرارتی روی سنتز *Hsp70* در آبسنگ مرجانی بررسی شده است و توجه و دقت زیادی اعمال شد تا عامل شدت نور در سفیدشدگی مرجان‌ها تحت تنش حرارتی، اختلال ایجاد نکند. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که پروتئین‌های تنشی که در اثر شوک حرارتی تحریک می‌شوند، به سلول‌ها توانایی زنده ماندن در دمای کمتر از دمای کشندگی را می‌دهند (Anderson *et al.*, 1993).

در مطالعات صورت گرفته اشاره شده است که ۲ گونه از آبسنگ‌های مرجانی دریای کارائیب (*Acropora palmate* و *Orbicella faveolata*)، تحت شرایط آزمایشگاهی، پاسخ‌های یکسانی در بیان ژن طی تنش‌های حرارتی داشته‌اند. پاسخ این گونه‌ها به افزایش دما شامل افزایش شوک حرارتی و بیان ژن آنتی‌اکسیدان، کاهش بیان هموستاز کلسیم و پروتئین‌های ریبوزومی، بازسازی ماتریس خارج سلولی و تنظیم مجدد اسکلت سلولی اکتین است (DeSalvo *et al.*, 2008, 2010). اثرات سفیدشدگی به صورت متغیر اتفاق افتاده است و مرجان‌هایی که از چنین سفیدشدگی‌هایی جان سالم به دربرده‌اند، پس از وقایع سفیدشدگی جدید، از بین رفته‌اند (Brown *et al.*, 2014).

القاء تنها یک عامل تنش‌زا، به صورت طبیعی، باعث بروز بیان گذرا در عوامل تحت تنش می‌شود و القای ترکیبی از تنش‌ها همچون گرما و نور باعث بروز پایدار *Hsp60* در ۴۸ ساعت در نمونه‌ها می‌شوند. در مطالعه انجام شده توسط Chow و همکاران (۲۰۰۹) نشان داده شد که افزایش درجه حرارت از ۲۷ °C به ۳۲ °C، باعث القای ضعیف *Hsp60*، در مرجان شاخه‌ای *Stylophora pistillata* پس از پس از ۲۴ ساعت از افزایش دما شده است و این بیان در زمان ۴۸ ساعت در *S. pistillata* کاهش یافته است. باید به این موضوع توجه داشت که تنش حرارتی، راندمان فتوسنتری را در ۲۴ ساعت کاهش می‌دهد (Chow *et al.*, 2009). آبسنگ‌های مرجانی *Turbinaria reniformis* و *S. pistillata* تفاوت‌هایی را در توانایی خود در نجات از شرایط سخت نشان می‌دهند و مرجان لایه‌ای نسبت به مرجان شاخی در برابر اختلالات محیطی مقاوم‌تر است (Lanneau *et al.*, 2008). در مطالعه حاضر، پس از اعمال شوک حرارتی (۹ درجه سانتی‌گراد از ۲۵ °C به ۳۴ °C) و پس از گذشت ۲۴ ساعت، بیان ژن *Hsp70*، افزایش داشت و پس از گذشت ۴۸ ساعت از زمان کنترل، بیان نسبت به تیمار حرارتی ۲۴ ساعت، کاهش یافت. در بررسی انجام شده توسط López-Legentil و همکاران (۲۰۰۸) روی اسفنج دریایی *Xestospongia muta* ساکن اکوسیستم مرجانی در واکنش به تنش حرارتی نشان داده شد که سطوح بیانی *Hsp70* با افزایش دما و در شوری ثابت، در ساعت‌های اولیه افزایش یافت و پس از آن، در ساعت‌های بعدی تا مقادیر نزدیک به سطح بیان در مرحله‌ی کنترل کاهش یافت و هیچ مرگ و میری در بین نمونه‌ها اتفاق نیفتاد. این حالت که مشابه آن در نمونه‌های تیماری و آزمایش ما نیز مشاهده شد، می‌تواند ناشی از اختلال متابولیکی و نزدیک شدن اسفنج به حالت مرگ باشد (López-Legentil *et al.*, 2008). گرچه کاهش بیان در زمان ۴۸ ساعت، قابل‌توجه نبود، شاید به این دلیل باشد که چرخه چپرونی *Hsp70* به دلیل فعالیت کم ATPase موجود در *Hsp70* ذاتاً کند است (Swain *et al.*, 2007). این مشاهدات با حساسیت نسبی مرجان شاخه‌ای در برابر سفید شدگی ناشی از شرایط محیطی و در نتیجه از بین رفتن گسترده بسترهای مرجانی این گونه منطبق است (Loya *et al.*, 2001; Chow *et al.*, 2009). مشاهدات نشان داده‌اند که افزایش تنش دما و همچنین شدت نور اثرات منفی بر ظرفیت فتوسنتز مرجان‌های شاخی می‌گذارد که نسبت به سایر آبسنگ‌های مرجانی از جمله لایه‌ای و توده‌ای در برابر تغییرات محیطی حساس‌تر می‌باشند و جالب توجه است که یک همولوگ *Hsp60* برای محافظت از دستگاه فتوسنتزی از دناتوراسیون حرارتی از طریق ارتباط با فعال‌سازی روبیسکو پیشنهاد شده است (Salvucci, 2008).

