دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست- پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال بیست و یکم، شماره ۲، صفحه ۱۶۱ - ۱۴۷ (خرداد و تیر ۱۳۹۷)

Iran South Med J 2018; 21(2): 147-161

شناسایی ملکولی زوانتیدهای آب‌های کم ژرفا در سواحل بوشهر – خلیج‌فارس

ماشااله درویشی (MSc)[۱]، مریم مرادی‌نسب (MSc)[۲*]، سیدجواد حسینی (PhD)[۳]،
رضا محمدنیا (DVM)[۴]، زهرا امینی‌خوئی (PhD)[۵]، سیما نصری[۱] (PhD)، ایرج نبی‌پور (MD)[۶]

[۱] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور تهران، تهران، ایران
[۲] مرکز تحقیقات طب گرمسیری و عفونی خلیج‌فارس، پژوهشکده علوم زیست پزشکی خلیج‌فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران
[۳] گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده خلیج‌فارس، دانشگاه خلیج‌فارس، بوشهر، بوشهر، ایران
[۴] اداره کل دامپزشکی استان بوشهر، بوشهر، ایران
[۵] مرکز تحقیقات آبهای دور چابهار، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، چابهار، ایران
[۶] مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی خلیج‌فارس، پژوهشکده علوم زیست پزشکی خلیج‌فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

(دریافت مقاله: ۹۶/۹/۶- پذیرش مقاله: ۹۶/۱۱/۲۳)

چکیده

زمینه: راسته‌ی زوآنتاریا (**Cnidaria: Anthozoa**) یکی از راسته‌های کمتر بررسی شده در خلیج‌فارس است. این گروه از سنیداریاها غالباً در آب‌های گرم مناطق متفاوت جهان یافت می‌شوند و شناسایی مورفولوژیک آنها به دلیل تنوع رنگی گسترده، در سطح گونه بسیار پیچیده است. بدین منظور در این مطالعه برای نخستین بار تنوع زوانتیدهای آب‌های کم ژرفا خلیج‌فارس– سواحل بوشهر به روش فیلوژنتیک ملکولی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: بیست و چهار کلونی زوانتید با شکل و رنگ‌های متفاوت از نواحی جزر و مدی و کم عمق سواحل بوشهر جمع‌آوری شدند. پس از استخراج **DNA** به روش **CTAB**- فنل- کلروفروم، قطعه ژنی مارکرهای میتوکندریایی **COI** و **16S rDNA** و مارکر هسته‌ای **ITS-rDNA** با استفاده از تکنیک واکنش زنجیره ای پلیمراز (**PCR**) تکثیر و توالی‌یابی شد.

یافته‌ها: براساس توالی‌های بدست آمده، وجود چهار گونه ***Zoanthus sansibaricus***،***Zoanthus pulchellus*** ،***Zoanthus sociatus*** و ***Palythoa aff mutuki*** در ساحل بوشهر اثبات شد. گونهٔ **Palythoa aff. mutuki** مشاهده شده در این مطالعه دارای توالی یکسان با گونه پیشتر گزارش شده در خلیج‌فارس می‌باشد. با این وجود در این مطالعه دو گونه جدید توصیف نشده از جنس **Zoanthus** (***Z.sociatus*** و ***Z.pulchellus***) شناسایی شدند.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاضر حاکی از کارایی کاربرد مارکرهای ملکولی در مقایسه با ویژگی‌های موروفولوژیک جهت شناسایی راسته زوآنتاریا به‌ویژه در سطح گونه می‌باشد. بی‌شک مطالعات هر چه بیشتر به منظور تعیین الگوی پراکنش زوانتیدها دانش ما را در رابطه با تنوع زیستی خلیج‌فارس افزایش خواهد داد.

واژگان کلیدی: زوآنتاریا، **COI**، **mt 16S rDNA**، **ITS-rDNA**، خلیج‌فارس

* بوشهر، مرکز تحقیقات طب گرمسیری و عفونی خلیج فارس، پژوهشکده علوم زیست پزشکی خلیج فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران
* بخشی از این پروژه، با حمایت‌های کرسی پژوهشی دریایی، (مصوب صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور) معاونت علمی و فناوری ریاست جمهوری به انجام رسید.
Email: m.moradinasab85@gmail.com- ORCID: 0000-0002-1330-835X

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-18]
[DOI: 10.29252/ismj.21.2.147]

مقدمه

زوآنتاریا (Cnidaria: Anthozoa) یکی از اصلی‌ترین اجزاء اعماق دریا در صخره‌های مرجانی هستند که با وجود پراکنش وسیع در اغلب محیط‌های دریایی به درستی مطالعه نشده‌اند (۱). اغلب گونه‌های این راسته به صورت کلنی دیده می‌شوند و از این حیث به مرجان‌های سخت شبیه‌اند لیکن فقدان اسکلت آهکی، ویژگی مشترک این گروه جانوری با شقایق‌های دریایی است (۲). جنس‌های *Palythoa* (خانواده Sphenopidae) و *Zoanthus* (خانواده Zoanthidae) را می‌توان شناخته شده‌ترین جنس‌های این راسته قلمداد نمود که در آب‌های سطحی نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری زندگی می‌کنند (۳ و ۴). این ارگانیسم‌ها منبع ترکیبات بیواکتیو مهمی همچون پروتئین فلورسنت سبز (GFP) یا آلکالوئیدهایی با خاصیت ضد پوکی استخوان مانند نورزوانتامین هستند که طی سال‌های اخیر تحقیقات گسترده‌ای پیرامون این ترکیبات بیوشیمیایی صورت گرفته‌است (۵).

تاکسونومی راسته زوآنتاریا به سبب انعطاف‌پذیری مورفولوژیک گونه‌ها و فقدان معیارهای صحیح شناسایی همواره نابسامان بوده است (۶). رده‌بندی برای سالیان متمادی بر اساس خصوصیات مورفولوژیکی از جمله رنگ و ابعاد پلیپ، رنگ صفحه دهانی، تعداد تنتاکل‌ها و نوع پلیپ صورت گرفته‌است (۱). اما با روی کار آمدن علم ژنتیک ملکولی و بررسی‌های مجدد مشخص شد که رنگ و سایر ویژگی‌های ریختی به تنهایی معیار صحیحی برای تفکیک گونه‌ها نمی‌باشند (۷ و ۸).

ریمر (Reimer) و همکاران، طی اولین بررسی ملکولی جنس *Zoanthus* با استفاده از روش PCR-Sequencing، چهار گونه از این جنس را که در گذشته به جهت تفاوت‌های مورفولوژیکی در رنگ از یکدیگر تفکیک شده بودند را به عنوان واریته‌های رنگی *Zoanthus sansibaricus* معرفی کردند (۹). پس از آن مطالعات ژنتیکی گسترده‌تری با هدف شناسایی گونه‌ای جنس *Zoanthus* انجام شد که همگی حاکی از تنوع رنگی بالای گونه *Zoanthus sansibaricus* بود (۸، ۱۰ و ۱۱).

به منظور رفع مشکلات تاکسونومی راسته زوآنتاریا، در طی دو دهه گذشته مطالعات ملکولی بر پایهٔ تکنیک‌های واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۱ و تعیین توالی ۲ و با استفاده از مارکرهای DNA میتوکندریایی (COI و 16SrDNA) و DNA هسته‌ای (ITS-rDNA) مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۸، ۱۰، ۱۲ و ۱۳). پراکنش گسترده آبسنگ‌های مرجانی، آب و هوای گرمسیری و عمق کم، خلیج فارس را بستری مناسب برای این راسته تبدیل کرده‌است لیکن در این زمینه اطلاعات محدودی از زوآنتاریاهای موجود در خلیج‌فارس در دسترس است. در مطالعه‌ای که توسط نوری کوپایی و همکاران در جزیره قشم انجام شده سه گونه *Palythoa cf. mutuki*، *Zoanthus sansibaricus* و *Palythoa tuberculosa* گزارش شدند (۱۴).

