



## ORIGINAL RESEARCH PAPER (Marine Science)

## Morphological investigation and molecular identification of *Solen dactylus* (Bivalvia: Solenidae) in the Khowr-e Guban (North of Persian Gulf)

Motahareh Asadollahi <sup>1</sup>, Nasrin Sakhaei <sup>1,\*</sup>, Babak Doustshenas <sup>1</sup>, Kamal Ghanemi <sup>2</sup>, Bita Archangi <sup>1</sup>, Kave Khosraviani <sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Oceanography, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran

<sup>2</sup> Department of Marine Chemistry, Faculty of Marine Science and Oceanography, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran

<sup>3</sup> Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

## ARTICLE INFO

Code: A-10-747-3

## Article History:

Received: 25/01/2021

Revised: 07/08/2021

Accepted: 08/08/2021

## Keywords:

*Solen dactylus*  
Morphological  
CO1  
Khowr-e Guban  
Persian Gulf

\*Corresponding author:

[sakhaei@kmsu.ac.ir](mailto:sakhaei@kmsu.ac.ir)

0000-0003-4230-2229

10.52547/joc.12.47.63

## ABSTRACT

**Background and Objectives:** This study aimed to investigate the morphology and molecular identification of oyster knife *Solen dactylus*. Razor clams are edible bivalve mollusks that fetch high prices in international markets.

**Methods:** For this purpose, sampling of this species was performed from the designated station in Khowr-e Guban, south of Shadegan wetland. Morphological identification was first performed using valid identification keys. Then, to ensure assurance, molecular identification of the species was performed using amplification of mitochondrial COI region. The resulting genomic sequences were analyzed using Chromas, BioEdit, and Mega seven software. Blast sequences were also identified in NCBI, and the phylogenetic tree was constructed.

**Findings:** The results showed that the *Solen strictus* species, the *Solen marginatus* species, and the present study species (*Solen* sp.) are in a sister clade and derived from a common ancestor. The sequence of amplified gene fragments with specific COI primers showed 83% similarity to *S. strictus*. At the same time, the two species are similar in appearance, but in morphological studies and the use of identification keys specifications such as palliative tentacles on the front of the foot, small teeth, and measurement of oyster length and width, which are characteristic of *S. dactylus* and do not exist in *S. strictus* and *S. marginatus* species.

**Conclusion:** Therefore, according to morphological and molecular results, *Solen* sp. species is probably the same as *S. dactylus*. This species was registered in the NCBI database with the acceptance code QGL52628.

©2021 JOC. All rights reserved



NUMBER OF TABLES

2



NUMBER OF FIGURES

6



NUMBER OF REFERENCES

34

## مقاله پژوهشی (علوم دریایی)

بررسی ریخت‌شناسی و شناسایی مولکولی گونه *Solen dactylus* (Cosel, 1989) از خور گوبان، شمال

## خلیج فارس

مطهره اسدالهی<sup>۱</sup>، نسرين سخايی<sup>۱\*</sup>، بابک دوست شناس<sup>۱</sup>، کمال غانمی<sup>۲</sup>، بیتا ارچنگی<sup>۱</sup>، کاوه خسروانی<sup>۳</sup><sup>۱</sup> گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران<sup>۲</sup> گروه شیمی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران<sup>۳</sup> گروه تکتیر و پرورش آبزیان، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
<p>تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۰۶</p> <p>تاریخ بازبینی: ۱۴۰۰/۰۵/۱۶</p> <p>تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۱۷</p>	<p><b>پیشینه و اهداف:</b> هدف از این تحقیق بررسی ریخت‌شناسی و شناسایی مولکولی صدف دسته‌چاقویی <i>Solen dactylus</i> می‌باشد. گونه‌های مختلف <i>Solen spp.</i> به عنوان صدف دسته‌چاقویی یا razor clam شناخته می‌شوند. این صدف به‌طور گسترده در بازارهای بین‌المللی به عنوان کالا و غذا مصرف می‌شود و تحقیقات بسیاری در مورد آن انجام شده است.</p>
<p><b>واژگان کلیدی:</b></p> <p><i>Solen dactylus</i></p> <p>ریخت‌شناسی</p> <p>CO1</p> <p>خور گوبان</p> <p>خلیج فارس</p>	<p><b>روش‌ها:</b> نمونه‌برداری این گونه از ایستگاه‌های تعیین شده در خور گوبان واقع در جنوب تالاب شادگان در دو فصل زمستان و تابستان سال ۱۳۹۶ انجام شد. شناسایی ریخت‌شناسی و با استفاده از کلیدهای شناسایی معتبر صورت گرفت. همچنین شناسایی مولکولی این گونه با استفاده از تکثیر قطعات ژنومی ناحیه COI ژنوم میتوکندی انجام شد. توالی ژنومی حاصل با استفاده از نرم‌افزارهای Chromas، BioEdit و Mega 7 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. همچنین بر اساس مقایسه نتایج توالی با سایر داده‌های موجود در NCBI درخت فیلوژنی ساخته شد.</p>
<p>*نویسنده مسئول</p> <p>sakhaei@kmsu.ac.ir</p>	<p><b>یافته‌ها:</b> نتایج نشان داد که گونه <i>Solen strictus</i> با گونه <i>Solen marginatus</i> و گونه تحقیق حاضر (<i>Solen sp.</i>) در یک کلاد خواهری قرار می‌گیرند و از یک نیای مشترک انشقاق یافته‌اند. توالی قطعات ژنی تکثیر یافته با پرایمرهای اختصاصی COI، شباهت ۸۳ درصدی را با گونه <i>S. strictus</i> نشان داد. این در حالی است که این دو گونه از لحاظ شباهت ظاهری به یکدیگر شبیه‌اند، اما در بررسی‌های ریخت‌شناسی، وجود مشخصاتی چون تانتاکول‌های پالیالی در قسمت جلویی پا، وجود دندان کوچک، اندازه‌گیری ابعاد طول و عرض صدف که ویژگی شاخص گونه <i>S. dactylus</i> است و در گونه‌های <i>S. marginatus</i> و <i>S. strictus</i> وجود ندارد، مشاهده گردید.</p>
	<p><b>نتیجه‌گیری:</b> بنابراین با توجه با نتایج ریخت‌شناسی و مولکولی به نظمی‌رسد گونه <i>Solen sp.</i> همان گونه <i>S. dactylus</i> است. این گونه در پایگاه اطلاعاتی NCBI با کد پذیرش QGL52628 ثبت گردید.</p>