در مطالعه‌ی Chow و همکاران (۲۰۰۹) پیشنهاد شده است که سطوح القای *HSP60* می‌تواند یک شاخص بالقوه مقاومت در برابر سفیدشدگی ناشی از تنش در گونه‌های مختلف مرجانی باشد. مکانیسم مقاومت می‌تواند در رابطه با پاسخ شوک حرارتی و حفاظت سلولی به شکل مقاومت حرارتی باشد یا نباشد.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-02-14]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1400.11.1.4.7]

نتایج به دست آمده، ارتباط و همبستگی بین القای *Hsp70* و مقاومت مرجان در برابر سفیدشدگی در پاسخ به تنش‌های محیطی را حمایت می‌کند. افزایش دما در ابتدای کار باعث افزایش القای سنتز پروتئین‌های شوک حرارتی در شرایط محیطی نامطلوب شد، درحالی‌که کاهش القای HSP در آبسنگ‌های مرجانی شاخه‌ای آن‌ها را در برابر سفیدشدگی حساس‌تر می‌کند. HSP در مرجان‌های دریایی ثابت و بدون حرکت ممکن است سازگاری با تغییر شرایط محیطی را نشان دهد (Van Duijn *et al*., 2007).

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله مراتب سپاسگزاری خود را از آقای سجاد پابسته، به سبب کمک‌های ایشان در نمونه‌برداری و راه‌اندازی سیستم شبیه‌سازی به جا می‌آورد. همچنین این پژوهش بدون کمک‌های اساتید محترم پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان خصوصاً جناب آقای دکتر درویشی و جناب آقای دکتر دقوقی و دوستان و همکاران محترم در پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری خصوصاً آقایان وطن‌خواه، شریفیان و جمشیدی میسر نبود.

منابــع

Anderson, R.L., Wang, C.Y., Van Kersen, I., Lee, K.J., Welch, W.J., Lavagnini, P., Hahn, G.M. 1993. An immunoassay for heat shock protein 73/72: Use of the assay to correlate HSW3/72 levels in mammalian cells with heat response. International Journal of Hyperthermia. 9(4): 539-552.

Arya, R., Mallik, M., Lakhotia, S.C. 2007. Heat shock genes—integrating cell survival and death. Journal of Biosciences. 32(3): 595-610.

Barshis, D.J., Ladner, J.T., Oliver, T.A., Seneca, F.O., Traylor-Knowles, N., Palumbi, S.R. 2013. Genomic basis for coral resilience to climate change. Proceedings of the National Academy of Sciences. 110(4): 1387-1392.

Bergmann, N., Winters, G., Rauch, G., Eizaguirre, C., Gu, J., Nelle, P., Fricke, B., Reusch, T.B. 2010. Population-specificity of heat stress gene induction in northern and southern eelgrass *Zostera marina* populations under simulated global warming. Molecular Ecology. 19(14): 2870-2883.

Brown, B., Dunne, R., Goodson, M., Douglas, A. 2002. Experience shapes the susceptibility of a reef coral to bleaching. Coral Reefs. 21(2): 119-126.

Brown, B.E., Dunne, R.P., Phongsuwan, N., Patchim, L., Hawkridge, J.M. 2014. The reef coral *Goniastrea aspera*: a 'winner' becomes a 'loser' during a severe bleaching event in Thailand. Coral Reefs. 33(2): 395-401.

Bukau, B., Weissman, J., Horwich, A. 2006. Molecular chaperones and protein quality control. Cell. 125(3): 443-451.

Burt, J.A., Paparella, F., Al-Mansoori, N., Al-Mansoori, A., Al-Jailani, H. 2019. Causes and consequences of the 2017 coral bleaching event in the southern Persian/Arabian Gulf. Coral Reefs. 38(4): 567-589.

Chomczynski, P. 1993. A reagent for the single-step simultaneous isolation of RNA, DNA and proteins from cell and tissue samples. Biotechniques. 15(3): 532-534.

Choresh, O., Azem, A., Loya, Y. 2007. Over-expression of highly conserved mitochondrial 70-kDa heat-shock protein in the sea anemone *Anemonia viridis*. Journal of Thermal Biology. 32(7-8): 367-373.

