

بررسی فیلوژنی مولکولی شقایق دریایی جنس *Anemonia* (Actiniaria: Actiniidae) بر اساس توالی DNA میتوکندریایی (COI) در خلیج فارس

حسین ذوالقرنین^۱، صبا حسینی^{۲*}

۱- دانشیار، گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوس‌شناسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، پست الکترونیکی: zolgharnein@kmsu.ac.ir

۲- کارشناسی ارشد، گرایش بیوتکنولوژی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوس‌شناسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، پست الکترونیکی: saba.hoseymy@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۹۴/۳/۶

* نویسنده مسوول

تاریخ دریافت: ۹۴/۱/۵

© نشریه علمی - پژوهشی اقیانوس‌شناسی ۱۳۹۳، تمامی حقوق این اثر متعلق به نشریه اقیانوس‌شناسی است.

چکیده

در این مقاله، فیلوژنی مولکولی شقایق دریایی جنس *Anemonia* (Actiniaria: Actiniidae) بر اساس توالی DNA میتوکندریایی (COI) در خلیج فارس مورد بررسی قرار گرفت. گونه مورد مطالعه در این تحقیق از جزیره لارک واقع در خلیج فارس جمع آوری شد و DNA آن استخراج و قسمتی از ژن COI آن (حدود ۷۰۰ جفت باز) با استفاده از دو پرایمر LCO1490 و HCO2198 به وسیله PCR تکثیر داده شد و محصول PCR در دستگاه توالی یاب خودکار DNA به وسیله شرکت BioNEER توالی‌یابی گردید. توالی نوکلئیک اسید و پروتئین گرفته شده از ژن COI به عنوان یک توالی جدید در ژن بانک گزارش شد. بر طبق این توالی شقایق خلیج فارس به عنوان یک گونه جدید با نام *Anemonia* sp. PG و شماره ثبت AB933643.1 در وب‌گاه NCBI قرار گرفت. هدف از این مطالعه شناسایی مولکولی شقایق خلیج فارس و انجام آنالیز مولکولی روی آن بود. در آنالیز مولکولی توالی قسمتی از ژن COI میتوکندریایی گونه *Anemonia* sp. PG از خلیج فارس با ۱۵ شقایق دریایی دیگر از بانک ژن که از لحاظ توالی ژنتیکی به گونه مورد بررسی نزدیک هستند مقایسه گردید. گونه *Metridium senile* به عنوان برون گونه در نظر گرفته شد. بررسی فیلوژنتیکی بر اساس آنالیز Neighbor-Joining رابطه خوهری بین گونه *Anemonia* sp. PG از ایران و گونه *Anemonia* sp. Anem را نشان داد ولی روابط منوفایلیتیک بین خانواده‌های شقایق دریایی را نشان نداد. کلمات کلیدی: شقایق دریایی، فیلوژنتیک، شناسایی مولکولی، COI، خلیج فارس.