## مقدمه

بسیاری از گونه‌های نرم‌تنان خصوصاً دوکفه‌ای‌ها از پتانسیل قابل ملاحظه‌ای برخوردار بوده و بعضاً شامل گونه‌هایی با ارزش تجاری فراوانی بوده که به وسیله انسان بیش از حد مورد بهره‌برداری تجاری قرار گرفته‌اند. لذا شناسایی دقیق تاکسون‌های این منبع ارزشمند می‌تواند به اطلاعات ارزنده‌ای در مورد تنوع زیستی و حفاظت از آنها به عمل آورد [۱]. صدف‌های دوکفه‌ای در آب‌های شیرین و شور، آب‌های کم‌عمق و عمیق، چسبیده به صخره‌ها، چوب‌ها و حتی صدف‌های دیگر وجود دارند که عوامل متعدد محیطی بر پراکنش و فراوانی دوکفه‌ای‌ها اثر دارد [۲]. توتونی و همکاران در سال ۱۳۹۵ بیان انرژی دوکفه‌ای غالب دریای عمان، *Azumapekten ruschenbergerii* در خلیج چابهار بررسی نمودند و نشان دادند که عوامل محیطی همانند تغییر دما و تغییر غذا در دو زمان قبل و بعد از مانسون تغییر می‌نماید [۳]. جنس *Solen* متعلق به خانواده *Solenidae* و از صدف‌های دوکفه‌ای و زیر شاخه *Cochifera* و از شاخه نرم‌تنان می‌باشد. گونه‌های مختلف *Solen spp.* به عنوان صدف دسته چاقویی یا *razor clam* شناخته می‌شوند. این صدف به‌طور گسترده در بازارهای بین‌المللی به عنوان کالا و غذا مصرف می‌شود و تحقیقات بسیاری در مورد آن انجام شده است [۴].

تحقیقات متعددی در مورد شناسایی مولکولی دوکفه‌ای‌ها در خلیج فارس صورت گرفته‌است که می‌تواند به تحقیق انعام و همکاران در سال ۱۳۹۸ در مورد شناسایی مولکولی دوکفه‌ای‌های ساحل شیب دراز جزیره قشم با استفاده از توالی ژن COI انجام داده‌اند، اشاره نمود. نتایج این تحقیق نشان داد که گونه متعلق به جنس *Modiolus* و خانواده *Mytilidae* می‌باشد و هم‌اکنون با نام *Modiolus sp. PG* در بانک داده‌ای NCBI به ثبت رسیده‌است [۵]. *Irawan* و *Trisyani* در سال ۲۰۱۰ نیز با بررسی تنوع ژنتیکی گونه‌ای *Solen sp.* در ساحل پامه‌کاسان و ساحل سوربایا در شرق اندونزی با استفاده از نشانگرهای RAPD به این نتیجه دست‌یافتند که از نظر شباهت ۱۳/۱ درصد شباهت بین گونه‌ای در دو منطقه وجود دارد و گونه مورد مطالعه *Solen regularis* می‌باشد [۶]. شناسایی مورفولوژیک گونه‌ها با مشکلاتی مانند دانستن فنوتیپ، مراحل زندگی موجود، جنسیت، دانش تاکسونومیک مواجه است. DNA بارکدینگ یک رویکرد جدید است که می‌تواند بر این مشکلات غلبه کند و به شناخت گونه‌ها کمک کند [۷]. بارکدینگ می‌تواند به‌طور سریع گونه‌های مهاجم را شناسایی کرده و بدین ترتیب باعث حفظ محیط زیست شود [۸]. DNA بارکدینگ امکان شناسایی گونه‌های ناشناخته را با توجه به بالا بودن