در مطالعه دیگر مربوط به جزایر هنگام، لارک و تنگه هرمز نیز پنج گونه *P mutuki*، *P tuberculosa*، *Z.sansibaricus*، *Palythoa aff. mutuki* و *Neozoanthus sp.* شناسایی شدند (۱۵).

در مطالعه حاضر در نظر داریم برای نخستین بار گسترش زوآنتاریاهای آب‌های سطحی را در سواحل خلیج فارس- بوشهر با استفاده از روش‌های فیلوژنتیک ملکولی و مارکرهای mtCOI، mt16SrDNA و ITS-rDNA بررسی کنیم.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-18]

[DOI: 10.29252/ismj.21.2.147]

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه

بیست و چهار کلونی زوانتید از دو منطقه ساحل بوشهر، با روش غواصی از عمق ۳-۱/۵ متری و نواحی جزر و مدی در فاصله اردیبهشت ۹۳ تا خرداد ۹۴ جمع‌آوری گردید (جدول ۱، شکل ۱). شناسایی اولیه با استفاده از ویژگی‌های ظاهری مانند رنگ دیسک دهانی، شکل پلیپ و غیره. انجام گرفت. از تمامی نمونه‌ها بصورت درجا[1] عکس‌برداری شد و سپس به منظور آنالیزهای ملکولی در الکل ۹۹ درصد و در دمای ۲۰°C- نگهداری شدند.

استخراج DNA

DNA ژنومی نمونه‌های نگهداری شده در اتانول با استفاده از روش CTAB-Phenol/Chloroform به (۱۶) شرح زیر استخراج شد: یک قطعه حدوداً $5cm^3$ از نمونه جدا شده و با سانتریفیوژ در دور ۱۲۰۰۰ خشک شد. ۶۰۰ میکرولیتر بافر CTAB، ۲۰۰ میکروگرم پروتئیناز k و ۶۰ میکرولیتر محلول NaCl ۵ مولار به نمونه اضافه و به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۴۲ درجه انکوبه گردید. در مرحله بعد خالص سازی DNA بوسیله فنول- کلروفرم- ایزوآمیل الکل با نسبت ۲۵:۲۴:۱ و طی مراحل مختلف شستشو انجام گرفت. رسوب دهی نمونه DNA با استفاده از مقادیر هم حجم ایزوپروپانول و ۱/۱۰ حجم محلول سدیم استات ۳ مولار در دمای ۲۰- درجه انجام شد. رسوب بدست آمده با استفاده از اتانول ۷۵ درصد شستشو داده شد و در آب دوبار تقطیر حل گردید. کیفیت و کمیت DNA استخراج شده به این روش بوسیله الکتروفورز ژل آگارز و اسپکتروفتومتر نانو دراپ اندازه‌گیری شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) و تعیین توالی DNA

واکنش PCR با استفاده از DNA ژنومی برای قطعات ژنی زیر واحد ۱ ژن سیتوکروم اکسیداز c میتوکندریایی (COI)، DNA ریبوزومی ناحیه 16S میتوکندریایی (16S rDNA) و ITS-rDNA با استفاده از آنزیم Taq DNA polymerase(Germany، Mannheim، Roche) و طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. یک قطعه حدوداً ۶۳۰ جفت بازی از ژن mt COI با استفاده از پرایمرهای (۱۷)

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

و طی چرخه دمایی زیر تکثیر شد: دناتوراسیون اولیه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه و به دنبال آن ۳۵ سیکل شامل ۱ دقیقه دناتوراسیون در ۹۴ درجه، ۱ دقیقه اتصال در ۵۲ درجه و ۱ دقیقه گسترش در ۷۲ درجه و گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه به مدت ۷ دقیقه انجام شد.به همین ترتیب یک قطعه حدوداً ۹۰۰ جفت بازی از ژن 16S rDNA با استفاده از پرایمرهای اختصاصی (۱۸).

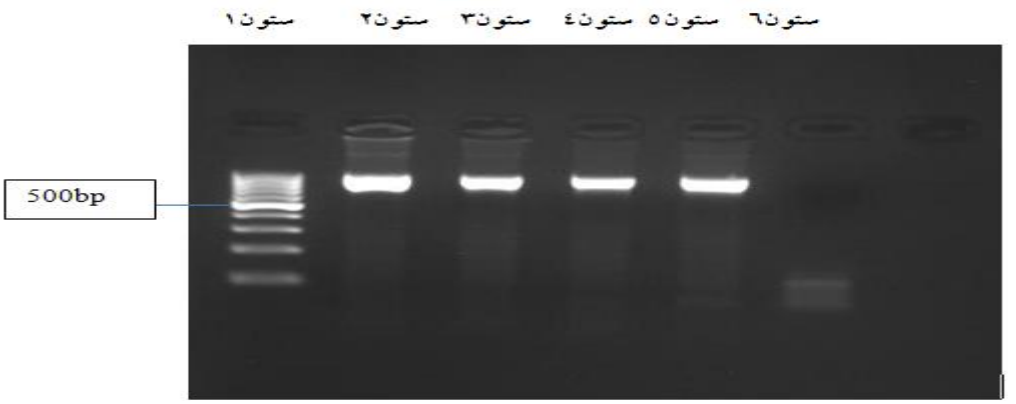
16Sant1a	5’CGAACAGCCAACCCTTGG3’
16SbmoH	5’CGAACAGCCAACCCTTGG3’

طی واکنش PCR با شرایط زیر تکثیر شد: پس از دناتوراسیون اولیه، ۳۵ سیکل شامل ۱ دقیقه دناتوراسیون در ۹۴ درجه، ۱ دقیقه اتصال در ۵۸ درجه و ۱ دقیقه گسترش در ۷۲ درجه تکرار شد و گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه و به مدت ۷ دقیقه انجام شد . قطعه ژنی ITS-rDNA نیز با چرخه دمایی مشابه و دمای اتصال ۵۹ درجه و پرایمرهای اختصاصی تکثیر شد (۱۹).

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-18]

[DOI: 10.29252/ismj.21.2.147]

محصولات PCR بدست آمده برای هر سه مارکر با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۱/۵ درصد بررسی شده (شکل ۱) و پس از تأیید کیفیت اولیه به منظور تعیین توالی ناحیه تکثیر شده برای COI از پرایمر رفت و در مورد مارکرهای 16S rDAN و ITS rDNA از هر دو پرایمر رفت و برگشت استفاده شد. تعیین توالی نمونه‌های مورد مطالعه به روش خاتمه زنجیره و توسط دستگاه ABI3730XL در شرکت ماکروژن کره جنوبی انجام شد.



شکل ۱) محصول PCR مارکر mt 16S rDNA بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد، ستون۱: نشانگر 100bp ستون ۲: نمونه BPG۱۲ ستون۳: BPG۲۲ ستون۴: BPG۳۰۸ ستون۵: BPG۳۲۰ ستون۶: کنترل منفی

آنالیز فیلوژنتیک

توالی‌های به‌دست آمده در این مطالعه در پایگاه داده DDBJ ثبت و شماره‌های دسترسی در جدول ۱ نشان داده شده‌است. توالی‌های نوکلئوتیدی بدست آمده برای هر سه مارکر با استفاده از نرم افزار CLUSTAL W (۲۰) با سایر توالی‌های موجود در بانک ژن به عنوان توالی مرجع هم‌ردیف سازی شدند (شماره‌های دسترسی توالی‌های مرجع در شکل‌های ۵-۳ نشان داده شده است). هم‌ردیفی‌ها به صورت چشمی بازبینی و در صورت نیاز به صورت دستی ویرایش شدند. به این ترتیب سه هم‌ردیفی به‌صورت زیر حاصل شد: ۱) ۶۱۲ جایگاه برای ۱۸ توالی (COI)، ۲) ۹۰۰ جایگاه برای ۲۲ توالی (16S rDNA) و ۳) ۸۵۷ جایگاه برای ۱۲ توالی (ITS rDNA). آنالیز فیلوژنیک برای توالی‌های هم‌ردیف شده با استفاده از روش‌های Maximum (ML) Likelihoodو Neighbor-Joining(NJ) و انجام شد. پیش از انجام آنالیز ML با استفاده از برنامهٔ MrModeltest (۲۱) و بر اساس معیار اطلاعاتی AIC (Akaike Information Criterion) مدل‌های مناسب برای داده‌های مورد نظر انتخاب شدند. طبق این آزمون، مدل K2+G (۲۲) discrete gamma) Kimura 2-parameter+distribution) بهترین داده را برای مارکر 16SrDNA و مدل‌های K2 و T92+I (۲۳) (Tamura 3- parameter+invariable sites) به ترتیب برای مارکرهای COI و ITS-rDNA ارئه می‌کنند. هر دو آنالیز ML و NJ با استفاده از نرم‌افزار MEGA 6 (۲۴) و تکرار بوت استراپ ۱۰۰۰ انجام شد.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-18]

