

مجله علمی - پژوهشی زیست فناوری میکروبی دانشگاه آزاد اسلامی
پاییز 1391، دوره چهارم، شماره چهاردهم، صفحه 58-53

شناسایی کلادهای زوگزانتله های همزیست با مرجان های آبسنگ ساز جزیره هنگام در عمق 5 تا 7 متر

پرگل قوام مصطفوی¹، غلامحسین وثوقی²، سولماز پارسا³

- 1- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه بیولوژی دریا، حصارک، تهران/ایران.
- 2- استاد دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه بیولوژی دریا، حصارک، تهران/ایران.
- 3- کارشناس ارشد بیولوژی دریا واحد علوم و تحقیقات تهران.

نویسنده مسؤول: سولماز پارسا. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، گروه بیولوژی دریا. Solmaz.parsa@gmail.com

دریافت: 91/7/1 پذیرش: 91/9/20

چکیده

زمینه و هدف: آبسنگ‌های مرجانی با جلبک‌های تک‌سلولی متعلق به جنس *Symbiodinium* همزیستی دارند و تاکنون 9 کلاد از آنها با روش‌های مولکولی شناسایی شده است. که از این میان کلاد D نسبت به سایر کلادها از مقاومت و تحمل دمایی بیشتری برخوردار می‌باشد. هرچند که نوع جنس و گونه‌ی مرجان نیز در انتخاب نوع کلاد مقاوم حائز اهمیت می‌باشد.

روش بررسی: در این تحقیق از 4 گونه مرجان *Siderastrea savignyana*، *Cyphastrea microphthalma*، *Leptastrea transversa*، *Platygyra daedalea* در شمال جزیره هنگام از عمق 5 تا 7 متر نمونه برداری انجام گرفت. نمونه‌ها در محلول DMSO 20% به آزمایشگاه منتقل شده و بعد از جدا کردن توده‌ی لزج زوگزانتله توسط پمپ هوا استخراج DNA به روش CTAB-chloroform انجام گرفت. سپس برای بررسی کلادها و زیرکلادهای *Symbiodinium*، از ژن Internal Transcribed Spacer-2 و پرایمر GC-clamp و روش Denaturing Gradient Gel Electrophoresis استفاده گردید

یافته‌ها: بعد از تفکیک باندهای متعلق به کلادها و زیرکلادهای مختلف به روش Denaturing Gradient Gel Electrophoresis، باندهای مورد نظر از روی ژل بریده شده و بعد از استخراج DNA از ژل توسط کیت و انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز، نمونه‌ها توالی‌یابی شدند. نتایج تعیین ترادف ژنی نشان داد که گونه‌ی *Siderastrea savignyana* دارای کلاد C می‌باشد و زیر کلادهای مختلف کلاد D متعلق به گونه‌های *Cyphastrea microphthalma* و *Leptastrea transversa* می‌باشد.

نتیجه‌گیری: مقاومت بیشتر کلاد D و زیرکلادهای آن نسبت به سایر کلادهای *Symbiodinium* و غالب بودن آن در شمال خلیج فارس نشان دهنده‌ی تغییرات شدید دمایی و نوسانات سایر عوامل محیطی می‌باشد.