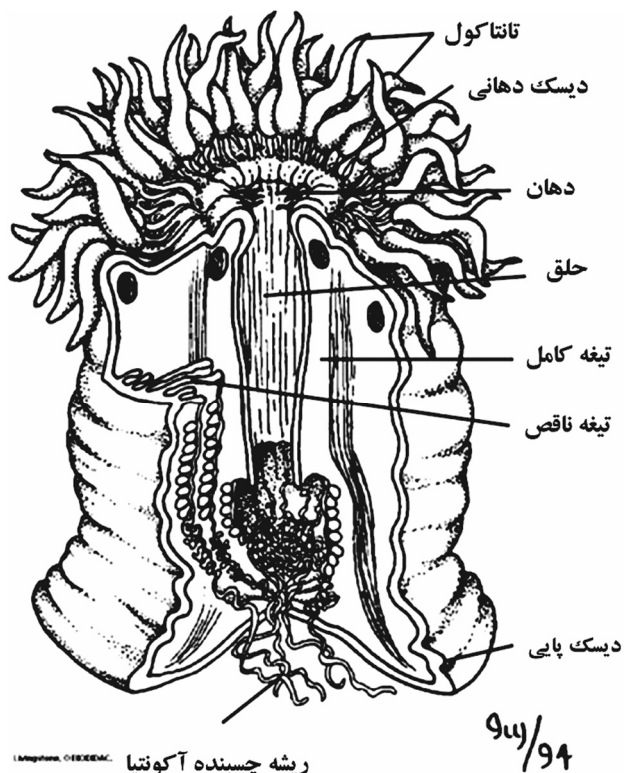
۱. مقدمه

صورت کلنی زندگی می‌کنند. از اجتماع این جانوران آب سنگ‌ها، صخره‌ها و جزایر مرجانی به وجود می‌آیند. (برنا، ۱۳۹۱). آبسنگ‌های مرجانی بوم‌سامانه‌های متنوع و حاصلخیزی هستند که در آب‌های کم عمق مناطق گرمسیری وجود دارند (بلوکی و همکاران، ۱۳۹۲).

شقایق‌های دریایی (شاخه Cnidaria و راسته Actiniaria) در تمام بوم‌سامانه‌های دریایی وجود دارند (Rodríguez et al., 2007) و به

۲. مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری در آبان ۱۳۹۲ با غواصی از جنوب غربی جزیره لارک واقع در استان هرمزگان (شهرستان قشم) ($26^{\circ}51'0''N$, $56^{\circ}21'0''E$) انجام شد. ۶ عدد شقایق دریایی از گونه غالب منطقه جمع‌آوری شد که در نهایت از یک گونه برای شناسایی مولکولی استفاده گردید. نمونه‌ها به آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر انتقال داده شدند. برای انتقال از تانک ازت استفاده و نمونه‌ها در دمای $8^{\circ}C$ - نگهداری شدند. در این مطالعه به منظور شناسایی مولکولی از تکه‌ای حدود ۱۰۰-۵۰ میلی‌گرم از دیسک پایی شقایق دریایی (شکل ۱) برای استخراج DNA استفاده شد. در مرحله اول بافت با نیتروژن مایع پودر شد و سپس در حجم نهایی ۶۳۰ میکرولیتر از بافر لیزکننده CTAB (۱ درصد، $CTAB$ ۷/۵ Tris-Base PH: ۱۰۰ میلی‌مولار، $NaCl$ ۷۰۰ میلی‌مولار، $EDTA$ ۵۰ میلی‌مولار، ۲- مرکاپتواتانول ۱۴۰ میلی‌مولار) قرار داده شد. سپس به محلول ۷۰ میکرولیتر SDS ۱۰ درصد و ۱۰ میکرولیتر پروتیناز k اضافه گردیده و در دمای $55^{\circ}C$ قرار داده شد و استخراج DNA با روش فنل-کلرفرم ادامه یافت.



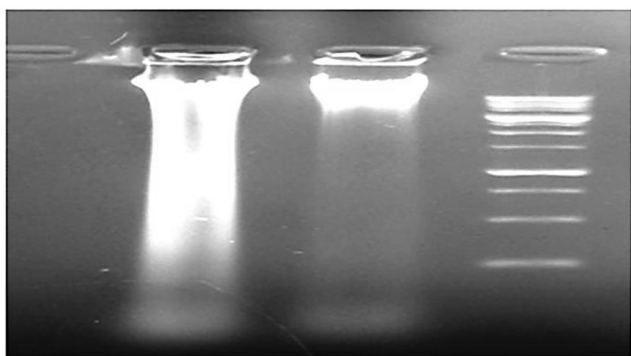
شکل ۱: شکل شماتیک شقایق دریایی (وب‌گاه MarLIN)

شقایق‌های دریایی با تنوع گونه‌ای بالا به لحاظ بوم‌شناختی گروه مهمی از جانوران محسوب می‌شوند. پولیپ‌های بی پایه این موجودات دریازی با استفاده از دیسک پای چسبنده به کف بستر متصل شده و بدن استوانه‌ای شکل آن‌ها از سوی دیگر به یک دیسک دهانی ختم می‌شود. دیسک دهانی دارای ده‌ها تا صدها تتاکول است (Frazao et al., 2012). شقایق‌های دریایی (راسته Actiniaria) در زیر گروه Hexacorallia قرار دارند (Sebens and Paine., 1978). یک پولیپ منفرد در محیط طبیعی بیش از ۵۰ سال و در محیط مصنوعی تا ۱۵۰ سال می‌تواند زندگی کند (Shick, 1991).