Chow, A.M., Ferrier-Pagès, C., Khalouei, S., Reynaud, S., Brown, I.R. 2009. Increased light intensity induces heat shock protein Hsp60 in coral species. Cell stress and Chaperones. 14(5): 469-476.

Császár, N.B.M., Seneca, F.O., Van Oppen, M.J.H. 2009. Variation in antioxidant gene expression in the scleractinian coral *Acropora millepora* under laboratory thermal stress. Marine Ecology Progress Series. 392: 93-102.

DeSalvo, M.K., Sunagawa, S., Voolstra, C.R., Medina, M. 2010. Transcriptomic responses to heat stress and bleaching in the elkhorn coral *Acropora palmata*. Marine Ecology Progress Series. 402: 97-113.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-02-14]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1400.11.1.4.7]

DeSalvo, M.K., Voolstra, C.R., Sunagawa, S., Schwarz, J.A., Stillman, J.H., Coffroth, M.A., Szmant, A.M., Medina, M. 2008. Differential gene expression during thermal stress and bleaching in the Caribbean coral *Montastraea faveolata*. Molecular Ecology. 17(17): 3952-3971.

Downs, C.A., Fauth, J.E., Robinson, C.E., Curry, R., Lanzendorf, B., Halas, J.C., Halas, J., Woodley, C.M. 2005. Cellular diagnostics and coral health: declining coral health in the Florida Keys. Marine Pollution Bulletin. 51(5-7): 558-569.

Dunn, S.R., Thomason, J.C., Le Tissier, M.D.A., Bythell, J.C. 2004. Heat stress induces different forms of cell death in sea anemones and their endosymbiotic algae depending on temperature and duration. Cell Death and Differentiation. 11(11): 1213-1222.

Edge, S.E., Morgan, M.B., Snell, T.W. 2008. Temporal analysis of gene expression in a field population of the Scleractinian coral *Montastraea faveolata*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 355(2): 114-124.

Fitt, W.K., Spero, H.J., Halas, J., White, M.W., Porter, J.W. 1993. Recovery of the coral *Montastrea annularis* in the Florida Keys after the 1987 Caribbean "bleaching event". Coral Reefs. 12(2): 57-64.

Glynn, P.W. 1993. Coral reef bleaching: ecological perspectives. Coral reefs. 12(1): 1-17.

Grandcourt, E. 2012. Reef fish and fisheries in the Gulf. In: Coral reefs of the Gulf Dordrecht (ed.). Springer. pp. 127-161.

Hochachka, P.W., Somero, G.N. 2002. Biochemical adaptation: mechanism and process in physiological evolution. Oxford University Press. 466 p.

Hoegh-Guldberg, O. 2011. The impact of climate change on coral reef ecosystems. In: Dordrecht (ed.). Coral reefs: an ecosystem in transition. Springer. pp. 391-403.

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., Knowlton, N. 2007. Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification. Science. 318(5857): 1737-1742.

Hughes, T.P., Baird, A.H., Bellwood, D.R., Card, M., Connolly, S.R., Folke, C., Grosberg, R., Hoegh-Guldberg, O., Jackson, J.B., Kleypas, J., Lough, J.M. 2003. Climate change, human impacts, and the resilience of coral reefs. Science. 301(5635): 929-933.

Javid, P., Soyouf Jahromi, M., Ranjbar, M.S. 2018. The Status of Coral Reefs in the Larak Island, Persian Gulf, from 2012 to 2018. International Journal of Veterinary and Animal Research. 1(3): 49-53.

Javid, P., Farrokhi, N., Behzadi, S., Bakhtiarizadeh, M., Alavi, S.M., Ranjbar, M.S. 2020. Genetic Variation in Response to Global Warming in a Coral Reef Species, *Porites lobata*. Avicenna Journal of Environmental Health Engineering. 7(1): 29-34.

Kenkel, C.D., Goodbody-Gringley, G., Caillaud, D., Davies, S.W., Bartels, E., Matz, M.V. 2013. Evidence for a host role in thermotolerance divergence between populations of the mustard hill coral (*Porites astreoides*) from different reef environments. Molecular Ecology. 22(16): 4335-4348.

Kojima, K., Nakamoto, H. 2007. A novel light-and heat-responsive regulation of the groE transcription in the absence of HrcA or CIRCE in cyanobacteria. FEBS Letters. 581(9):1871-1880.

Kregel, K.C. 2002. Invited review: heat shock proteins: modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. Journal of Applied Physiology. 92(5): 2177-2186.

Lackie, R.E., Maciejewski, A., Ostapchenko, V.G., Marques-Lopes, J., Choy, W.Y., Duennwald, M.L., Prado, V.F., Prado, M.A. 2017. The Hsp70/Hsp90 chaperone machinery in neurodegenerative diseases. Frontiers in Neuroscience. 11, p.254.