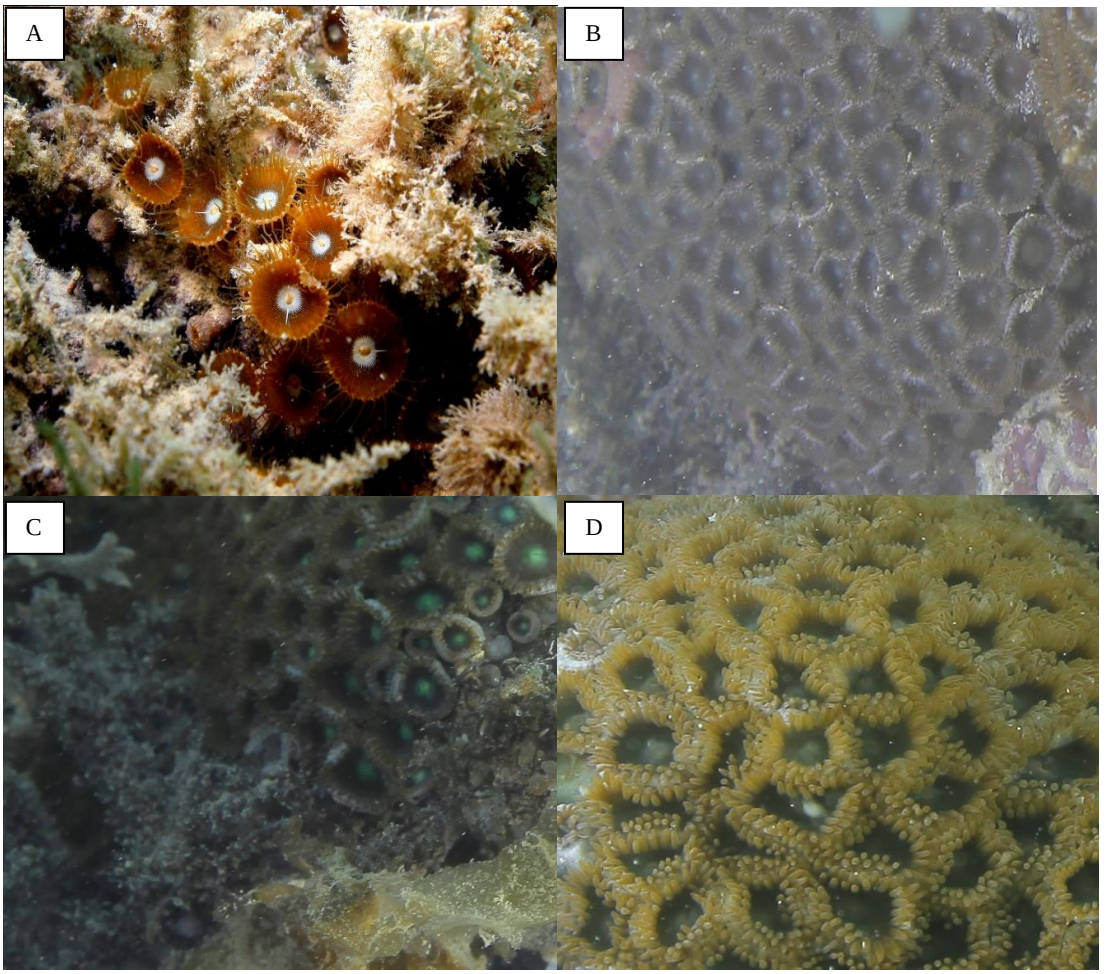
[DOI: 10.29252/ismj.21.2.147]

جدول ۱) نمونه‌های مورد مطالعه، تاریخ، عمق، محل جمع‌آوری، شناسایی اولیه، شماره‌های دسترسی وشناسایی ملکولی

نام نمونه	تاریخ جمع‌آوری	عمق جمع‌آوری (m)	شناسایی مورفولوژیک اولیه	شماره دسترسی COI	شماره دسترسی mt 16S rDNA	شماره دسترسی ITS-rDNA	شناسایی ملکولی
BPG۱۱	۹۳/۲	۳	Z. sansibaricus	LC۱۶۴۳۷۱	LC۱۶۴۱۸۶	NA	Z. sansibaricus
BPG۱۲	۹۳/۲	۳	P. mutuki	LC۱۶۴۳۷۲	LC۱۶۴۱۸۵	LC۱۶۴۶۹۶	P. aff. mutuki
BPG۲۱	۹۴/۳	۱/۵	Z. sansibaricus	LC۱۶۴۳۵۵	LC۱۶۴۱۶۵	NA	Z. pulchellus
BPG۲۲	۹۴/۳	۱/۵	Z. sansibaricus	LC۱۶۴۳۵۷	LC۱۶۴۱۶۷	LC۱۶۴۶۸۸	Z. sociatus
BPG۲۳	۹۴/۳	۱/۵	Z. sansibaricus	LC۱۶۴۳۵۹	LC۱۶۴۱۶۸	LC۱۶۴۶۸۶	Z. pulchellus
BPG۲۴	۹۴/۳	۱/۵	Z. sansibaricus	LC۱۶۴۳۶۱	LC۱۶۴۱۷۰	NA	Z. pulchellus
BPG۲۵	۹۴/۳	۱/۵	Z. sansibaricus	LC۱۶۴۳۶۲	LC۱۶۴۱۷۲	NA	Z. pulchellus
BPG۳۰۱	۹۴/۳	۳	Z. sansibaricus	LC۱۶۴۳۵۶	LC۱۶۴۱۶۶	NA	Z. sansibaricus
BPG۳۰۲	۹۴/۳	۳	Z. sansibaricus	LC۱۶۴۳۵۸	NA	LC۱۶۴۶۸۵	Z. sansibaricus
BPG۳۰۳	۹۴/۳	۳	Z. sansibaricus	NA	LC۱۶۴۱۶۹	LC۱۶۴۶۸۷	Z. pulchellus
BPG۳۰۴	۹۴/۳	۳	Z. sansibaricus	NA	LC۱۶۴۱۷۱	NA	Z. pulchellus
BPG۳۰۵	۹۴/۳	۳	Z. sansibaricus	NA	LC۱۶۴۱۷۳	NA	Z. pulchellus
BPG۳۰۶	۹۴/۳	۳	Z. sansibaricus	NA	LC۱۶۴۱۷۴	LC۱۶۴۶۸۹	Z. sansibaricus
BPG۳۰۷	۹۴/۳	۳	Z. sansibaricus	NA	LC۱۶۴۱۷۵	NA	Z. sansibaricus
BPG۳۰۸	۹۴/۳	۳	Z. sansibaricus	LC۱۶۴۳۶۳	LC۱۶۴۱۷۶	LC۱۶۴۶۹۰	Z. sociatus
BPG۳۰۹	۹۴/۳	۳	Z. sansibaricus	LC۱۶۴۳۶۴	LC۱۶۴۱۷۷	NA	Z. pulchellus
BPG۳۱۱	۹۴/۳	۳	Z. sansibaricus	LC۱۶۴۳۶۵	LC۱۶۴۱۷۸	NA	Z. sociatus
BPG۳۱۳	۹۴/۳	۳	Z. sansibaricus	NA	NA	NA	
BPG۳۱۴	۹۴/۳	۳	Z. sansibaricus	LC۱۶۴۳۶۶	LC۱۶۴۱۷۹	LC۱۶۴۶۹۲	Z. sociatus
BPG۳۱۵	۹۴/۳	۳	Z. sansibaricus	LC۱۶۴۳۶۷	LC۱۶۴۱۸۰	NA	Z. sansibaricus
BPG۳۱۷	۹۴/۳	۳	Z. sansibaricus	LC۱۶۴۳۶۸	LC۱۶۴۱۸۱	LC۱۶۴۶۹۳	Z. sansibaricus
BPG۳۱۸	۹۴/۳	۳	Z. sansibaricus	LC۱۶۴۳۶۹	LC۱۶۴۱۸۲	LC۱۶۴۶۹۴	Z. pulchellus
BPG۳۱۹	۹۴/۳	۳	Z. sansibaricus	NA	LC۱۶۴۱۸۳	LC۱۶۴۶۹۱	Z. sansibaricus
BPG۳۲۰	۹۴/۳	۱/۵	Z. sansibaricus	LC۱۶۴۳۶۹	LC۱۶۴۱۸۴	LC۱۶۴۶۹۵	Z. sansibaricus