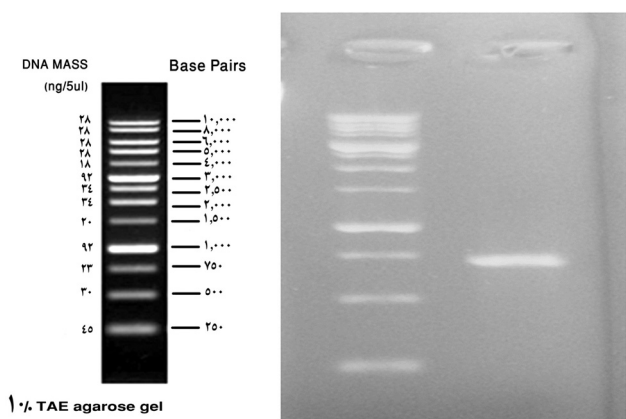
روش‌های رایج نام‌گذاری و طبقه‌بندی موجودات بر اساس سیستم طبقه‌بندی که توسط کارل لینه در ۲۵۰ سال پیش بنیان نهاده شد، صورت می‌گیرد. این نوع طبقه‌بندی با شناسایی تنوع ژنتیکی بین افراد یک گونه دچار تغییراتی شد که نشان می‌داد تکامل گونه‌ها در طول زمان ثابت نیستند. ویژگی‌های ریخت‌شناسی به عنوان مبنای طبقه‌بندی قادر به تشخیص در حدود ۱,۷ میلیون گونه است. این در حالی است که بخش بسیار کوتاهی از توالی DNA حاوی اطلاعات بسیار زیادی برای تعیین ۱۰ یا حتی ۱۰۰ میلیون گونه از موجودات مختلف است. در این میان بخشی از توالی ژن کدکننده سبتوکروم اکسیداز I به عنوان یک نشانگر ژنتیکی در بین افراد یک گونه عموماً اختلاف بسیار پایینی (کمتر از ۱٪) دارد و در اجتماعات با خویشاوندی بسیار نزدیک نیز سبب تمایز گونه‌ها از هم می‌شود. هر چه از سطح بین‌گونه‌ای دورتر شویم وجود اختلافات در توالی COI پیچیده‌تر می‌شود (Hebert et al., 2003).

هدف از این مطالعه شناسایی مولکولی شقایق دریایی خلیج فارس و بررسی روابط فیلوژنی آن است. به منظور بررسی فیلوژنی گونه‌ها از آنالیز Neighbor-Joining استفاده گردید. در این بررسی ۱۶ گونه شقایق دریایی که بیشترین شباهت را در توالی نوکلئوتیدی با گونه ایرانی داشتند از بانک جهانی ژن برای آنالیزهای فیلوژنتیکی انتخاب شدند. (McCommas 1991) روابط فیلوژنی ۱۲ گونه از ۶ جنس متعلق به خانواده Actiniidae را بررسی کردند. Rodri'guez و Daly (۲۰۱۰) روابط فیلوژنی میان شقایق‌های دریایی از فراخانواده Mesomyaria را شرح دادند. Daly و همکاران (۲۰۰۸) روابط فیلوژنی میان ۴۵ جنس از ۲۳ خانواده را شرح دادند.

ژن بانک ثبت گردیدند. این گونه با نام *Anemonia* sp. PG تحت جنس *Anemonia* قرار گرفت.



شکل ۲: ارزیابی DNA استخراج شده شقایق *Anemonia* sp. PG به روش CTAB روی ژل آگارز ۱ درصد



شکل ۳: ارزیابی محصول PCR شقایق *Anemonia* sp. PG روی ژل آگارز ۱ درصد

با BLAST توالی شقایق دریایی خلیج فارس به وسیله وب‌گاه ncbi توالی‌های مشابه شناسایی گردیدند و برای مشخص کردن فاصله ژنتیکی^۱ این داده‌ها، در نرم افزار MEGA نسخه ۵، پردازش شدند و درخت فیلوژنتیکی آن رسم شد (شکل ۴). اطلاعات تکمیلی گونه‌های بررسی شده در این مقاله از جمله توالی و شماره ثبت آن‌ها در جدول ۲ قرار داده شده است.