تنوع زیستی درون گونه‌ای و پراکنش جغرافیایی گونه‌ها امکان‌پذیر می‌سازد [۹]. استفاده از COI در بررسی‌های فیلوژنتیک می‌تواند به انتخاب بهتر و درست‌تر تاکسون‌ها کمک کند. تا کنون طیف‌های گسترده‌ای از موجودات به کمک بارگزاری DNA شناسایی شده‌اند. در تکنیک‌های مولکولی مذکور از ژن سیتوکروم اکسیداز (COI) به عنوان یک مارکر استاندارد برای شناسایی گونه‌ها استفاده می‌شود [۱۰]. نشانگرهای ژنتیکی جایگاه‌های خاص روی یک کروموزوم دارند که به عنوان نشانه‌های اختصاصی برای تجزیه و تحلیل ژنومی به‌کار گرفته می‌شوند [۱۱]. در سال‌های اخیر استفاده از DNA میتوکندریایی به دلیل نرخ تکامل بالا و همچنین ویژگی‌های خاص mt-DNA برای تحلیل‌های مقایسه‌ای، آن را برای استفاده مناسب ساخته‌است. این ویژگی‌ها شامل اندازه کوچک مولکول [۱۲] و میزان بالای تکامل توالی‌های ژنی میتوکندری می‌باشد [۱۳]. شناسایی مولکولی گونه‌ها و طبقه‌بندی آن‌ها از لحاظ مسائل زیست‌محیطی و کشف تنوع زیستی، حفاظت از گونه‌ها، تضمین امنیت زیستی اهمیت بسیاری دارد [۱۴]. در واقع mt-DNA یک جایگاه ژنتیکی منفرد است که شامل چندین هزار نوکلئوتید است، به‌طوری که فقط می‌تواند بخشی از تغییرات ژنتیکی را در یک گروه از جانوران نشان دهد [۱۵]. بررسی mt-DNA روشی حساس و دقیق برای نمایان ساختن تفاوت‌های ژنتیکی فراهم می‌نماید. این تفاوت‌ها ممکن است بین جمعیت‌های یک گونه وجود داشته‌باشند و نیز می‌تواند از آن‌ها در مطالعات فیلوژنتیک و تعیین درجه نزدیکی و شباهت ژنتیکی موجودات استفاده نمود [۱۶]. شناسایی مولکولی برای دیگر موجودات دریایی همانند گونه‌های مختلف جلبکی همانند *Spirulina sp.* و *Chlorella sp.* که سرشار از امگا ۳ و پروتئین می‌باشد و به عنوان جایگزین غذایی مناسب در آینده مطرح است، باید انجام پذیرد [۱۷]. صدف دوکفه‌ای *Solen dactylus* توسط محققین مختلف از سواحل گلی و شنی دریای عمان و خلیج فارس گزارش شده است [۱۸، ۱۹]. همچنین تحقیقات مختلفی بر روی ارزش غذایی *Solen dactylus* [۲۰] و همچنین خواص آنتی‌اکسیدانی آن انجام شده است [۲۱]. اما تا کنون گزارشی از شناسایی مولکولی آن از خلیج فارس مشاهده نشده است. خور گوپان در شمال تالاب شادگان واقع شده و یکی از خوریات عمیق و بزرگ محسوب می‌شود. با توجه به اینکه این دوکفه‌ای نقش مهمی در تغذیه و تجارت آبزیان داشته و همچنین در سلامت و پاکسازی اکوسیستم‌های آبی به عنوان نقش فیلترکننده از آلودگی‌ها نقش مهمی را ایفا می‌کند، لذا شناخت گونه‌ای دقیق به روش‌های مختلف مولکولی به منظور حفظ و نگهداری آنها بسیار اهمیت دارد. بنابراین، هدف از این تحقیق، شناسایی ریخت‌شناسی و مولکولی گونه

### ۳. شناسایی مولکولی صدف دسته چاقویی *Solen* sp.

ابتدا استخراج DNA با استفاده از روش [۲۳] انجام گردید. برای بررسی کمیت و کیفیت DNA استخراجی از روش‌های الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد و همچنین دستگاه نانودراپ (Thermo Nanodrap) استفاده گردید.

به منظور دستیابی به ناحیه بارکد از ژن COI نمونه‌های مورد بررسی از پرایمرهای زیر استفاده شد [۲۴].

F: 5'-GTAGA ACTAATCATAAAGATATTGG-3

R: 3'-AAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-5

برای تکثیر این جایگاه‌ها طی واکنش PCR از ترکیبات مندرج در جدول ۱ استفاده گردید. در این راستا در ابتدا برای یکسان‌سازی شرایط تکثیر برای نمونه مورد نظر، اقدام به ساخت مخلوط اصلی حاوی همه ترکیبات غیر از DNA نمونه‌ها شد و در نهایت از مقدار حداقل ۱۰۰ ng/μl نانوگرم DNA در واکنش استفاده گردید. برنامه PCR شامل دمای تفکیک‌کننده اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، چرخه، ۳۵ چرخه، دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۰ ثانیه به همراه ۱۰ دقیقه بسط نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد استفاده گردید. محصول PCR بدست آمده برای بررسی الگوی بانندی و ارزیابی نتایج، در ژل آگاروز یک درصد با شدت جریان ۴۰ میلی‌آمپر و به مدت ۳۰ دقیقه الکتروفورز شدند. محصول بدست‌آمده جهت توالی‌یابی ابتدا شستشو به روش کیت Combo kit (GeneAll, South Korea) انجام گرفت و برای خوانش دو طرفه به روش توالی‌یابی سنگر در دستگاه ABI 3730xl Genetic Analyzer آنالیز شدند.

### ۴. تعیین توالی قطعات ژنومی تکثیر یافته گونه *Solen* sp.

توالی‌های به دست‌آمده با فرمت ab1. پس از مشاهده، با استفاده از نرم‌افزار Chromas 2.1 [۲۵] ارزیابی و ویرایش گردید. سپس توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار ClustalW [۲۶] و هم‌ردیف‌سازی نیز به وسیله نرم‌افزار Bioedit 7.0.9 [۲۷] به فرمت‌های قابل استفاده تبدیل گردید. برای تعیین شباهت ترکیب نوکلئوتیدی جایگاه مورد مطالعه، توالی‌های بدست آمده مورد آنالیز همولوژی در نرم‌افزار BLASTn (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) قابل دسترس در NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) قرار گرفت. ترسیم درخت تبارشناسی به روش Parsimony با استفاده از مدل GTR+G و تعداد تکرار پذیری ۱۰۰۰ در نرم‌افزار MEGA7 [۲۸] انجام گرفت و به صورت کلاوگرام نشان داده شده است. گونه *macha* به عنوان برون گروه (out group) در نظر گرفته شد.

*Solen* sp. موجود در منطقه خورگوبان واقع در شمال‌غربی خلیج فارس است.