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-18]

[DOI: 10.29252/ismj.21.2.147]



شکل ۲) تصاویر درجا از نمونه‌های جمع‌آوری شده:
Zoanthus pulchellus(D Zoanthus sansibaricus (C Zoanthus sociatus (B Palythoa aff. mutuki (A

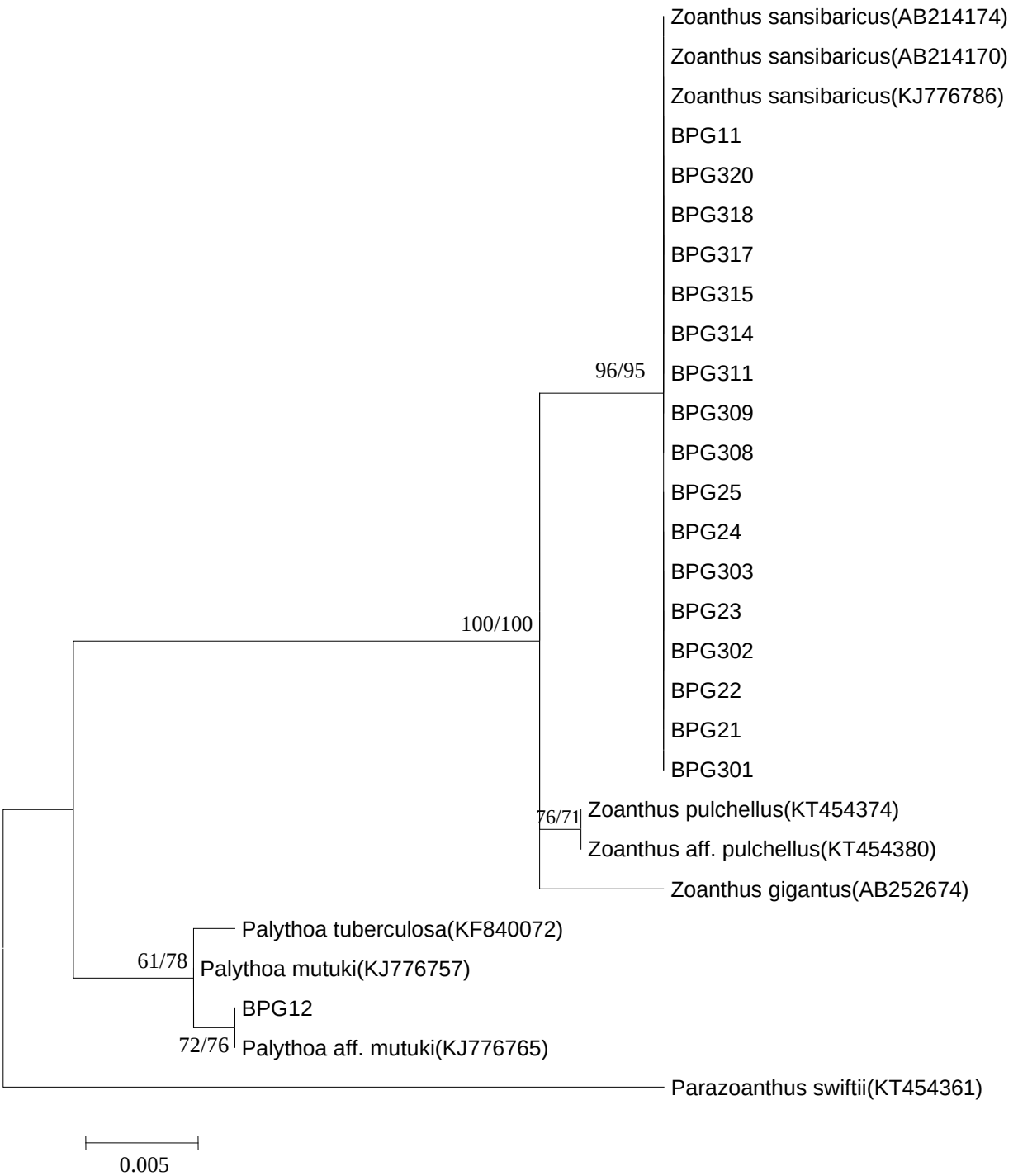
یافته‌ها

فیلوژنی COI

همان‌طور که در شکل ۳ نشان داده شده، درخت فیلوژنتیک برای مارکر میتوکندریایی COI از دو کلاد اصلی مربوط به جنس‌های *Zoanthus* و *Palythoa* تشکیل شده‌است. هر یک از این جنس‌ها یک کلادها با مقادیر بالای ارزش بوت استراپ را در آنالیزهای فیلوژنتیک نشان می‌دهند (به ترتیب ۷۸ درصد، ۱۰۰ درصد=NJ، ۶۱ و ۱۰۰ درصد=ML). در کلاد Zoanthus، تمامی نمونه‌ها دارای توالی مشابه بوده و با گونه‌های *Zoanthus sansibaricus* از ژاپن (AB214174، AB214170) و همچنین جزیره لارک- ایران (KJ776786) یک کلاد کاملاً حمایت شده با ارزش بوت استراپ بسیار بالا تشکیل می‌دهند (۹۵ درصد=NJ، ۹۶ درصد=ML). نمونه BPG12 نیز در یک کلاد حمایت شده مشترک با گونه *Palythoa aff. mutuki* از جزیره هنگام- ایران (KJ776765) قرار می‌گیرد (۷۶ درصد=NJ، ۷۵ درصد=ML). توالی‌های مربوط به این دو گونه کاملاً مشابه بوده و با توالی *Palythoa mutuki* (KJ776757) تنها یک جفت باز تفاوت دارند.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-18]

[DOI: 10.29252/ismj.21.2.147]



شکل ۳) درخت Maximum likelihood بر اساس قطعه ژنی میتوکندریائی COI شامل توالی‌های جدید حاصل از مطالعه حاضر و توالی‌های پیشین ثبت شده در بانک ژن. ارزش‌های بوت استراپ به ترتیب برای ML و NJ روی گره‌ها نشان داده شده است.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-18]

[DOI: 10.29252/ismj.21.2.147]