طبق بررسی مولکولی انجام شده در این تحقیق مشخص شد که گونه خلیج فارس از نظر توالی ژنتیکی شبیه گونه *Anemonia* sp. Anem از جنس *Anemonia* (Risso, 1826) است و با آن در یک گروه خواهری قرار دارد. گونه *Metridium senile* (Linnaeus, 1761) به عنوان برون گونه در نظر گرفته شد. *Metridium senile* یک گونه از شقایق دریایی از خانواده

¹ Genetic distance

در این مطالعه جهت تکثیر قسمت حدود ۷۰۰ جفت بازی از بخشی از ژن زیر واحد I سیتوکروم اکسیداز (COI) از پرایمرهای LCO1490 و HCO2198 (Folmer et al., 1994) استفاده شد (جدول ۱).

جدول ۱: پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه حاضر

نام پرایمر	توالی پرایمر
LCO1490	5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3'
HCO2198	5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3'

هر واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر و حاوی ۱ میکروگرم DNA الگو، ۲/۵ میکرولیتر 10x PCR Buffer، ۰/۵ میکرو لیتر ۱۰dNTP میلی‌مول، ۱ میکرولیتر ۵۰ MgCl₂ میلی-مول، ۱ میکرولیتر Primer F (۱۰ پیکومول بر میکرولیتر)، ۱ میکرولیتر Primer R (۱۰ پیکومول بر میکرولیتر) و ۰/۳ میکرولیتر Tag DNA Polymerase 5u/μL (سیناژن) در دستگاه ترمال‌سایکلر (BIO-RAD) انجام شد.

پروفایل حرارتی متشکل از ۵ دقیقه واسرشتگی اولیه در دمای ۹۴ °C و به دنبال آن ۳۵ مرحله شامل ۳۰ ثانیه در ۹۴ °C، ۴۵ ثانیه در ۴۵ °C، ۱ دقیقه در ۷۲ °C و در آخر ۷ دقیقه بسط نهایی در ۷۲ °C تکمیل شد. کیفیت محصول PCR با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد ارزیابی گردید.

توالی‌یابی محصول PCR در دستگاه توالی‌یاب DNA خودکار توسط شرکت (Korea) BioNEER انجام شد. با BLAST توالی شقایق دریایی خلیج فارس به وسیله وب‌گاه ncbi توالی‌های مشابه شناسایی گردیدند. اطلاعات مربوط به توالی نوکلئوتیدی به دست آمده از ژن بانک در جدول ۲ آمده است. در این پژوهش از نرم افزارهای (Hall, 1999) MEGA نسخه ۵، BioEdit نسخه ۷ (Jeanmougin et al., 1998) و clustal x (Thompson et al., 1997) استفاده شده است.

۳. نتایج و بحث

با بررسی صخره‌های سنگی بوشهر، خارک و قشم در خلیج فارس، نمونه مورد نظر در جنوب غربی جزیره لارک در قشم جمع‌آوری گردید. ابتدا DNA شقایق دریایی استخراج و سپس قسمتی از ژن COI آن به وسیله PCR تکثیر شد (شکل ۳) و توالی نوکلئوتیدی و پروتئین حاصل از آن به صورت توالی‌های جدید به ترتیب با شماره‌های AB933643.1 و BAO79525.1

فراخانواده‌های *Athenaria* و *Mesomyaria* هر دو polyphyletic هستند. همچنین آن‌ها دریافتند که اعضای خانواده *Actiniidae* در سراسر کلاد^۱ endomyarian توزیع شده‌اند و این خانواده به صورت گسترده paraphyletic است.