## روش پژوهش

### ۱. منطقه مورد مطالعه

در تحقیق حاضر به منظور شناسایی ریخت‌شناسی و بررسی مولکولی ژنوم میتوکندریایی صدف دسته چاقویی واقع در خورگوبان، جنوب تالاب شادگان نمونه‌برداری در فصل پاییز ۱۳۹۵ و بهار ۱۳۹۶ انجام گردید (شکل ۱). موقعیت ایستگاه‌ها با استفاده از دستگاه GPS مدل CX120 تثبیت شد. موقعیت ایستگاه در طول جغرافیایی ۳۶ ۴۸ و عرض جغرافیایی ۱۴ ۳۰ واقع در خورگوبان بود.



شکل ۱: نقشه منطقه مورد مطالعه

Fig. 1: The map of the study area

نمونه‌برداری به صورت تصادفی در زمان جزر در خط ساحلی خورگوبان انجام گردید. نمونه‌های دوکفه‌ای مورد نظر با استفاده از کوادرت ۱ متر مربع برداشت شدند، تعداد ۱۰ عدد نمونه سالم و زنده انتخاب و بلافاصله در شرایط سرما و زیر پوشش یخ به آزمایشگاه زیست‌شناس دریا دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر منتقل گردید.

### ۲. شناسایی مورفولوژیک گونه

شناسایی گونه‌ای صدف دسته چاقویی با استفاده از کلید شناسایی معتبر [۲۲] و بر مبنای خصوصیات ریخت‌شناسی همانند اندازه‌های طول و عرض گونه مورد نظر، وجود یا عدم وجود پالیال‌های تانتاکول‌ها، وجود یا عدم وجود شیاری که در ناحیه قدامی (شیاری موازی با لبه) و همچنین محل اتصال عضله‌های مختلف به صدف (جای عضله‌ای) انجام گردید.

جدول ۱: غلظت مواد شیمیایی به کار برده شده در PCR

Table 1: Concentrations of chemicals used in PCR

غلظت نهایی	مقدار هر واکنش	غلظت اولیه	مواد شیمیایی
1.6 X	۵ میکرولیتر	10X	10X PCR buffer
3.3 mM	۴ میکرولیتر	25 mM	MgCl <sub>2</sub>
1.66 mM	۴ میکرولیتر	1.25 mM	dNTP mix
0.8 μM	۲/۵ میکرولیتر	10 pmol/ml	Forward Primer
0.8 μM	۲/۵ میکرولیتر	10 pmol/ml	Reverse Primer
0.03 units/μl	۱ میکرولیتر	1 unit/μl	Taq DNA Polymerase
100 ng/μl	۱ میکرولیتر	100 ng/μl	Template DNA
----	۱۰ میکرولیتر	----	Sterile ddH <sub>2</sub> O

## نتایج و بحث

### ۱. ویژگی‌های ریخت‌شناسی (*Solen dactylus*)

نمونه‌ها را بر اساس خصوصیات ریخت‌شناسی همانند، رنگ، وجود یا عدم وجود تانتاکول‌های پالیالی (شکل ۲)، وجود یا عدم وجود شیار ناحیه قدامی (شیاری موازی با لبه)، اندازه‌گیری طول و عرض صدف (شکل ۴) محل اتصال عضله‌های مختلف به صدف (جای عضله‌ای)، وجود دندانچه کوچک (شکل ۳) نشان‌داد که صدف مورد بررسی متعلق به گونه *S. dactylus* می‌باشد [۲۲]. براساس نتایج و با اندازه‌گیری ابعاد صدف مشخص که کوچکترین صدف دارای طول ۶/۶ سانتی‌متر و عرض ۱/۱ سانتی‌متر و بزرگترین صدف دارای طول ۱۰/۶ سانتی‌متر و عرض ۱/۸ سانتی‌متر می‌باشد. همچنین میانگین اندازه‌گیری نسبت طول به عرض (۵/۷۷ ± ۰/۳۶) می‌باشد (جدول ۲) که با خصوصیات ریخت‌شناسی صدف *S. dactylus* انطباق دارد.



شکل ۳: دندانچه کوچک در قسمت بالایی و اثر عضلات *S. dactylus*

Fig. 3: Small teeth at the top shell and the muscle marks of *S. dactylus*



شکل ۴: اندازه‌گیری طول و عرض نمونه‌های دوکفه‌ای

Fig. 4: Measuring the length and width of bivalve specimens

### ۲. شناسایی مولکولی

استخراج DNA از نمونه *Solen sp.* با موفقیت صورت گرفت و نتایج ارزیابی نشان داد که محصول استخراجی از کیفیت و کمیت مناسبی برخوردار بود. شکل ۵ الگوی حرکتی محصول PCR نمونه‌ها را بر روی ژل آگارز نشان می‌دهد. وزن مولکولی Ladder مورد استفاده ۷۰۰ bp و اندازه قطعه ژنومی تکثیر یافته ۷۰۰ bp بود.



شکل ۲: تانتاکول‌های پالیالی قسمت پشتی *S. dactylus*

Fig. 2: The dorsal part Palial tentacles of *S. dactylus*

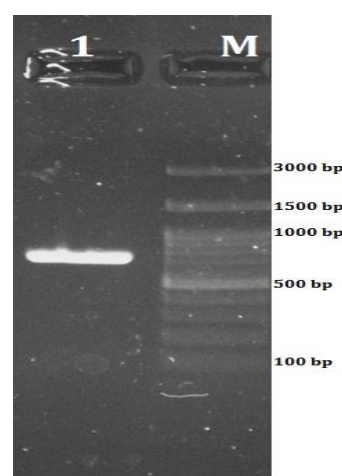


نتایج حاصل از BLASTn، شباهت ۸۳ درصدی را با گونه *Solen strictus* را نشان داد. نتایج بلاست توالی در NCBI مشخص شد و درخت فیلوژنی رسم گردید. نتایج نشان داد که گونه *S. strictus* و گونه *Solen marginatus* و گونه مطالعه حاضر (*Solen sp.*) در یک کلاد خواهری قرار می‌گیرند و از یک نیای مشترک مشتق شده‌اند (شکل ۶).