واژه کلیدی: آبسنگ‌های مرجانی، زوگزانتله، کلاد، ITS2، جزیره هنگام

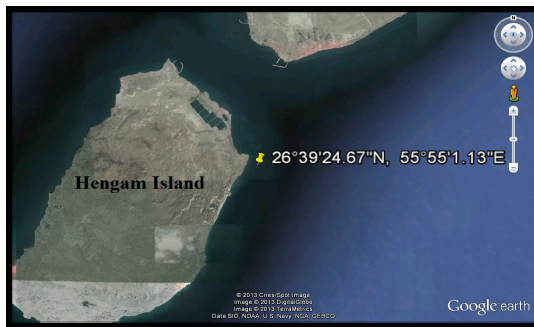
مقدمه

مرجان‌های آبسنگ‌ساز که از شاخه‌ی Cnidaria (گزنه‌سانان) و راسته‌ی Scleractinian (هرماتیپیک) می‌باشند، کم‌تر از 1 درصد سطح اقیانوس‌ها و دریاهای جهان را می‌پوشانند و از متنوع‌ترین و مهم‌ترین زیستگاه‌های دریایی جهان محسوب می‌شوند. به دلیل ساختار آهکی و خاص، تنوع زیستی در این مناطق بسیار بالا است، به طوری که پس از جنگل‌های استوایی دومین زیستگاه غنی جهان را تشکیل می‌دهند و عمدتاً زیستگاه آن‌ها مناطق آب‌های استوایی و نیمه‌استوایی می‌باشد و درجه حرارت مناسب برای رشد آنها 23 تا 29 درجه سانتی‌گراد و شوری مناسب 32 تا 42 قسمت در هزار است (1). *Symbiodinium* همزیست با مرجان‌ها از جلبک‌های تک سلولی داینوفلاژله می‌باشد که با انجام عمل فتوسنتز، تامین مواد آلی را به عهده داشته و از طرف دیگر باعث رسوب کربنات کلسیم به سطح مرجان‌ها و آهکی شدن آنها می‌شود (2). پاسخ فیزیولوژیکی *Symbiodinium* به استرس‌های محیطی می‌تواند تأثیرات شدیدی بر روی میزبان آن گذاشته و عکس‌العمل‌های متفاوتی را موجب شود. دامنه‌ی وسیع تغییرات دمای آب، شوری بالا و کدورت باعث ایجاد محدودیت‌هایی برای رشد آبسنگ‌های مرجانی شده است (3). یکی از عوامل محدود کننده آبسنگ‌های مرجانی عمق آب می‌باشد. اغلب آبسنگ‌های مرجانی در اعماق 25 متری یا کمتر از آن رشد می‌کنند. محدودیت توسط عمق به دلیل نیاز آبسنگ‌های مرجانی به نور است. بدون نور کافی میزان فتوسنتز زوگزانتله کاهش یافته و به همین دلیل، این موجودات در آب‌های کدر و مناطق فراجوشی (Upwelling) وجود ندارند، چرا که مواد معلق و ته‌نشینی رسوبات منجر به بسته شدن مکانیسم‌های تغذیه‌ای و خفه شدن مرجان‌ها شده و به همراه آن توانایی مرجان‌ها برای ذخیره‌ی کربنات کلسیم و تولید آبسنگ‌های مرجانی کاهش می‌یابد (4). با توجه به اهمیت زوگزانتله در پدیده سفید شدگی جوامع مرجانهای آبسنگ‌ساز و به منظور اهمیت رابطه زیستی بین مرجان‌های آبسنگ‌ساز و جلبک‌های همزیست آنها (*Zooxanthellae*) در خلیج فارس و همچنین چگونگی پایداری و بقاء مرجان‌ها در برابر شرایط نامساعد و سخت زیست محیطی، تعیین و شناسایی نوع کلادهای مقاوم تک سلولی‌های دو تاژکی از جنس *Symbiodinium* در برابر شرایط سخت و استرس‌های محیطی به عنوان اهمیت اصلی از

انجام این تحقیق در نظر گرفته شده است. هدف از این تحقیق، شناسایی نوع کلادهای مقاوم جنس *Symbiodinium* می‌باشد که در برابر استرس‌های محیطی و شرایط سخت و همچنین در بازسازی و حفظ این اکوسیستم پر اهمیت و پرتولید مؤثر خواهد بود.

روش بررسی

نمونه‌برداری و استخراج DNA: نمونه‌برداری از 4 گونه مرجان آبسنگ‌ساز *Siderastrea savignyana*، *Cyphastrea Leptastrea* و *Platygyra daedalea microphthalmia transversa* در جزیره هنگام از یک ایستگاه در عمق 5 تا 7 متر در مختصات جغرافیایی $26^{\circ} 39' 24.67'' N$ تا $55^{\circ} 55' 1.13'' E$ با عملیات غواصی انجام گرفت (شکل 1) و نمونه‌ها در بافر 20% DMSO (EDTA 250 mM)، اشباع شده با NaCl، pH=8.0 به آزمایشگاه منتقل شدند.