هیچ یک از فراخانواده‌هایی که درون زیر راسته *Nynantheae* قرار دارند، منوفایلیتیک نیستند (Rodríguez et al., 2012; Daly et al., 2008). خانواده *Actiniidae* به عنوان بزرگ‌ترین خانواده در راسته *Actiniaria* است و پلی‌فایلی^۲ بودن آن بر مبنای مطالعات فیلوژنی قبلی غیرمنتظره نیست (Won et al., 2001; Daly et al., 2003). Rodrí'guez و همکاران (۲۰۱۴) پس از بررسی‌های فراوان نشان دادند که فراخانواده‌ها و اکثر خانواده‌ها و جنس‌های رده *Actiniaria* منوفایلیتیک نیستند که این نشان‌دهنده تضاد با طبقه‌بندی سلسله‌مراتبی^۳ جاری است این افراد همچنین اظهار داشتند طبقه‌بندی ریخت‌شناسی موجود برای رده *Actiniaria* ناکافی است و بنابراین نیاز به یک طبقه‌بندی جدیدی در سطح بالاتر برای راسته *Actiniaria* را ضروری دانستند که با یافته‌های مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. دو گونه *Stichodactyla* از خانواده *Stichodactylidae* طبق BLAST در NCBI و درخت فیلوژنی NJ ترسیم شده (شکل ۴) از لحاظ ژنتیکی به گونه ایرانی نزدیک هستند؛ اما سایر گونه‌ها از خانواده *Actiniidae* می‌باشند که این نشان‌دهنده ناکافی بودن طبقه‌بندی حاضر است و با مطالعات Rodrí'guez و همکاران (۲۰۱۴) هم‌خوانی دارد. خانواده‌های *Actiniidae* و *Stichodactylidae* هر دو جزو فراخانواده *Actinioidea* هستند (Carlgren, 1949; Rafinesque, 1815). رابطه نزدیک برخی گونه‌های جنس *Anthopleura* با گونه‌های سایر جنس‌های خانواده *Actiniidae* و مشاهده پیوستگی برخی دیگر از گونه‌های این جنس در خانواده‌های دیگر (نظیر *Isosicyonis*, *Dactylanthus*, *Heteractis*, *Phymanthus*) نشان‌دهنده پلی‌فایلیتیک بودن جنس *Anthopleura* است (Daly and den Hartog, 2004). طبق مطالعه فیلوژنی حاضر گونه‌های جنس *Anthopleura* (همانند گونه *Anthopleura elegantissima*) از لحاظ ژنتیکی به گونه ایرانی که تحت جنس *Anemonia* است،

نیز *Metridiidae* است (جدول ۲) گونه‌های جنس *Anthopleura* از لحاظ ژنتیکی به گونه مورد نظر شباهت زیادی دارند که سواحل اقیانوس آرام و شمال آمریکا را فرا گرفته‌اند (Kozloff, 1996). درخت فیلوژنی ترسیم شده در شکل ۴، سه خانواده از شقایق‌های دریایی را نشان می‌دهد (*Actiniidae*، *Metridiidae*، *Stichodactylidae*). گونه‌های ایرانی شقایق دریایی جزو خانواده *Actiniidae* تقسیم‌بندی می‌شوند.

جدول ۲: گونه‌های مورد استفاده در مطالعه حاضر و شماره ثبت آن‌ها در بانک ژنی

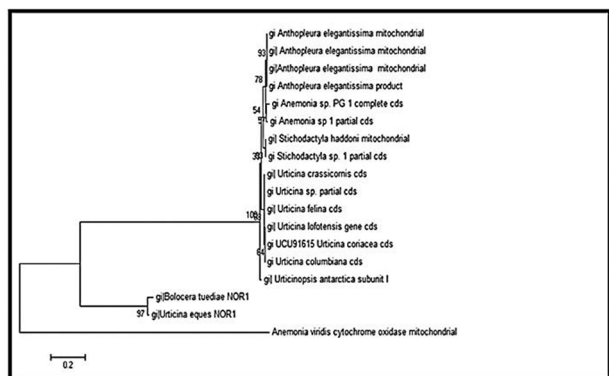
Taxa	GenBank accession numbers
<i>Anemonia</i> sp. PG	AB933643.1
*(Iranian species)	
<i>Anemonia</i> sp. Anem	AB441274.1
<i>Anthopleura elegantissima</i>	AF480931.1
<i>Stichodactyla haddoni</i>	JX502836.1
<i>Stichodactyla</i> sp. BZStic	AB441275.1
<i>Anthopleura elegantissima</i>	GU443181.1
<i>Anthopleura elegantissima</i>	GU443180.1
<i>Urticinopsis antarctica</i>	AJ830011.1
<i>Bolocera tuediae</i>	HG423145.1
<i>Urticina eques</i>	HG423144.1
<i>Anthopleura elegantissima</i>	GU443182.1
<i>Urticina crassicornis</i>	U91612.1
<i>Urticina</i> sp. Reversing Falls	U91611.1
<i>Urticina felina</i>	U91610.1
<i>Urticina lofotensis</i>	U91614.1
<i>Urticina coriacea</i>	U91615.1
<i>Urticina columbiana</i>	U91613.1
<i>Metridium senile</i> (out group)	FJ489494.1
<i>Anemonia viridis</i>	DQ831333.1