کاهش منابع غذایی دریایی در بسیاری از نقاط جهان به چشم می‌خورد و این امر بر اهمیت شیلاتی، آبی‌پروری و مدیریت این منابع دریایی می‌افزاید. اما قبل از هر نوع اقدام، مطالعه و تعیین ساختار ژنتیکی گونه‌های با ارزش از روش‌های بسیار لازم و ضروری است. شناسایی مولکولی آبریان تجاری می‌تواند در بهبود برنامه‌های ذخایر دریایی، بهبود صنعت تجارت آبریان و چگونگی افزایش تولید مثل آنها کمک شایانی نماید و در نهایت این امر می‌تواند در توسعه پایدار بسیار موثر باشد [۲۹]. بررسی‌های صدف دوکفه‌ای دسته چاقویی مربوط به خور گوبان در پژوهش حاضر نشان داد که صدف دسته‌چاقویی دارای صفات ریخت‌شناسی همانند شکل و محل اسکار وجود یک دندان کوچک متصل به یک کفه، یک جفت شاخک پالیالی که ویژگی بارز صدف دسته‌چاقویی بوده و به صورت دو زائده از قسمت پا خارج شده، می‌باشد. اندازه‌گیری ابعاد دوکفه‌ای‌ها و تعیین نسبت این ابعاد به یکدیگر نیز یکی دیگر از ابزار شناسایی آنها است. نتایج جدول ۲ نشان داد که میانگین نسبت اندازه طول به عرض صدف مورد بررسی ۵/۷۷ بود که با نتایج ریخت‌شناسی صدف دسته‌چاقویی مورد تحقیق با خصوصیات ریخت‌شناسی صدف *Solen dactylus* منطبق است. دوکفه‌ای *S. dactylus* برای اولین بار در سال ۱۹۸۹ توسط Von Cosel در اقیانوس هند گزارش گردید [۲۲]. همچنین این صدف در خلیج فارس با توجه به ویژگی‌هایی مانند رنگ، خصوصیات جفت شاخک پالیالی در انتهای پشتی و پیچ‌خوردگی آن و غیره در شمال خلیج فارس گزارش شده است [۳۰]. که با نتایج ریخت‌شناسی گونه حاضر در این بررسی منطبق است. بررسی‌های ایستگاهی نشان داد که خور گوبان دارای تراکم بالایی از صدف دسته‌چاقویی می‌باشد. در خور گوبان *S. dactylus* در فصل پاییز ۱۳۹۵ با میانگین ۵۸ عدد در متر مربع و با میانگین ۳۰ عدد در متر مربع در فصل بهار ۱۳۹۶ گزارش شد که نسبتاً دارای تراکم زیادی می‌باشد. زیستگاه‌های طبیعی این صدف در سواحل گلی و یا گلی شنی، سواحل جزرومدی می‌باشد بستر خور گوبان نیز گلی بوده که بستر بسیار مناسبی برای استقرار *S. dactylus* می‌باشد. Liu و همکاران در سال ۲۰۱۴ با استفاده از ژن COI بر روی DNA میتوکندریایی گونه *Solen strictus* را مورد شناسایی قرار دادند [۳۱]. این گونه در سواحل شاندونگ چین پیدا شده، شناسایی مولکولی گونه مورد نظر از خانواده *Solenidae* در خلیج فارس و بررسی توالی قطعات ژنی تکثیر یافته با پرایمرهای اختصاصی COI، شباهت ۸۳ درصدی را با گونه *Solen strictus* نشان داد (شکل ۶).

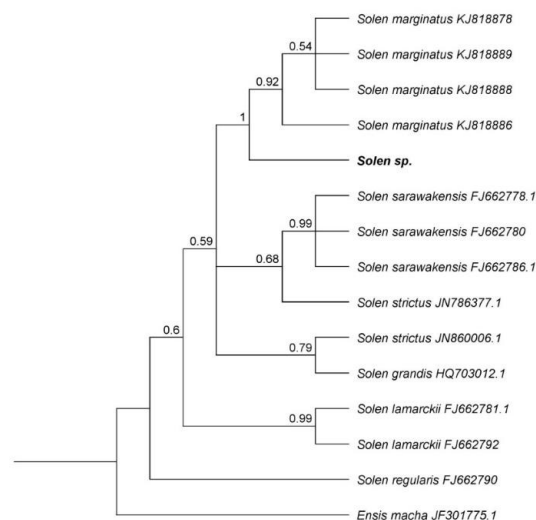
جدول ۲: نتایج اندازه‌گیری طول، عرض و نسبت طول به عرض  
Table 2: Results of measuring length, width and length to width ratio

شماره	طول (Cm)	عرض (Cm)	نسبت طول به عرض
۱	۸/۹	۱/۷	۵/۲۳
۲	۱۰/۶	۱/۸	۵/۸
۳	۹/۱	۱/۵	۶/۰۶
۴	۹/۶	۱/۷	۵/۶۴
۵	۸/۹	۱/۵	۵/۹
۶	۸/۳	۱/۶	۵/۱۸
۷	۶/۶	۱/۱	۶
۸	۹/۰	۱/۶	۵/۶
۹	۹/۸	۱/۶	۶/۱۲۵
۱۰	۹/۹	۱/۶	۶/۱۸
میانگین	۹/۷	۱/۵۷	۵/۷۷