شکل 1. مختصات جغرافیایی محل نمونه‌برداری

بعد از جداسازی توده‌ی لزج زوگزانتله توسط دستگاه شستشو با هوا و بافر DNAB و شناسایی گونه‌های مرجانی، DNA به روش CTAB-Chloroform استخراج شد. بدین منظور، ابتدا نمونه‌ها سانتریفیوژ شدند و تشکیل دو فاز متفاوت را دادند، به قسمت ته‌نشین شده، بافر DNAB و 10% SDS اضافه کرده و 1/5 ساعت در داخل بن‌ماری قرار داده شد. سپس از پروتئیناز K (20 mg/ml) برای هضم پروتئین و از CTAB (ستیل‌تری‌متیل‌آمونیم بروماید) برای تخریب دیواره‌ی سلولی استفاده شد و ناخالصی‌ها توسط کلروفرم از DNA جدا شد. پس از استخراج DNA، کیفیت و کمیت آن توسط ژل آگارز 1% مورد بررسی قرار گرفت.

میزان تشابه، همپوشانی و شناسایی اولیه براساس داده‌های مولکولی صورت گرفت. بعد از شناسایی اولیه نمونه‌های مورد مطالعه براساس نرم‌افزار Blast، توالی DNA گونه‌های مشابه با نسبتاً مشابه نمونه‌های مورد مطالعه از بانک اطلاعات ژنتیکی استخراج گردیده و به همراه توالی‌های DNA گونه‌های مورد مطالعه پس از تبدیل‌سازی به فرمت Fasta و هم طول‌سازی به کمک نرم‌افزار Clustal X (Version: 2,0,12-win-msi) وارد نرم‌افزار MEGA5 (Version: 5.05) شده و درخت‌های فیلوژنی با اعتبار 1000 ترسیم گردید. سکانس‌های استفاده شده در درخت فیلوژنی طبق جدول 2 می‌باشد.

جدول 2. سکانس‌های گرفته شده از NCBI

کلاس A	AF333505	AF333504	AF333506	AF333507	AF333509			
کلاس B	AF333511	AF333513	AF333514					
کلاس C	AJ620945	FJ223994	EU431996	EU436648	FM877426	FM877427	EU074939	
کلاس D	DQ838545	EU099832	EU812740	HQ630881	DQ865214	EU449054	EU074903	
کلاس D	EU074906	JN558076	JQ003823	HM437247				
کلاس E	AB546599							
کلاس F	AJ830908							
کلاس H	AJ621157	AJ621153	AJ621150					
کلاس G	EF134622	EF134623						

درخت فیلوژنی مربوطه بر ریشه گونگی *Gyrodinium instriatum* (JN020162) رسم گردید.

یافته ها

DNAهای استخراج شده از جلبک‌های همزیست با 4 گونه مرجان *Cyphastrea*، *Siderastrea savignyana*، *Leptastrea* و *Platygyra daedalea microphthalma transversa* فاقد پروتئین در چاهک‌ها بوده و برای انجام واکنش PCR مناسب می‌باشد. پس از انجام واکنش PCR بر روی ژن RNA ریبوزومی ITS2 *Symbiodinium* و بدست آوردن محصولی به اندازه‌ی 350 bp (شکل 2)، کلادهای متفاوت توسط روش DGGE از هم جدا و توالی یابی شدند (شکل 3).

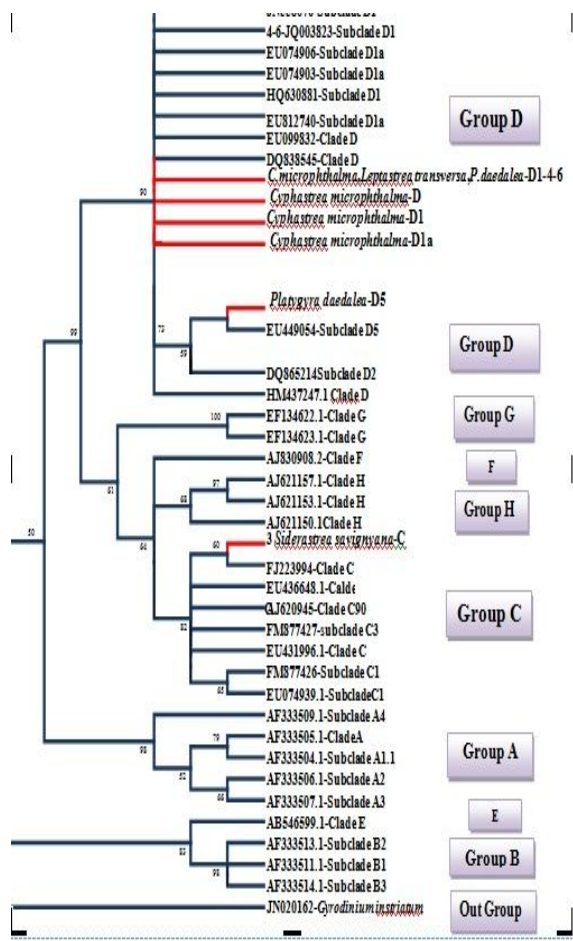
واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR): ژن هدف ITS2 با استفاده از آغازگرهای اختصاصی جدول 1 در دستگاه ترموسایکلر انجام گرفت.