خانواده *Actiniidae* بزرگ‌ترین و متنوع‌ترین خانواده از شقایق‌ها است (McCommas, 1991). این خانواده ۴۳ جنس و حدود ۲۲۰ گونه دارد (حدود نیمی از گونه‌های راسته) (McCommas, 1991).

نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر حاکی از این است که گونه‌های مشابه با شقایق دریایی خلیج فارس متعلق به یک خانواده نبوده و رابطه فیلوژنی منوفایلیتیک را نشان نمی‌دهند که با نتایج Daly و همکاران (۲۰۰۸)، Rodrí'guez و همکاران (۲۰۱۲)، Won و همکاران (۲۰۰۱) و Daly و همکاران (۲۰۰۳) هم‌خوانی دارد. در تحقیقی که توسط Daly و Rodrí'guez (۲۰۱۰) انجام شد، روابط فیلوژنی بین شقایق‌های دریایی فراخانواده *Mesomyaria* نشان داد که شقایق‌های دریایی محیط‌های chemosynthetic حداقل از ۲ دودمان مختلف به وجود آمده‌اند. Daly و همکاران (۲۰۰۸) روابط فیلوژنی بین ۴۵ جنس از ۲۳ خانواده را شرح دادند و دریافتند که

¹ Clad
² Polyphyly
³ Hierarchical

نشان‌دهنده پارافیلتیک^۲ بودن خانواده Actiniidae است که با مطالعات Daly و همکاران (۲۰۰۸) و Rodri'guez و همکاران (۲۰۱۲) مطابقت دارد.



شکل ۵: درخت فیلوژنی شقایق‌های دریایی که در آن از توالی گونه *Anemonia viridis* استفاده شده است.

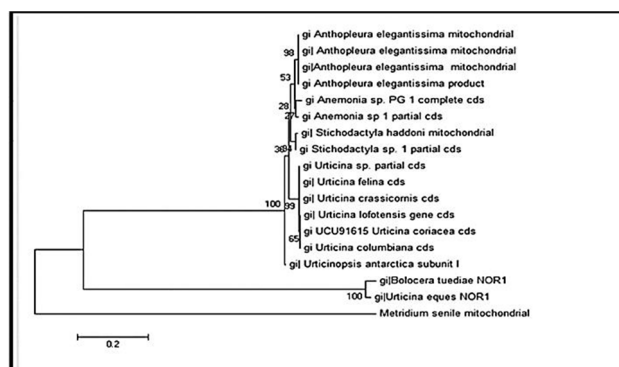
۴. نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر اولین مطالعه مولکولی جنس *Anemonia* sp. PG در سواحل لارک (واقع در جزیره قشم در خلیج فارس) است. در این پژوهش پس از شناسایی مولکولی، گونه خلیج فارس با نام *Anemonia* sp. PG تحت جنس *Anemonia* قرار گرفت. طبق بررسی مولکولی انجام شده در این تحقیق مشخص شد که گونه موجود در آب‌های جزیره قشم از نظر توالی ژنتیکی شبیه گونه *Anemonia* sp. Anem است و با آن در یک گروه خواهری قرار دارد. همچنین گونه ایرانی شباهتهایی را با سایر جنس‌ها در خانواده Actiniidae (مانند *Urticina*، *Anthopleura*، *Bolocera* و *Urticinopsis*) نشان داد که نشان‌دهنده پارافیلتیک بودن خانواده Actiniidae است.