فیلوژنی 16S rDNA

درخت فیلوژنتیک برای توالی‌های همردیف شده 16S rDNA در شکل ۴ نشان داده شده است. توالی‌های قطعه ژنی 16S rDNA برای نمونه‌های مورد مطالعه در دو کلاد بزرگ مربوط به جنس‌های *Zoanthus* و *Palythoa* قرار می‌گیرند. جنس *Zoanthus* به عنوان یک کلاد کاملاً حمایت شده با ارزش بوت استراپ بسیار بالا (۹۹ درصد=NJ، ۹۸ درصد=ML) خود شامل سه زیر کلاد[1] گونه‌ای می‌باشد. توالی‌های مربوط به نمونه‌های BPG320، BPG319، BPG317، BPG315، BPG307، BPG306، BPG301 و BPG11 و مشابه توالی‌های *Zoanthus sansibaricus* گزارش شده از ژاپن (AB219188) و جنوب افریقا (KM032525) می‌باشد (۵۵ درصد=NJ، ۵۵ درصد=ML). نمونه‌های BPG311، BPG308، BPG22 و BPG314 و نیز در یک زیرکلاد حمایت شده با *Zoanthus sociatus* (EU348612، EU348613، EU348615) قرار می‌گیرند (۶۳ درصد=NJ، ۶۴ درصد=ML). نمونه‌های باقی مانده نیز دارای توالی یکسان بوده و در کلاد حمایت شده *Zoanthus pulchellus* با ارزش بوت استراپ بالا و در پایه کلاد *Zoanthus sansibaricus*- *Zoanthus sociatus* قرار می‌گیرند (۸۱ درصد=NJ، ۷۱ درصد=ML). از سوی دیگر در کلاد *Palythoa* ، توالی مربوط به نمونه BPG12 کاملاً مشابه نمونه *Palythoa aff. mutuki* از جزیره هنگام- ایران (KJ783908) بوده (۵۸ درصد=NJ، ۷۲ درصد=ML) و با توالی *Palythoa mutuki* گزارش شده در هند (KP176681) و جزیره لارک- ایران (KJ783931) به ترتیب سه و چهار جفت باز تفاوت دارد.

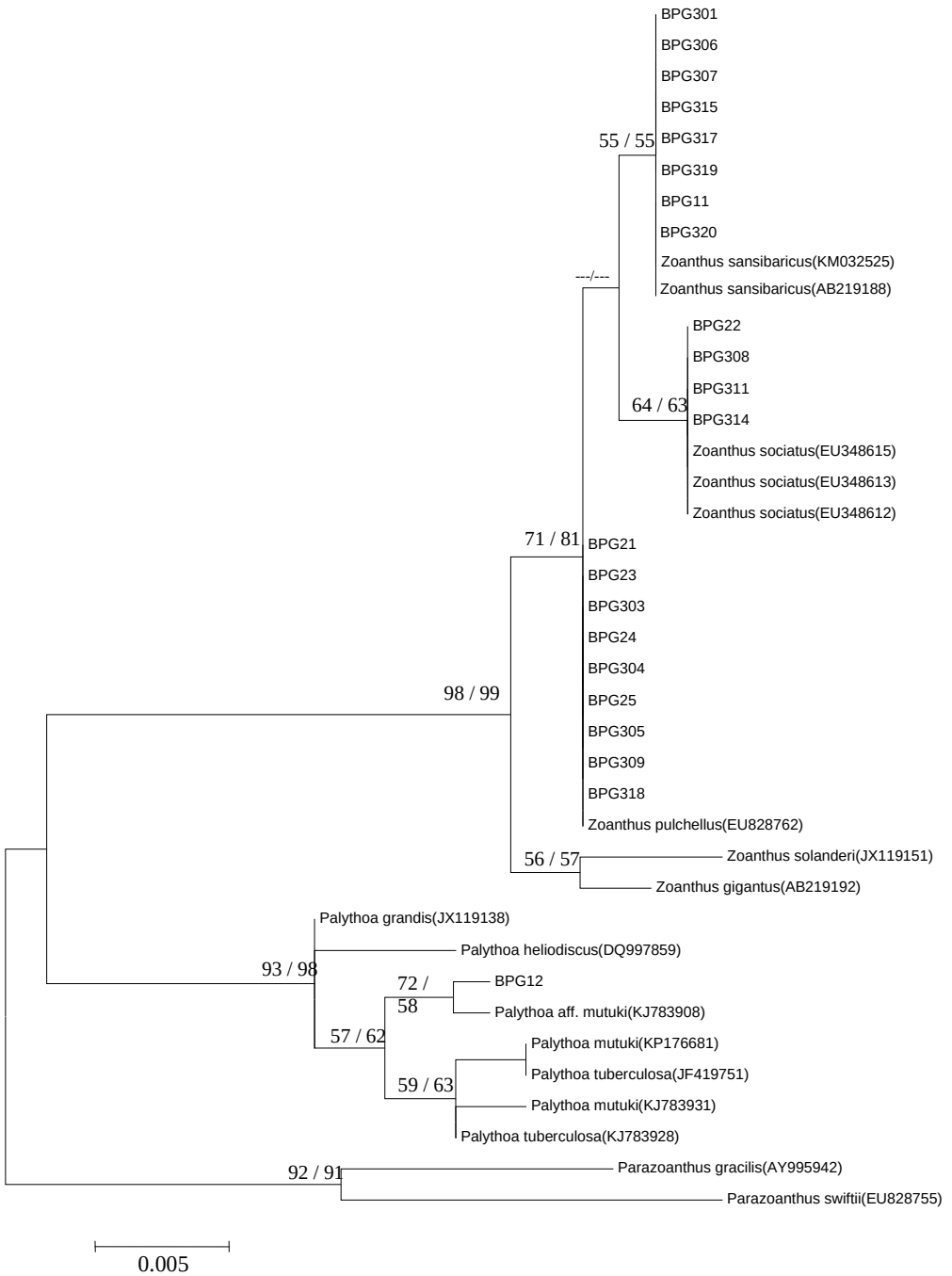
فیلوژنی ITS rDNA

توالی‌های قابل قبول ITS rDNA تنها برای تعداد کمی از نمونه‌های مورد مطالعه به‌دست آمد و وجود سیگنال‌های متعدد در نتایج تعیین توالی تعدادی از نمونه‌ها مانع از ورود آنها به آنالیز شد. همانطور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود درخت فیلوژنتیک رسم شده برای توالی‌های هم‌ردیف شدهٔ ITS rDNA دارای توپولوژی مشابه با درخت mt16S rDNA و با قدرت تفکیک بیشتر در سطح گونه می‌باشد. درخت رسم شده دارای دو کلاد کاملاً حمایت شده با ارزش بوت استراپ بسیار بالا برای جنس‌های (۱۰۰ درصد=NJ، ۱۰۰ درصد=ML) *Zoanthus* و (۷۲ درصد=NJ، ۹۲ درصد=ML) *Palythoa* می‌باشد. در کلاد Zoanthus، نمونه‌های BPG319، BPG317، BPG306، BPG302 و BPG320 دارای تفاوت توالی اندکی بوده و در یک کلاد حمایت شده با *Zoanthus sansibaricus* (AB214155) قرار می‌گیرند (۹۶ درصد=NJ، ۷۱ درصد=ML). نمونه‌های باقی مانده جنس *Zoanthus* نیز در یک کلاد با ارزش بوت استراپ بالا (۸۱ درصد=NJ، ۸۱ درصد=ML) دارای دو زیر کلاد قرار می‌گیرند. توالی نمونه‌ها در هر یک از زیر کلادها دارای چند جفت باز تفاوت با توالی‌های *Z.pulchellus* (EU418346) و (XJ119133، *Z.sociatus* (XJ119131 می‌باشند اما به دلیل شباهت توپولوژی با درخت mt16S rDNA به ترتیب به عنوان *Zoanthus pulchellus* و *Zoanthus sociatus* در

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-18]

[DOI: 10.29252/ismj.21.2.147]