جدول 1. آغازگرهای استفاده شده (5)

آغازگر جلوپرنده	ITS2clamp:5CGCCCGCCGCGCCCCGCGCCCGTCCCCGCCGCCCGCCCGG GATCCATATGCTTAAGTTCAGCGGGT-3
آغازگر معکوس	ITSintfor2: 5'-GAATTGCAGAAGTCCCGTG-3'

واکنش PCR شامل: 1/5 میلی‌مولار $MgCl_2$ ، 0/2 میلی‌مولار Taq DNA Mix، 0/3 میکرولیتر آنزیم (Taq polymerase) و 5 پیکومول بر میکرولیتر آغازگر جلوپرنده و معکوس با الگوی حرارتی 5 دقیقه در $94^{\circ}C$ جهت واسرشت رشته‌ی DNA و 30 ثانیه در $94^{\circ}C$ واسرشت ثانویه، 1 دقیقه در $56^{\circ}C$ جهت اتصال آغازگرها به رشته‌ی هدف و 30 ثانیه در $72^{\circ}C$ برای 30 سیکل جهت ساخت رشته‌ی مکمل و یک مرحله‌ی نهایی ساخت رشته‌ی مکمل به مدت 5 دقیقه در $72^{\circ}C$ صورت گرفت. محصول PCR بدست آمده بر روی ژل آگارز 2 درصد مورد سنجش قرار گرفت و محصول PCR حاصل با روش (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) DGGE بررسی شد. در نتیجه ژل آکرلامید با گرادیان مواد دناتوره کننده‌ی 80-40 درصد و 1X TAE Running Buffer تهیه و نمونه‌ها با استفاده از 6X DNA loading Buffer در چاهک‌ها Load شدند. سپس در دمای 60 درجه سانتی‌گراد و ولتاژ 50 به مدت 20 ساعت الکتروفورز شده و رنگ‌آمیزی ژل با استفاده از اتیدیوم بروماید 0/001 میلی‌گرم بر لیتر صورت گرفت. بعد از بریدن باندهای مورد نظر و استخراج DNA از ژل آکرلامید با استفاده از کیت K0513 شرکت Fermentase، جهت تقویت باندها، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز به همان ترتیب قبلی انجام شد و کیفیت و کمیت محصول PCR توسط ژل آگارز 2 درصد مورد سنجش قرار گرفت.

تعیین توالی ژنی و آنالیز فیلوژنی: تعیین ترادف DNA با استفاده از روش ختم زنجیره توسط شرکت Bioneer در کره انجام شد. برای ویرایش و آماده سازی توالی‌های بدست آمده جهت بررسی حداکثر تشابه با سایر نمونه‌هایی که قبلاً در بانک ژنی ثبت شده است، از نرم‌افزار آنالیز Blast و با کمک نرم افزار Chromas pro (Version: 1.5) انجام گرفت و تعیین