شکل ۵: تکثیر قطعه ژنومی COI مربوط به گونه *S. Dactylus*

Fig. 5: Genomic amplification of COI related to species. *S. dactylus*



شکل ۶: درخت فیلوژنی صدف دسته‌چاقویی *Solen sp.*

Fig. 6: Phylogenetic tree of Razor clam *Solen sp.*

### نتیجه‌گیری

نتایج شناسایی ریخت‌شناسی و مولکولی این تحقیق نشان داد که گونه موجود در خورگوبان *S. dactylus* می‌باشد که از نظر مسائل اقتصادی، زیست محیطی و حفظ تنوع زیستی بسیار حائز اهمیت است. این تحقیق با توجه به محدودیت‌های مطالعاتی در محدوده کوچکی از خلیج فارس یعنی خورگوبان انجام شد و نتایج نشان‌دهنده حضور نسبتاً زیاد این گونه در این خور بود. از آنجائیکه گونه‌های مختلف دوکفه‌ای *Solen* به عنوان یک صدف نرم‌تن خوراکی مطرح و در بازارهای بین‌المللی با قیمت بالایی به فروش می‌رسد. لذا به نظر می‌رسد که تحقیقات بیشتر در زمینه حضور، فراوانی و شناسایی مولکولی این دوکفه‌ای در دیگر نقاط خلیج فارس، می‌تواند کمک شایانی به توسعه شیلاتی کشور از جنبه‌های جمع‌آوری، تکثیر و حتی صادرات آن به دیگر کشورها بنماید. از طرف دیگر نتایج این تحقیق و تحقیقات مشابه می‌تواند دانش ما را در تهیه لیست تنوع زیستی گونه‌های موجود در خلیج فارس بر مبنای شناسایی مولکولی یاری نماید.

### مشارکت نویسندگان

در نگارش این مقاله نویسندگان سهم یکسانی داشتند. تمرکز اصلی نویسنده اول و دوم (مطهره اسدالهی و نسرين سخایی) بر طراحی تحقیق، نمونه‌برداری و شناسایی نمونه‌ها بوده است. تمرکز نویسنده چهارم و پنجم (بیبا ارچنگی و کاوه خسرویانی) بر آنالیزهای آزمایشگاهی بوده است. نظارت بر انطباق مقاله با فرمت مجله، نگارش و جمع‌آوری مطالب، ترجمه و ویراستاری مقالات و هماهنگی محتوایی مقاله را نیز بر عهده نویسنده دوم (نسرين سخایی) بوده است.

### تشکر و قدردانی

مقاله ارسالی حاصل از پایان نامه کارشناسی ارشد خانم مطهره اسدالهی به شماره دانشجویی ۹۴۳۰۱۱۰ بوده که دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر هزینه‌های مالی آن را تأمین نموده است. بدین‌وسیله از کارشناسان محترم آزمایشگاه‌های دانشگاه جناب آقای خالد لفته پور و سرکار خانم حمیدی که در امر نمونه برداری و آنالیز نمونه‌ها همکاری نموده‌اند، قدردانی می‌گردد.

### تعارض منافع

«هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.»

### References

- Katsanevakis S, Lefkadiou ES, Galinou-Mitsoudi S. [Molluscan species of minor commercial interest in Hellenic seas: [Distribution, exploitation and conservation status]. *Mediterranean Marine Sci.* 2008;9(1):77-118. doi: 10.12681/mms.145
- Barnes D, Sato G. [Serum-free cell culture: a unifying approach]. *Cell.* 1980;22(3):649-655. doi: 10.1016/0092-8674(80)90540-1
- Toutouni M, Savari A, Doustshenas B, Sakhaei N, Azadi D. [The Effect of Monsoon on Energy Budget of *Azumapecten Ruschenbergerii* (tryon, 1869) Bivalvia in Chabahar Bay (Oman Sea)]. (Persian). *J Oceanograph.* 2016;7(2):99-108. doi: 1029252/joc103865
- Baron PJ, Real L, Ciocco N, Re M. [Morphometry, growth and reproduction of an Atlantic population of

این در حالی است که این دو گونه از لحاظ ظاهری بسیار به یکدیگر شبیه هستند، اما در بررسی‌های ریخت‌شناسی و استفاده از کلیدهای شناسایی، وجود مشخصاتی چون تانتاکول‌های پالیالی در قسمت جلویی پا، وجود دندان کوچک، اندازه‌گیری ابعاد طول و عرض صدف که ویژگی شاخص گونه *S. dactylus* است و در گونه‌های *S. strictus* و *S. marginatus* وجود ندارد. بنابراین به نظر می‌رسد گونه *Solen sp.* همان گونه *S. dactylus* است. این گونه در پایگاه اطلاعاتی NCBI با کد پذیرش QGL52628 ثبت گردید.