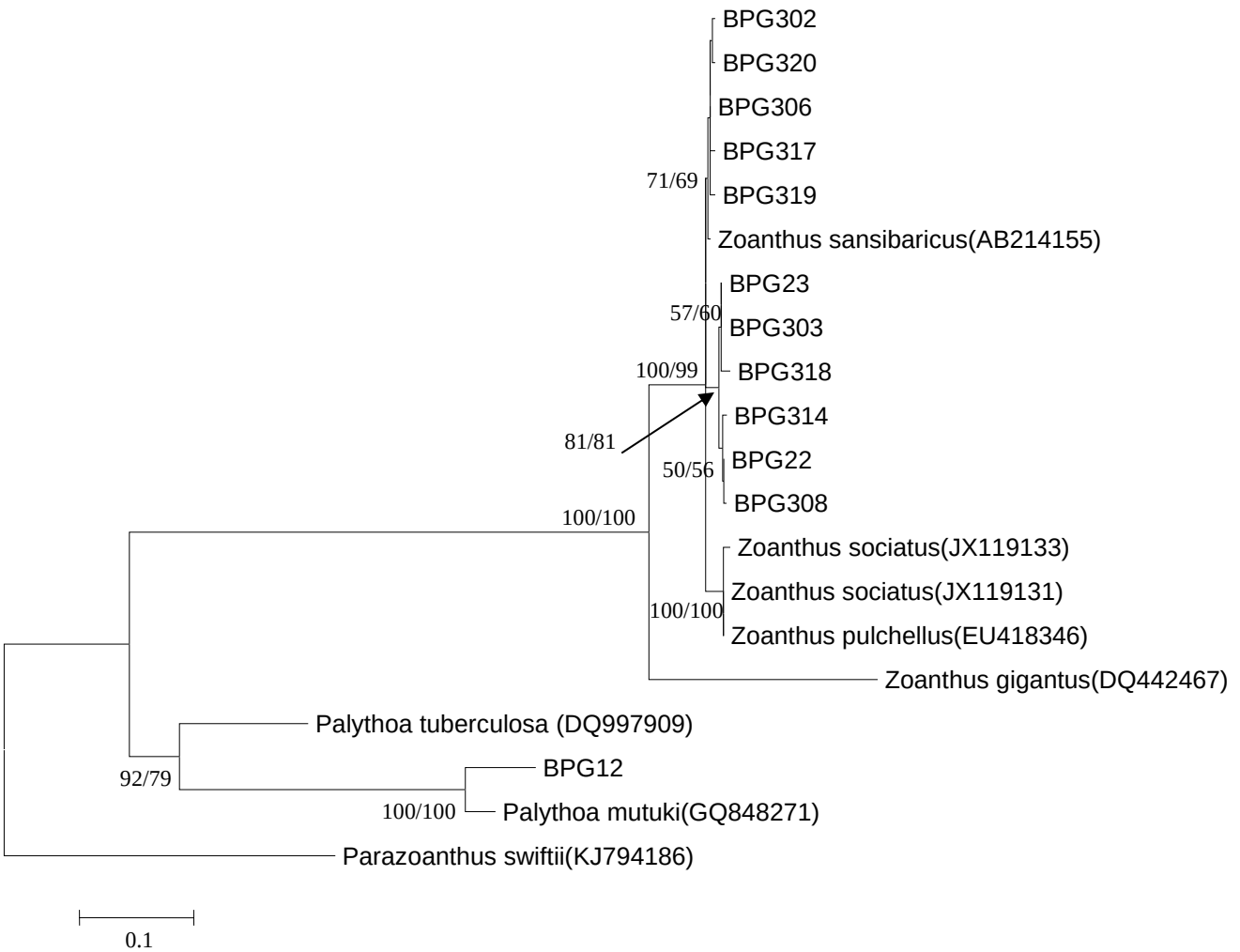
نظر گرفته می‌شوند. در کلاد مربوط به Palythoa نیز نمونه BPG12 با وجود بیش از ۱۰۰ جفت باز تفاوت توالی در یک کلاد مشترک کاملاً حمایت شده (۱۰۰ درصد=NJ، ۱۰۰ درصد=ML) با Palythoa mutuki (GQ848271) قرار می‌گیرد.



شکل ۴) درخت Maximum likelihood بر اساس قطعه ژنی میتوکندریائی 16S rDNA شامل توالی‌های جدید حاصل از مطالعه حاضر و توالی‌های پیشین ثبت شده در بانک ژن. ارزش‌های بوت استراپ به ترتیب برای ML و NJ روی گره‌ها نشان داده‌شده‌است.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-18]

[DOI: 10.29252/ismj.21.2.147]



شکل ۵: درخت Maximum likelihood بر اساس قطعه ژنی ITS rDNA شامل توالی‌های جدید حاصل از مطالعه حاضر و توالی‌های پیشین ثبت شده در بانک ژن. ارزش‌های بوت استراپ به ترتیب برای ML و NJ روی گره‌ها نشان داده‌شده‌است.

بحث

شناسایی دقیق گونه‌های مختلف راسته زوآنتاریا بر اساس ویژگی‌های مورفولوژیک دارای پیچیدگی‌های بسیار است به گونه‌ای که تنوع رنگی درون گونه‌ای شناسایی ریختی آنها را تا حدی ناممکن ساخته‌است. طی مطالعه حاضر با استفاده از روش‌های فیلوژنیک ملکولی و مارکرهای mt 16S rDNA، mt COI و ITS rDNA و به بررسی پراکنش این راسته در سواحل خلیج‌فارس- بوشهر پرداختیم که منجر به شناسایی چهار گونه *Zoanthus sansibaricus*، *Zoanthus sociatus* و *Zoanthus pulchellus* از خانواده Zoanthidae و *Palythoa aff. mutuki* از خانواده Sphenopidae شد.

زوانتیدها در اکثر اکوسیستم‌های دریائی یافت می‌شوند با این وجود تاکسونومی آنها هنوز چندان سازمان یافته نیست. در حالی‌که بیشتر خانواده‌ها و جنس‌ها به خوبی

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-18]
[DOI: 10.29252/ismj.21.2.147]

توصیف شده‌اند اما تنوع گونه‌ای همچنان ناشناخته مانده است (۶). تنوع گستردهٔ ویژگی‌های مورفولوژیک در درون هر گونه و فقدان معیارهای صحیح جهت تفکیک گونه‌ها از یکدیگر همواره عامل اصلی این نابسامانی بوده است. شناسائی مورفولوژیک زوانتیدها همواره به واسطهٔ داشتن ساختار ریختی بسیار ساده و رنگ‌های متنوع چالش برانگیز بوده‌است (۲۵ و ۲۶). در این مطالعه ضمن شناسایی اولیه بر اساس معیارهای مورفولوژیک تمامی نمونه‌های جنس Zoanthus به عنوان *Zoanthus sansibaricus* و *Palythoa aff. mutuki* به عنوان *Palythoa mutuki* طبقه‌بندی شدند. همانطور که اشاره شد معیارهای مورفولوژیک غالباً برای شناسایی در سطح گونه کافی نیستند با این حال مارکرهای ملکولی DNA هسته‌ای و میتوکندریایی با موفقیت برای غلبه بر این مشکل استفاده شده‌اند و قادر به شناسایی فیلوژنتیکی گونه‌های مرتبط و بسیار نزدیک به هم هستند (۱۰، ۱۳ و ۲۷).