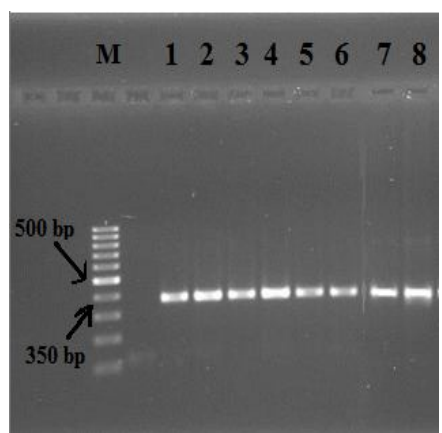


شکل 4. درخت فیلوژنی Likelihood از ژنوتیپ‌های ریبوزومی ITS2 جلبک‌های همزیست مرجان‌های جزیره هنگام

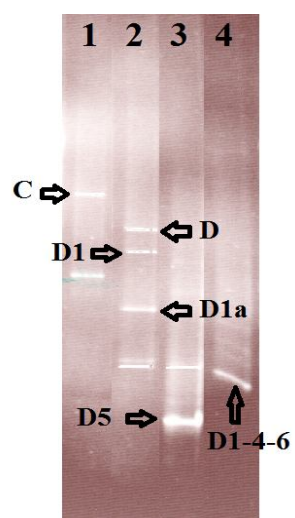
بحث

در مطالعه ی حاضر که بر روی برخی از مرجانهای آبنگ ساز غالب در عمق 5-7 متری جزیره ی هنگام انجام شد، دو نوع کلاد D و C و چهار نوع زیرکلاد D شناسایی شده است که در عمق 5-7 متر گونه ی *Siderastrea savignyana* کلاد C و گونه ی *Cyphastrea microphthalma* دارای کلاد D و زیرکلادهای D1، D1a، D1-4-6، گونه ی *Platygyra daedalea* دارای زیرکلادهای D5 و D1-4-6 و گونه ی *Leptastrea transversa* دارای زیرکلاد D1-4-6 در عمق می‌باشند.

شناسایی تنوع زوگزانته مرجان‌های آبنگ ساز در حوضه ی خلیج فارس و دریای عمان اولین بار توسط Baker و همکاران در سال 2004 انجام گرفت که کلادهای A، C و D را در سواحل عربستان شناسایی کرده اند (6). مصطفوی و همکاران



شکل 2. محصول PCR حاصل از DNA استخراج شده



شکل 3. ژل آکرلامید بدست آمده از DGGE
1:*S. savignyana*; 2:*C. microphthalma*; 3:*P. daedalea*; 4: Out Group

نتایج تعیین ترادف ژنی نشان دهنده ی حضور کلاد D و C و زیر کلادهای D1، D1a، D5 و D1-4-6 در *Symbiodinium* همزیست با مرجان‌ها می‌باشد که در درخت فیلوژنی رسم شده نیز این غرابت اثبات شد (شکل 4).

درصد از کل گونه‌های مرجانی مطالعه شده دارای *Symbiodinium* کلاد D هستند و کلاد C و A به ترتیب 16/8% و 5/8% از کل گونه‌های مرجانی مطالعه شده‌ی خلیج فارس را شامل می‌شوند (7، 18، 19).

خلیج فارس به علت قرار گرفتن در عرض‌های جغرافیایی نیمه‌گرمسیری، محدودیت‌هایی را برای جوامع مرجانی به وجود آورده است. غالب بودن کلاد D در خلیج فارس می‌تواند نشانی از سازش این کلاد در برابر فاکتورهای نامساعد محیطی آبهای خلیج فارس باشد. یکی از این فاکتورها شوری آب است که می‌تواند شوری در این ناحیه از 25 تا 50 قسمت در هزار متغیر باشد و همچنین نوسانات درجه حرارت سطح دریا ممکن است که در زمستان به 12 درجه سانتی‌گراد و در فصل تابستان به بیش از 40 درجه سانتی‌گراد برسد (20). یکی از مهمترین ویژگی‌هایی که می‌توان مشخصه‌ی کلاد D دانست مقاومت این کلاد در برابر درجه حرارت‌های بالاست. بر اساس آزمایشات انجام شده مشخص گردیده است که سیستم فتوسنتزی کلاد D مقاومت بالاتری را در برابر حرارت‌های زیاد نسبت به سایر کلادها نشان می‌دهد (21).