نتایج درخت فیلوژنی نشان داد که گونه *S. strictus* و گونه *S. marginatus* و گونه تحقیق حاضر *S. dactylus* در یک کلاد خواهری قرار می‌گیرند و از یک نیای مشترک مشتق شده‌اند. همچنین گونه مورد نظر *S. dactylus* موجود در خورگوبان ارتباط نزدیکی را با گونه *marginatus* کم‌موجود در سواحل لاکرونیا اسپانیا و گونه *S. strictus* موجود در ساحل شاندونگ چین را نشان داد. Fernández-Tajes و Méndez در سال ۲۰۰۷ با بررسی صدف دسته‌چاقویی در سواحل لاکرونیا اسپانیا با استفاده از ژنوم COI توالی گونه *S. marginatus* را ثبت نمود [۳۲]. در درخت‌های فیلوژنی ترسیم‌شده در مطالعه‌ی حاضر گونه *S. marginatus* با گونه مورد مطالعه در خورگوبان یعنی *S. dactylus* مونوفایلیتیک می‌باشند. Irawan و Trisyani در سال ۲۰۱۰ تنوع ژنتیکی گونه‌های *Solen* در سواحل Pamekasan و سواحل شرقی Surabaya اندونزی را با استفاده از مارکر RAPD بررسی نموده و به این نتیجه رسیدند که از نظر تنوع شباهت ۱/۱۳٪ بین گونه‌های موجود در دو منطقه وجود دارد [۶]. Yuan و همکاران در سال ۲۰۱۲ با استفاده از ژن COI بر روی DNA میتوکندریایی گونه *S. strictus* را در مورد شناسایی قرار دادند [۳۳]. این گونه در سواحل شاندونگ چین پیداشده و با گونه مورد مطالعه حاضر در سواحل خورگوبان در یک کلاد مشترک قرار می‌گیرند. همچنین قابل ذکر است گونه *S. strictus* شباهت ۸۳٪ را با گونه مطالعه حاضر نشان داده است. یکی از برنامه‌های اساسی در صنایع آبی‌پروری، جلوگیری از کاهش تنوع ژنتیکی در طی نسل‌های متمادی می‌باشد، زیرا در جمعیت‌های بسته فرآیندهای کاهش‌دهنده جریان ژنتیکی شدت می‌یابد و اختلافات ژنتیکی نسل‌ها کم می‌شود و در نتیجه فاصله ژنتیکی بین زاده‌ها و والدین کاهش می‌یابد در نتیجه هتروزیگوسیتی کافی حاصل نمی‌شود [۳۴].

- the razor clam *Ensis macha* (Molina, 1782)]. *Scientia Marina*. 2004;**68**:211-217. doi: 10.3989/scimar.2004.68n2211
5. Anam M, Zolgharnein H, Salari MA, Archangi B, Ranjbar MS, Dargahi A. [Morphological and Molecular Identification of *Modiolus* sp PG (Bivalvia; Mytilidae) in Shibderaz, Qeshm Island]. (Persian). *J Oceanograph*. 2019;**10**(38):65-72. doi: 1029252/joc103865
  6. Trisyani N, Irawan B. [Kelimpahan lorjuk (*Solen vaginalis*) di pantai Timur Surabaya] ILMU KELAUTAN. *Indonesian J Marine Sci*. 2010;**13**(2):67-72.
  7. Lehai N, Qi L, Lingfeng K, Shuqing H, Lujing L. [DNA barcoding and phylogeny in the family Mactridae (Bivalvia: Heterodonta): Evidence for cryptic species]. *Biochem System Ecol*. 2012;**44**:164-172. doi: 10.1016/j.bse.2012.05.008
  8. Galimberti A, De Mattia F, Losa A, Bruni I, Federici S, Casiraghi M, et al. [DNA barcoding as a new tool for food traceability]. *Food Res Int*. 2013;**50**(1):55-63. doi: 10.1016/j.foodres.2012.09.036
  9. Reichow MK, Saunders AD, White RV, Al'Mukhamedov AI, Medvedev AY. [Geochemistry and petrogenesis of basalts from the West Siberian Basin: an extension of the Permo-Triassic Siberian Traps]. *Russia Lithos*. 2005;**79**(3-4):425-445. doi: 10.1016/j.lithos.2004.09.011
  10. Hajibabaei M, Singer GA, Hebert PD, Hickey DA. DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *Trends Genet*. 2007;**23**(4):167-172. doi: 10.1016/j.tig.2007.02.001 pmid: 17316886
  11. Goldstein DB, Schlotterer C. [Microsatellites: Evolution and Applications]. Oxford University Press, New York 1999.
  12. Attardi G. [Animal mitochondrial DNA: an extreme example of genetic economy]. *Int Rev Cytol*. 1985;**93**:93-145. doi: 10.1016/S0074-7696(08)61373-X
  13. Brown WM, Prager EM, Wang A, Wilson AC. Mitochondrial DNA sequences of primates: tempo and mode of evolution. *J Mol Evol*. 1982;**18**(4):225-239. doi: 10.1007/BF01734101 pmid: 6284948
  14. Dayrat B. [Towards integrative taxonomy Biological]. *J Linnean Soc*. 2005;**85**(3):407-405. doi: 10.1111/j.1095-8312.2005.00503.x
  15. Ovenden JR, Brasher DJ. [Stock identity of the red (*Jasus edwardsii*) and green (*J verreauxi*) rock lobsters inferred from mitochondrial DNA analysis In 'Spiny Lobster Management']. 1994: (Eds B F Phillips, J S Cobb and J Kittaka) ,(Blackwell Scientific: Cambridge)1994.
  16. Avise JC. [The hope, hype, and reality of genetic engineering: Remarkable stories from agriculture, industry, medicine, and the environment]. Oxford University Press.2004.
  17. Gorjzdadeh H, Sakhaei N, Doustshenas B, Ghanemi K, Archangi B. [Fatty acid composition of *Spirulina* sp, *Chlorella* sp and *Chaetoceros* sp microalgae and introduction as potential new sources to extinct omega 3 and omega 6]. *Iran South Med J*. 2016;**19**(2):212-224. doi: 1018869/acadpubismj192212
  18. Bruyne RH. [The Complete Encyclopedia of Shell]. Rebo Production Lisse, the Nederland.2003.
  19. Saeedi H, Raa SP, Ardalan AA, Kamrani E, Kiabi BH. [Growth and production of *Solen dactylus* (Bivalvia: Solenidae) on northern coastof the Persian Gulf (Iran)]. *J Marine Biol Associat United Kingdom*. 2009;**89**(8):1635-1642. doi: 10.1017/S0025315409000964
  20. Asadollahi M, Sakhaei N, Doustshenas B, Ghanemi K, Archangi B. [Study on the nutritional value of razor clam *solen dactylus* in the Ghouban tidal channel (Persion Gulf) by the measuring of their total lipids, carbohydrate and protoin]. *Int J Agricultur Natur Sci*. 2019;**2**(12):38-41.
  21. Asadollai M, Sakhaei N, Doustshenas B, Ghanemi K, Archangi B. [A study of antioxidant properties of *Solen dactylus* (Bivalvia: Solenidae) with methods reducing power, DPPH and TAC in the Ghouban Estuary (Persian Gulf)]. (Persian). *J Aquatic Ecol*. 2019;**9**(1):50-57.
  22. Von Cosel RUDO. [Three new species of *Solen* (Bivalvia: Solenidae) from the Indian Oce Systematic study on Mollusca from Arabian Gulf and Shatt al-Arab, Iraq, with remarks on the Solenidae of Madagascar]. *J Conchol*. 1989;**33**:189.
  23. Sambrook J, Russell DW. [Molecular cloning: a laboratory manual. 2001.
  24. Folmer O, Hoeh WR, Black MB, Vrijenhoek RC. [Conserved primers for PCR amplification of mitochondrial DNA from different invertebrate phyla]. *Molecular Marine Biol Biotech*. 1994;**3**:294-299.
  25. McCarthy C. [Chromas (Version 15)] .Queensland, Australia: School of Health Science, Griffith University.1996.
  26. Thompson JD, Gibson TJ, Higgins DG. Multiple sequence alignment using ClustalW and ClustalX. *Curr Protoc Bioinformatics*. 2002;**Chapter 2**:Unit 2 3. doi: 10.1002/0471250953.bi0203s00 pmid: 18792934
  27. Hall TA. [BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT ]. *Nucleic Acid Symp Ser*. 1999;**41**:95-98.
  28. Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol Biol Evol*. 2016;**33**(7):1870-1874. doi: 10.1093/molbev/msw054 pmid: 27004904
  29. Lin YS, Poh YP, Lin SM, Tzeng CS. [Molecular techniques to identify freshwater eels: RFLP analyses of PCR amplified DNA fragments and allelespecific PCR from mitochondrial DNA]. *Zoologic Stud*. 2002;**41**(4):421-430.
  30. Saeedi H, Costello MJ, von Cosel R. First report of anterior pallial tentacles in *Solen dactylus* (Bivalvia:



- Solenidae) from the Northern Persian Gulf, Iran. *PLoS One*. 2013;**8**(5):e63487. **doi:** 10.1371/journal.pone.0063487 **pmid:** 23691053
31. Liu J, Li Q, Kong L, Yu H, Zheng X. Identifying the true oysters (Bivalvia: Ostreidae) with mitochondrial phylogeny and distance-based DNA barcoding. *Mol Ecol Resour*. 2011;**11**(5):820-830. **doi:** 10.1111/j.1755-0998.2011.03025.x **pmid:** 21592313
32. Fernandez-Tajes J, Mendez J. Identification of the razor clam species *Ensis arcuatus*, *E. siliqua*, *E. directus*, *E. macha*, and *Solen marginatus* using PCR-RFLP analysis of the 5S rDNA region. *J Agric Food Chem*. 2007;**55**(18):7278-7282. **doi:** 10.1021/jf0709855 **pmid:** 17691804
33. Yuan Y, Li Q, Kong L, Yu H. The complete mitochondrial genome of *Solen strictus* (Bivalvia: Solenidae). *Mitochondrial DNA*. 2012;**23**(2):112-114. **doi:** 10.3109/19401736.2011.653802 **pmid:** 22292895
34. Davis GP, Hetzel DJS. [Integrating molecular genetic technology with traditional approaches for genetic improvement in aquaculture species]. *Aquaculture Res*. 2001;**31**(1):3-10. **doi:** 101046/j1365-2109200000438x

## AUTHOR(S) BIOSKETCHES

**Asadollahi, M.**, MSc. Student, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Oceanography, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran.

[motahareh.asadollahi@gmail.com](mailto:motahareh.asadollahi@gmail.com)



**Sakhaei, N.**, Associate Professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Oceanography, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran.

[sakhaei@kmsu.ac.ir](mailto:sakhaei@kmsu.ac.ir)

0000-0003-4230-2229

**Doustshenas, B.**, Associate Professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Oceanography, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran.

[doustshenas@kmsu.ac.ir](mailto:doustshenas@kmsu.ac.ir)



**Ghanemi, K.**, Associate Professor, Department of Marine Chemistry, Faculty of Marine Science and Oceanography, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran.

[kamalghanemi@gmail.com](mailto:kamalghanemi@gmail.com)



**Archangi, B.**, Associate Professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Oceanography, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran.

[bita.archangi@gmail.com](mailto:bita.archangi@gmail.com)



**Khosraviani, K.**, Associate Professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

[khosraviani.kave@gmail.com](mailto:khosraviani.kave@gmail.com)



**HOW TO CITE THIS ARTICLE**

**Citation (Vancouver)** Asadollahi M, Sakhaei N, Doustshenas B, Ghanemi K, Archangi B, et al. Morphological investigation and molecular identification of *Solen dactylus* (Bivalvia: Solenidae) in the Khowr-e Guban (North of Persian Gulf). *J Oceanography*. 2021; 12 (47):63-72.

 <http://doi.org/10.52547/joc.12.47.63>

 <http://joc.inio.ac.ir/article-1-1629-fa.html>

 <https://orcid.org/0000-0002-8311-5238>

**COPYRIGHTS**

©2021 The author(s). This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution (CC BY 4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, as long as the original authors and source are cited. No permission is required from the authors or the publishers.