به دلیل سرعت پایین جهش‌های میتوکندریایی در آنتوزوآ، مارکرهای میتوکندریایی (COI و 16SrDNA) بسیار حفاظت شده هستند و یک تنوع کوچک (یک یا دو جفت باز در ترکیب توالی mt16SrDNA +COI) می‌تواند بیانگر تفاوت در سطح گونه باشد (۷ و ۲۸) با این حال توالی‌های 16SrDNA به علت دخول و حذف (idels) دارای تغییرپذیری بیشتری نسبت به COI در زوانتیدها هستند که اطلاعات رده‌بندی بیشتری را در مواردی که توالی‌های COI برای جداسازی گونه‌ها از یکدیگرکافی نیستند فراهم می‌کند (۱۳) با این حال برای گونه‌های نزدیک مرتبط با یکدیگر به خاطر انشعاب‌های اخیر به نظر می‌رسد که استفاده از مارکرهای میتوکندریایی به تنهایی برای اغلب زوانتیدها کافی نیست هرچند در ترکیب با موقعیت جغرافیایی، اکولوژی و داده‌های مورفولوژیکی می‌توانیم شناسایی دقیق‌تری داشته باشیم (۲۷ و ۲۹) از سوی دیگر، به علت سرعت تکاملی سریع‌تر توالی ITS-rDNA و طبیعت نسبتاً حفاظت نشده آن به نظر می‌رسد تفکیک بیشتری در فیلوژنی داشته باشد (۲۷، ۳۰ و ۳۱) هر چند به دلیل سرعت واگرایی بالا، کپی‌های درون ژنومی چندگانه و پلی‌مورفیسم‌های اجدادی در زوانتیدها، ITS-rDNA به تنهایی به عنوان مارکر فلوژنتیک مناسب قابل استفاده نیست اما در همراهی با 16S rDAN می‌تواند در تحقیقات فلوژنتیک برای زوانتید ها مفید باشد (۳۰). مشابه مطالعات پیشین، نتایج مطالعه حاضر حاکی از آن است که فیلوژنی بر اساس مارکر COI نمونه‌ها را به دو جنس Zoanthus و Palythoa (گونهٔ *Palythoa aff. mutuki*) تقسیم می‌کند اما قادر به تشخیص بین گونه‌ها در جنس Zoanthus نمی‌باشد. از سوی دیگر درخت فیلوژنتیک ITS-rDNA نیز دارای توپولوژی مشابه 16S rDNA بوده و وضوح نسبتاً بیشتری در فیلوژنی با ارزش بوت استراپ بالاتر را نشان می‌دهد.

کوهپایه‌ای و همکاران در جزیره قشم بر اساس مارکر میتوکندریایی mt16SrDNA سه گونه *Zoanthus sansibaricus*، *Palythoa tuberculosa* و *Palythoa aff. Mutuki* را گزارش کردند (۱۴). در مطالعه دیگر مربوط به این گروه بر اساس مارکرهای میتوکندریایی COI و 16SrDNA در جزایر هنگام، لارک و تنگه هرمز نیز پنج گونه *Z sansibaricus*، *Palythoa aff. Mutuki*، *P mutuki*، *P tuberculosa* و *Neozoanthus sp.* شناسایی شدند (۱).

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-18]

[DOI: 10.29252/ismj.21.2.147]

گونه *Palythoa aff. mutuki* شناسایی شده در این مطالعه دارای توالی یکسان با گونه پیشتر گزارش شده در خلیج‌فارس توسط نوری و همکاران بوده و تفاوت توالی قابل توجهی با *Palythoa mutuki* و دیگر گونه‌های Palythoa دارد. در مطالعه حاضر دو گونه جدید از جنس Zoanthus (*Z.sociatus* و *Z.pulchellus*) نیز برای نخستین بار در ساحل بوشهر شناسایی شدند. گونه کمتر گزارش شده *Z.pulchellus* در فلوریدا توسط ریمر و همکاران بر اساس نشانگرهای میتوکندریایی، COI، mt16SrDNA و ITS rDNA (۲۷) و در هند برای نخستین بار در سال ۲۰۱۵ بر اساس ویژگی‌های ریخت شناسی (۳۲) شناسایی شده‌است.

گونه‌های زوانتاریا توزیع گسترده‌ای در نواحی گرمسیری و نیمه‌گرمسیری دنیا دارند (۳۳) بررسی گسترش جهانی نشان می‌دهد گونه *Zoanthus sansibaricus* در اقیانوس آرام غربی و شرقی به عنوان مثال سد بزرگ مرجانی (۱ و ۳۴). نیوکالدونیا (۳۵)، ژاپن (۶ و ۹)، گالاپاگوس (۱۰)، سنگاپور (۸) و اقیانوس هند و گونه Zoanthus sociatus در شمال شرق اقیانوس اطلس (۱۱)، فلوریدا (۲۷)، برزیل (۳۶) یافت می‌شوند.

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر وجود چهار گونه Zoanthus sansibaricus، Zoanthus sociatus، Zoanthus pulchellus و Palythoa aff. mutuki را در آب‌های کم عمق ساحل بوشهر اثبات می‌کند. شناسایی اولیه بر اساس ویژگی‌های مورفولوژیک قادر به شناخت صحیح گونه‌ها نبوده با این حال، نتایج حاکی از کارایی مارکرهای مولکولی DNA، بویژه mt16SrDNA و ITS-rDNA جهت شناسایی در سطح گونه می‌باشد. به هر حال به منظور تعیین الگوی پراکنش گونه‌های زوانتاریا در خلیج‌فارس نیاز به انجام مطالعات بیشتر در دیگر مناطق ضروری می‌باشد.

سپاس و قدردانی

بدین‌وسیله نویسندگان مراتب سپاس و قدردانی خود را از دکتر آتوسا نوری کوپایی به سبب راهنمایی‌های ارزنده‌شان طی این مطالعه و همچنین آقایان مهدی مرادی و محمدصادق خوشکار جهت جمع‌آوری نمونه‌ها ابراز می‌دارند. این پژوهش با استفاده از بودجه تحقیقاتی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر به انجام رسیده است و همچنین بخشی از این پروژه، با حمایت‌های کرسی پژوهشی دریایی، (مصوب صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور) معاونت علمی و فناوری ریاست جمهوری به انجام رسید.

تضاد منافع

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

References:

1. Burnett W, Benzie J, Beardmore J, et al. Zoanthids (Anthozoa, Hexacorallia) from the Great Barrier Reef and Torres Strait, Australia: systematics, evolution and a key to species. Coral Reefs 1997; 16(1): 55-68.
2. Reimer JD, Irei Y, Fujii T. Two new species of Neozoanthus (Cnidaria, Hexacorallia, Zoantharia) from the Pacific. ZooKeys 2012; (246): 69–87.
3. Miyashita M, Sasaki M, Hattori I, et al. Total synthesis of norzoanthamine. Science 2004; 305(5683): 495-9.
4. Fujii T, Reimer JD. Phylogeny of the highly divergent zoanthid family Microzoanthidae (Anthozoa, Hexacorallia) from the Pacific. Zool Scr 2011; 40(4): 418-31.
5. Behenna DC, Stockdill JL, Stoltz BM. The biology and chemistry of the zoanthamine

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-18]

[DOI: 10.29252/ismj.21.2.147]

alkaloids. Angew Chem Int Ed Engl 2008; 47(13): 2365-86.
6.Reimer JD, Ono S, Iwama A, et al. Morphological and molecular revision of Zoanthus (Anthozoa: Hexacorallia) from southwestern Japan, with descriptions of two new species. Zoolog Sci 2006; 23(3): 261-75.
7.Shearer T, Van Oppen M, Romano S, et al. Slow mitochondrial DNA sequence evolution in the Anthozoa (Cnidaria). Mol Ecol 2002; 11(12): 2475-87.
8.Reimer JD, Todd PA. Preliminary molecular examination of zooxanthellate zoanthid (Hexacorallia, Zoantharia) and associated zooxanthellae (Symbiodinium spp.) diversity in Singapore. Raffles Bull Zool 2009; 22: 103-20.
9.Reimer JD, Ono S, Fujiwara Y, et al. Reconsidering Zoanthus spp. diversity: molecular evidence of conspecifity within four previously presumed species. Zoolog Sci 2004; 21(5): 517-25.
10.Reimer J, Sinniger F, Hickman Jr C. Zoanthid diversity (Anthozoa: Hexacorallia) in the Galapagos Islands: a molecular examination . Coral Reefs 2008; 27(3): 641-54.
11.Reimer JD, Hirose M, Wirtz P. Zoanthids of the Cape Verde Islands and their symbionts: previously unexamined diversity in the Northeastern Atlantic. Contrib zool 2010; 79(4): 147-63.
12.Reimer JD, Hirose M ,Yanagi K, et al. Marine invertebrate diversity in the oceanic Ogasawara Islands: a molecular examination of zoanthids (Anthozoa: Hexacorallia) and their Symbiodinium (Dinophyceae). Syst Biodivers 2011; 9(2): 133-43.
13.Reimer JD, Irei Y, Fujii T, et al. Molecular analyses of shallow-water zooxanthellate zoanthids (Cnidaria: Hexacorallia) from Taiwan and their Symbiodinium spp. Zool Stud 2013; 52(1):38.
14.Koupaei AN, Mostafavi PG, Mehrabadi JF, et al. Molecular diversity of coral reef-associated zoanthids off Qeshm Island, northern Persian Gulf. International Aquatic Research 2014; 6(2): 1-10.
15.Koupaei AN, Mostafavi PG, Mehrabadi JF, et al. Diversity of shallow water zoantharians in Hengam and Larak Islands, in the Persian Gulf. J Mar Biol Assoc U.K. 2015: 1-11.
16. Baker AC. The symbiosis ecology of reef-building corals [dissertation]. United States: University of Miami, 1999.
17.Vrijenhoek R. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Mol Mar Biol Biotechnol 1994; 3(5): 294-9.
18.Sinniger F, Montoya-Burgos J-I, Chevaldonné P, et al. Phylogeny of the order Zoantharia (Anthozoa, Hexacorallia) based on the mitochondrial ribosomal genes. Mar Biol 2005; 147(5): 1121-8.
19.Reimer JD, Takishita K, Ono S, et al. Molecular evidence suggesting interspecific hybridization in Zoanthus spp.(Anthozoa: Hexacorallia). Zoolog Sci 2007; 24(4): 346-59.
20.Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Res 1994; 22(22): 4673-80.
21. MrModeltest2., C program for selecting DNA substitution models using PAUP*. (Accessed May 5, 2018, at https://github.com/nylander/MrModeltest2/).
22.Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. J Mol Evol 1980; 16(2): 111-20.
23.Tamura K. Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition-transversion and G+ C-content biases. Mol Biol Evol 1992; 9(4): 678-87.
24.Tamura K, Stecher G, Peterson D, et al. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. Mol Biol Evol 2013; 30(12): 2725-9.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-18]