نتایج فیلوژنی به دست آمده از مطالعه حاضر حاکی از این است که گونه‌های مشابه با شقایق دریایی خلیج فارس متعلق به یک خانواده نبوده و دو گونه از خانواده Stichodactylidae لحاظ ژنتیکی به گونه ایرانی نزدیک هستند درحالی‌که سایر گونه‌ها از خانواده Actiniidae می‌باشند (شکل ۴). همچنین با توجه به اینکه گونه *Anemonia viridis* با شقایق دریایی خلیج فارس در یک جنس قرار گرفته‌اند، اما گونه *Anemonia viridis* طبق BLAST در NCBI و درخت فیلوژنی NJ ترسیم شده

² Paraphyletic

شباهت زیادی دارند که با مطالعات Daly و Hartog (۲۰۰۴) هم‌خوانی دارد.



شکل ۴: درخت فیلوژنی خانواده‌های شقایق‌های دریایی با استفاده از آنالیز Neighbor Joining (NJ)، اعداد بوت استرپ با ۱۰۰۰ Replication را نشان می‌دهد. گونه *Metridium senile* به عنوان برون گونه در نظر گرفته شده است. گونه ایرانی با نام *Anemonia* sp. PG مشخص شده است.

جنس *Anemonia* دارای ۷ گونه زیر است (وب‌گاه NCBI). *Anemonia majano*، *Anemonia erythraea*، *Anemonia viridis*، *Anemonia sulcata*، *rustica*، *Anemonia* sp. PG، *Anemonia* sp. Anem، *Anemonia* sp. PG *viridis* توالی ژن COI آن‌ها ثبت شده است و سایر گونه‌ها یا از لحاظ ریخت‌شناسی شناسایی شده‌اند و یا با استفاده از سایر مارکرهای ملکولی در بانک ژنی ثبت شده‌اند. پس از BLAST کردن، گونه‌های *Anemonia* sp. PG و *Anemonia* sp. Anem با هم شباهت توالی زیادی داشتند و در درخت فیلوژنی رسم شده در یک گروه خواهری قرار گرفتند. اما گونه *Anemonia viridis* در میان گونه‌های نزدیک قرار نگرفت و یک درخت نیز با توالی‌های نزدیک به گونه ایرانی و توالی این گونه کشیده شد که در نهایت گونه *Anemonia viridis* به صورت out group قرار گرفت. همچنین ۲ گونه دیگر از خانواده Stichodactylidae شقایق مورد نظر شباهت توالی داشتند و با آن در یک کلاد قرار گرفت که این نشان‌دهنده ناکافی بودن طبقه‌بندی در این راسته است که با مطالعات Rodri'guez و همکاران (۲۰۱۴) هم‌خوانی دارد. طبق نتایج به دست آمده از وب‌گاه Blast، گونه ایرانی شباهتهایی را با سایر جنس‌ها در خانواده Actiniidae (مانند *Urticina*، *Bolocera*، *Urticinopsis*) نشان داد که