نتیجه‌گیری

با توجه به مقاومت کلاد D و زیرکلادهای آن در برابر شرایط سخت و استرس‌های دمایی، غالب بودن کلاد D در خلیج فارس می‌تواند نتیجه‌ای از تاثیر تغییرات شدید دمایی و نوسانات سایر عوامل محیطی باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات بی‌دریغ مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه آزاد، واحد علوم و تحقیقات تهران، به خصوص جناب آقای محسنیان و آقای عصاره و همینطور از کمک‌های آقایان علی احمدی و حامد دهقانی در بخش نمونه برداری این پایان نامه، تشکر و قدردانی می‌شود.

References

- 1- Spalding MD, Grenfell AM. *New estimates of global and regional coral reef areas*. Coral Reefs. 1997; 16: 225-230.
- 2- Hoegh-Guldberg O, Smith J. *The effect of sudden changes in temperature, light and salinity on the population density and export of zooxanthellae from the reef corals Stylophora pistillata Esper and Seriatopora hystrix Dana*. J Exp Mar Biol Ecol. 1989; 129: 279-303.

نیز در سال 2007 کلاد D و C90 را در 8 گونه مرجان در جزیره کیش و لارک در عمق‌های 3-5 متر، 7-10 متر و 8 متر گزارش کردند (7). همچنین آزادبادی در سال 1388، کلاد D را در همزیست مرجان‌های نرم جزیره لارک در عمق‌های 3-5 متر و 9-11 مترشناسایی کرد (8) و رحمانی و همکاران در سال 2011 کلاد D را در همزیست‌های مرجان‌های سخت جزیره فارور در عمق 7-10 متر بدست آوردند (9).

Rowan و Knowlton در سال 1995 مطالعه‌ای بر روی همزیست مرجان‌های دریای کارائیب انجام دادند که کلاد A و B در کلنی‌های ساکن در عمق کم آب (0-3m، نور بالا) یافت شدند، در حالیکه کلادهای A-C در کلنی‌هایی در عمق‌های متوسط آب یافت شدند (3 تا 6 متر) و کلاد C در کلنی‌هایی در آب‌های عمیق (6 تا 14 متر، نور کم) حضور داشت (10). در مرجان‌های هرما تیپیک، پراکنش *Symbiodinium* به طور قابل ملاحظه‌ای بین دریای کارائیب و اقیانوس هند تغییر پیدا می‌کند (11، 12، 13). در عمق‌های کم (کمتر از 7 متر)، کلادهای A-D در شرق مناطق حاره‌ای اقیانوس اطلس (کارائیب) معمول هستند و گونه‌های مرجانی یکی از این کلادها را میزبان می‌شوند. اما بعضی مواقع نیز همزمان با چند کلاد همزیستی دارند. در حالیکه در عمق‌های مشابه در مناطق حاره‌ای اقیانوس هند، مرجان هرما تیپیک با کلادهای D و C غالب شده‌اند (14).

مرجان‌هایی که در اثر شرایط استرس، سفیدشدگی و یا از دست دادن همزیست از بافت‌ها زنده می‌مانند، یک فرصتی برای میزبان به وجود می‌آید تا در طول مدت ترمیم، نوع همزیست داخلی خود را اصلاح کند و باعث سازگاری بهتر با استرس‌های محیطی می‌شود (15) و این خود نوعی از مکانیسم بقا برای مرجان‌هایی که با گرم شدن اقیانوس‌ها و تغییر آب و هوا روبرو می‌شوند به شمار می‌رود (16).

آب‌سنگ‌های مرجانی سراسر دنیا در سال 1998 در مناطقی که دما بیشتر از 38 درجه سانتی‌گراد بود به شدت سفید شده بودند (17). به دنبال این سفید شدگی آب‌سنگ‌های مرجانی خلیج فارس همانند پاناما در سال‌های 2000 تا 2001 با کلاد D غالب همزیست شده‌اند (63) درصد از کلنی‌های مرجانی آب‌سنگ‌ساز، در حالیکه در آب‌سنگ‌های مرجانی دریای سرخ تنها 1/5 درصد از کلنی‌ها کلاد D داشتند (6).