Lanneau, D., Brunet, M., Frisan, E., Solary, E., Fontenay, M., Garrido, C. 2008. Heat shock proteins: essential proteins for apoptosis regulation. Journal of Cellular and Molecular Medicine. 12(3): 743-761.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-02-14]
[DOR: 20.1001.1.23222751.1400.11.1.4.7]

Lesser, M.P., Bythell, J.C., Gates, R.D., Johnstone, R.W., Hoegh-Guldberg, O. 2007. Are infectious diseases really killing corals? Alternative interpretations of the experimental and ecological data. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 346(1-2): 36-44.

Lesser, M.P., Farrell, J.H. 2004. Exposure to solar radiation increases damage to both host tissues and algal symbionts of corals during thermal stress. Coral Reefs. 23(3): 367-377.

Livak, K.J., Schmittgen, T.D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2-ΔΔCT method. Methods. 25(4): 402–408.

López-Legentil, S., Song, B., Mcmurray, S.E., Pawlik, J.R. 2008. Bleaching and stress in coral reef ecosystems: *hsp70* expression by the giant barrel sponge *Xestospongia muta*. Molecular Ecology. 17(7): 1840-1849.

Loya, Y., Sakai, K., Yamazato, K., Nakano, Y., Sambali, H., Van Woesik, R. 2001. Coral bleaching: the winners and the losers. Ecology Letters. 4(2): 122-131.

Oliver, T.A., Palumbi, S.R. 2011. Do fluctuating temperature environments elevate coral thermal tolerance?. Coral Reefs. 30(2): 429-440.

Osovitz, C.J., Hofmann, G.E. 2005. Thermal history-dependent expression of the Hsp70 gene in purple sea urchins: biogeographic patterns and the effect of temperature acclimation. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 327(2): 134-143.

Pandolfi, J.M. 1999. Response of Pleistocene coral reefs to environmental change over long temporal scales. American Zoologist. 39(1): 113-130.

Pinzón, J.H., Kamel, B., Burge, C.A., Harvell, C.D., Medina, M., Weil, E., Mydlarz, L.D. 2015. Whole transcriptome analysis reveals changes in expression of immune-related genes during and after bleaching in a reef-building coral. Royal Society Open Science. 2(4): 140214.

Putnam, H.M., Stat, M., Pochon, X., Gates, R.D. 2012. Endosymbiotic flexibility associates with environmental sensitivity in scleractinian corals. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. 279(1746): 4352-4361.

Radonić, A., Thulke, S., Mackay, I.M., Landt, O., Siegert, W., Nitsche, A. 2004. Guideline to reference gene selection for quantitative real-time PCR. Biochemical and Biophysical Research Communications. 313(4): 856-862.

Riegl, B. 2003. Climate change and coral reefs: different effects in two high-latitude areas (Arabian Gulf, South Africa). Coral Reefs. 22(4): 433-446.

Riegl, B., Johnston, M., Purkis, S., Howells, E., Burt, J., Steiner, S.C., Sheppard, C.R., Bauman, A. 2018. Population collapse dynamics in *Acropora downingi*, an Arabian/Persian Gulf ecosystem-engineering coral, linked to rising temperature. Global Change Biology. 24(6): 2447-2462.

Rossi, S., Snyder, M.J., Gili, J.M. 2006. Protein, carbohydrate, lipid concentrations and HSP 70–HSP 90 (stress protein) expression over an annual cycle: useful tools to detect feeding constraints in a benthic suspension feeder. Helgoland Marine Research. 60(1): p.7.

Rodriguez-lanetty, M., Harii, S., Hoegh-Guldberg, O. 2009. Early molecular responses of coral larvae to hyperthermal stress. Molecular Ecology. 18(24): 5101-5114.

Salvucci, M.E. 2008. Association of Rubisco activase with chaperonin-60β: a possible mechanism for protecting photosynthesis during heat stress. Journal of Experimental Botany. 59(7): 1923-1933.

Sammarco, P.W., Strychar, K.B. 2013. Responses to high seawater temperatures in zooxanthellate octocorals. PloS One. 8(2): 54989.

Swain, J.F., Dinler, G., Sivendran, R., Montgomery, D.L., Stotz, M., Gierasch, L.M. 2007. Hsp70 chaperone ligands control domain association via an allosteric mechanism mediated by the interdomain linker. Molecular Cell. 26(1): 27-39.

Van Duijn, E., Heck, A.J., Van Der Vies, S.M. 2007. Inter-ring communication allows the GroEL chaperonin complex to distinguish between different substrates. Protein Science. 16(5): 956-965.

Vanderwel, M.C., Purves, D.W. 2014. How do disturbances and environmental heterogeneity affect the pace of forest distribution shifts under climate change? Ecography. 37(1): 10-20.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2026-02-14]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1400.11.1.4.7]