¹ Boot strap

- R., 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular marine biology and biotechnology*, 3: 294-299.
- Frazao, B.; Vasconcelos, V.; Antunes, A., 2012. Sea anemone (Cnidaria, Anthozoa, Actiniaria) toxins: an overview. *Marine Drugs*, 10: 1812-1851.
- Jeanmougin, F.; Thompson, J.D.; Gouy, M.; Higgins, D.G.; Gibson, T.J., 1998. Multiple sequence alignment with Clustal X. *Trends. Biochemistry Science*, 23: 403-405.
- Hall, T.A., 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium*, 41: 95-98.
- Hebert, P.D.N.; Cywinska, A.; Ball, S.L.; Dewaard, J.R., 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society London, Series B, Biological Sciences*, 270: 313-322.
- Kozloff, E.N., 1996. *Marine invertebrates of the pacific northwest*. 2nd. Seattle: University of Washington Press. 552 P.
- Linnaeus., 1761. *Metridium senile*. *World Register of Marine Species*. Retrieved. 2011: 09-05.
- McCommas, S.A., 1991. Relationships within the family Actiniidae (Cnidaria, Actiniaria) based on molecular characters. *Hydrobiologia*, 216/217: 509-512.
- Rafinesque, C.S., 1815. *Analyse de la Nature ou Tableau de l'Univers et des Corps Organise's*. Palerme: Rafinesque C.S. 224 P.
- Rodri'guez, E.; Barbeitos, M.S.; Brugler, M.R.; Crowley, L.M.; Grajales, A.; Gusma, L.; Ha'ussermann, V.; Reft, A.; Daly, M., 2014. Hidden among sea anemones: The first comprehensive phylogenetic reconstruction of the order Actiniaria (Cnidaria, Anthozoa, Hexacorallia) reveals a novel group of hexacorals, *PLOS ONE*, 9: 5-96998.
- (شکل ۴) در میان گونه‌های نزدیک قرار نگرفت و در یک شاخه (موقعیت) متفاوت به صورت out group قرار گرفت. در نتیجه راسته Actiniaria رابطه فیلوژنی منوفایلیتیک را نشان نمی‌دهد که این نشان‌دهنده ناکافی بودن طبقه‌بندی در این راسته است. بنابراین نیاز به یک طبقه‌بندی جدیدی در سطح بالاتر برای راسته Actiniaria ضروری است.
- ## ۵. سپاسگزاری
- بدین‌وسیله مراتب تشکر و قدردانی نویسندگان از مسوولین آزمایشگاه بیولوژی دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، دکتر شریف رنجبر، مهندس محمد غواصی و همچنین سرکار خانم دکتر شراره سواری و جناب آقای دکتر احمد شادی به‌عمل می‌آید.
- ## منابع
- برنا، م.، ۱۳۹۱. اکولوژی آبزیان خلیج فارس (با تاکید بر آب‌های بوشهر). انتشارات آینه کتاب، تهران، تعداد صفحات ۱۸۰.
- بلوکی، م.؛ سواری، ا.؛ نبوی، م.ب.؛ رونق، م.ت.؛ دانشمند، ع.، ۱۳۹۲. مقایسه تراکم جلبکهای همزیست با مرجان *Porites compressa* در خلیج نایبند. نشریه اقیانوس‌شناسی، سال چهارم، شماره ۱۳، صفحات ۴۵-۵۱.
- Carlgren, O., 1949. A survey of the Ptychodactiaria, Corallimorpharia and Actiniaria. *Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar*, 1: 1-121.
- Daly, M.; Hartog, J.C., 2004. Taxonomy, circumscription, and usage in Anthopleura (Cnidaria: Anthozoa: Actiniaria) from the Gulf of Mexico and Caribbean. *Bulletin of Marine Science*, 74: 401-421.
- Daly, M.; Chaudhuri, A.; Gusmão, L.; Rodríguez, E., 2008. Phylogenetic relationships among sea anemones (Cnidaria: Anthozoa: Actiniaria). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 48: 292-301.
- Daly, M.; Fautin, D.G.; Cappola, V.A., 2003. Systematics of the Hexacorallia (Cnidaria: Anthozoa). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 139(3): 419-437.
- Folmer, O.; Black, M.; Hoeh, W.; Lutz, R.; Vrijenhoek,

- on marine biogeography and ecology in the southern hemisphere. NZDSIR Auckland, New Zealand, 219-238 PP.
- Shick, J.M., 1991. A functional biology of sea anemones. Chapman and Hall, London, 395PP.
- Thompson, J.D.; Gibson, T.J.; Plewniak, F.; Jeanmaougin, F.; Higgins, D.G., 1997. The Clustal X Windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* 24: 4876-4882.
- Won, J.H.; Rho, B.J.; Song, J.I., 2001. A phylogenetic study of the Anthozoa (Phylum: Cnidaria) based on morphological and molecular characters. *Coral Reefs*, 20: 39-50.
- Rodríguez, E.; Barbeitos, M.; Daly, M.; Gusmao, L.C.; Haussermann, V., 2012. Toward a natural classification: phylogeny of acontiate sea anemones (Cnidaria, Anthozoa, Actiniaria). *Cladistics*, 1: 1-18.
- Rodríguez, E.; Daly, M., 2010. Phylogenetic relationships among deep-sea and chemosynthetic sea anemones: Actinoscyphiidae and actinostolidae (Actiniaria: Mesomyaria). *PLoS ONE*, 5: 6- e10958.
- Rodríguez, E.; Daly, M.; Fautin, D.G., 2007. Order Actiniaria. In: *The phylum Cnidaria: a review of phylogenetic patterns and diversity 300 years after Linnaeus*. *Zootaxa*, 1668: 131-138.
- Sebens, K.P.; Paine, R.T., 1978. Biogeography of anthozoans along the west coast of South America: habitat, disturbance, and prey availability. *Symposium*