همچنین تحقیقاتی که از سال 2005 تا سال 2011 در مناطق مختلف خلیج فارس انجام گرفته نشان داده است که 77/4

- 3- Hoegh-Guldberg O, Jones RJ, Ward S, Loh WK. *Is coral bleaching really adaptive?* Nature. 2002; 415: 601-602.
- 4- Carpenter KE, Harrison PL, Hodgson G, Alsaffar A, Alhazeem H. *The corals and coral reef fishes of Kuwait*. Kuwait Institute Science Research And Environment Public Authority. 1997.
- 5- LaJeunesse TC, Trench RK. *Biogeography of two species of Symbiodinium (Freudenthal) inhabiting the intertidal Sea Anemone Anthopleura elegantissima (Brandt)*. Biol Bull. 2000; 199: 126-34.
- 6- Baker AC, Starger CJ, McCalanahan TT, Glynn PW. *Coral's adaptive response to climate change*. Nature. 2004; 430, 741.
- 7- Mostafavi PG, Fatemi SMR, Shahhosseiny MH, Hoegh-Guldberg O, Loh WKW. *Predominance of clade D Symbiodinium in shallow-water reef-building corals off Kish and Larak Islands (Persian Gulf, Iran)*. Mar Biol. 2007; 153: 25-34.
- 8- Azadbadi S. *Molecular Identification of Dominant Soft Corals' Zooxanthellae off Larak Island*. International Conference of The Persian Gulf; 2009.
- 9- Rahmani S, Ghavam Mostafavi P, Shahhosseiny MH, Vosoughi G, Faraji A. *Genetic Identification of Symbiodinium in Genus Acropora off Farur Island, Persian Gulf*. IJMAES. 2011; 1(1): 43-50.
- 10- Rowan R, Knowlton N. *Intraspecific diversity and ecological zonation in coral-algal symbiosis*. Proc Natl Acad Sci USA. 1995; 92: 2850-2853.
- 11- Baker AC, Rowan R. *Diversity of symbiotic dinoflagellates (zooxanthellae) in scleractinian corals of the Caribbean and Eastern Pacific*. In: Lessios HA, MacIntyre IG. Proc 8th Int Coral Reef Symp. 1997; 2: 1301-1306.
- 12- Baker AC. *Flexibility and specificity in coral-algal symbiosis: diversity, ecology, and biogeography of Symbiodinium*. Ann Rev Ecol Evol Syst. 2003; 34: 661-689.
- 13- LaJeunesse TC, Loh WKW, Van Woesik R, Hoegh-Guldberg O, Schmidt GW, Fitt WK. *Low symbiont diversity in southern Great Barrier Reef corals, relative to those of the Caribbean*. Limnol Oceanogr. 2003; 48: 2046-2054.
- 14- Van Oppen MJH, Mahiny AJ, Done TJ. *Geographic distribution of zooxanthella types in three coral species on the Great Barrier Reef sampled after the 2002 bleaching event*. Coral Reefs. 2005; 24: 482-487
- 15- Buddemeier RW, Fautin DG. *Coral bleaching as an adaptive mechanism*. Bioscience. 1993; 43: 320-326.
- 16- Berkelmans R, Van Oppen MJH. *The role of zooxanthallae in the thermal tolerance of corals: a 'nugget of hope' for coral reefs in an era of climate change*. Proc R Soc B. 2006; 273: 2305-2312.
- 17- Wilkinson C. *Status of the Coral Reefs of the World*. Global Coral Reef Monitoring Network Australian Ins of Mar Sc, Townsville. 2002; 378.
- 18- Shahhosseiny MH, Mostafavi PG, Fatemi SMR, Karimi E. *Clade identification of symbiotic zooxanthellae of dominant scleractinian coral species of intertidal pools in Hengam Island*. Afr J Biotechnol. 2011; 10(9): 1502-1506.
- 19- Mostafavi PG, GhayemAshrafi M, Dehghani H. *Are symbiotic algae in corals in northern parts of the Persian Gulf resistant to thermal stress?*. AHEMS Journal. In press 2013.
- 20- Johns W. *Arabian Marginal Seas and Gullfs*. Report of a Workshop held at Stennis Space Center, Miss University of Miami RSMAS. 1999; 60.
- 21- Coles SL, Brown BE. *Coral bleaching-capacity for acclimatization and adaptation*. Adv Mar Biol. 2003; 46: 183-223.