[DOI: 10.29252/ismj.21.2.147]

25.Swain TD. Isozoanthus antumbrosus, a new species of zoanthid (Cnidaria: Anthozoa: Zoanthidea) symbiotic with Hydrozoa from the Caribbean, with a key to hydroid and sponge-symbiotic zoanthid species. Zootaxa 2009; 2051: 41-8.
26.Ong CW, Reimer JD, Todd PA. Morphologically plastic responses to shading in the zoanthids Zoanthus sansibaricus and Palythoa tuberculosa. J Mar Biol 2013; 160(5): 1053-64.
27.Reimer JD, Foord C, Irei Y. Species diversity of shallow water zoanthids (Cnidaria: Anthozoa: Hexacorallia) in Florida. J Mar Biol 2012; 2012.
28.Huang D, Meier R, Todd PA, et al. Slow mitochondrial COI sequence evolution at the base of the metazoan tree and its implications for DNA barcoding. J Mol Evol 2008; 66(2): 167-74.
29.Sinniger F, Reimer JD ,Pawlowski J. Potential of DNA sequences to identify zoanthids (Cnidaria: Zoantharia). Zoolog Sci 2008; 25(12): 1253-60.
30.Reimer J, Takishita K, Ono S, et al. Diversity and evolution in the zoanthid genus Palythoa (Cnidaria: Hexacorallia) based on nuclear ITS-rDNA. Coral Reefs 2007; 26(2): 399-410.
31.Swain TD. Phylogeny-based species delimitations and the evolution of host associations in symbiotic Zoanthusids (Anthozoa, Zoanthusidea) of the wider Caribbean region. Zool J Linn Soc 2009; 156(2): 223-38.
32.Mehra R, Yadav DS, Kundu P, et al. First report of Zoanthus pulchellus from India. J Mar Biotechnol 2015 ;1(1):1-4.
33.Reimer JD, Ishikawa SA, Hirose M. New records and molecular characterization of Acrozoanthus (Cnidaria: Anthozoa: Hexacorallia) and its endosymbionts (Symbiodinium spp.) from Taiwan. Marine Biodiversity 2011; 41(2): 313-23.
34.Ryland JS, Lancaster JE. Revision of methods for separating species of Protopalythoa (Hexacorallia: Zoanthidea) in the tropical West Pacific. Invertebr syst 2003; 17(3): 407-28.
35.Sinniger F. Zoantharia of New Caledonia. Compendium of marine species from New Caledonia Documents scientifiques et techniques II 2006; 7: 127-8.
36.Santos MEA, Kitahara MV, Lindner A, et al. Overview of the order Zoantharia (Cnidaria: Anthozoa) in Brazil. Marine Biodiversity 2016; 46(3): 547-59.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-18]

[DOI: 10.29252/ismj.21.2.147]

Original Article

Molecular Identification of Shallow Water *Zoanthids* in the Coast of Bushehr- Persian Gulf

M. Darvishi (MSc)[1], M. Moradinasab (MSc)[2*], SJ. Hosseini (PhD)[3], R. Mohammadnia (DVM)[4], Z. Aminikhoei (PhD)[5], S. Nasri (PhD)[1], I. Nabipour (MD)[6]

[1] Department of Biology, School of Science, Tehran Payame NOOR University, Tehran, Iran
[2] The Persian Gulf Tropical Medicine Research Center, The Persian Gulf Biomedical Sciences Research Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran
[3] Department of Biotechnology, Persian Gulf Research Institute, Persian Gulf University, Busheher, Busheher, Iran
[4] Bushehr Veterinary Organization, Bushehr, Iran
[5] Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Offshore Research Center, Chabahar, Iran
[6] The Persian Gulf Marine Biotechnology Research Center, The Persian Gulf Biomedical Sciences Research Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

(Received 27 Nov, 2017 Accepted 12 Feb, 2018)

Abstract

Background: The order zoantharia (Cnidaria: Anthozoa) which is one of the most unexplored orders are present in the Persian Gulf. This group of cnidarians commonly found in tropical waters at various places in the world and morphological identification to the species level is extremely complicated. In the present study, molecular diversity of shallow water zoanthids from the Bushehr coasts in the Persian Gulf was investigated for the first time.

Materials and Methods: Twenty-four colonies of zoanthids with variety of shape and colors have been collected from different locations. After DNA extraction using CTAB-Phenol-Chloroform method, mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (COI), mitochondrial 16S ribosomal DNA (mt 16S rDNA) and the nuclear internal transcribed spacer region of ribosomal DNA (ITS-rDNA) were amplified using polymerase chain reaction (PCR) technique.

Results: Based on the obtained sequences, the presence of four species-level clades: *Zoanthus sansibaricus*, *Zoanthus pulchellus*, *Zoanthus sociatus* and *Palythoa aff. mutuki*. Palythoa aff confirmed. mutuki species observed in this study had identical sequences with previously reported Palythoa aff. mutuki in the Persian Gulf. Nevertheless, in the present study two new undescribed species from genus Zoanthus (*Z.sociatus* and *Z.pulchellus*) were identifed.

Conclusion: The results of the present study indicate the efficiency of molecular markers application in comparison with morphological characteristics to identify zoaentaria, especially at the species level. Undoubtedly, more studies on zoanthids distribution patterns will increase our knowledge about the biodiversity of the Persian Gulf.

Key words: Zoantharia, COI, mt 16S rDNA, ITS-rDNA, Persian Gulf

©Iran South Med J. All rights reserved.

Cite this article as Darvishi: M, Moradinasab M, Hosseini SJ, Mohammadnia R, Aminikhoei Z, Nasri S. Nabipour I. Molecular Identification of Shallow Water Zoanthids in the Coast of Bushehr- Persian Gulf. Iran South Med J 2018; 21(2): 147-161

Copyright © 2018 Darvishi, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

[*] *Address for correspondence:* The Persian Gulf Tropical Medicine Research Center, The Persian Gulf Biomedical Sciences Research Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran. Email: m.moradinasab85@gmail.com- ORCID: 0000-0002-1330-835X

Website: http://bpums.ac.ir
Journal Address: http://ismj.bpums.ac.ir

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-18]

[DOI: 10.29252/ismj.21.2.147]