شناسایی گونه Chrysaora sp. (Cnidaria: Scyphozoa)دارای توان شکوفایی در خلیج چابهار، با تعیین توالی ژنی و مطالعه مورفولوژی

گیلان عطاران فریمان[۱*]، علی دلاور[۲]، آرش شکوری[۳]

۱- دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار- دانشکده‌ی علوم دریایی- گروه زیست دریا، g.attaran@cmu.ac.ir

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار- دانشکده‌ی علوم دریایی

۳- دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار- دانشکده‌ی علوم دریایی- گروه زیست دریا، aarash220@yahoo.com

چکیده

رده‌ی سیفوزوا که به عنوان ژله‌فیش های حقیقی نیز معروفند، دارای بیش از ۲۲۰ گونه هستند. اغلب گونه‌های آن دارای توان شکوفایی در آب‌های ساحلی هستند و به عنوان گونه های شاخص در تغییر وضعیت اکوسیستم‌های سطحی‌زی شناخته شده‌اند. بنا بر این، شناسایی دقیق و بررسی آن‌ها بسیارحائز اهمیت است. در این مطالعه گونه ای ژله‌فیش که در بهمن ماه سال ۱۳۹۱ در سواحل خلیج چابهار شکوفا شده بود از ناحیه بین جزر و مدی و آبهای ساحلی نمونه برداری گردید. نمونه ها ابتدا از نظر مورفولوژی شناسایی و سپس استخرج DNA با استفاده از روش لایسیس بافر انجام شد. پس از عمل PCR توالی ژنی در ناحیه 18s-rDNAتعیین گردید. توالی ژنی گونه ژله فیش از ایران با ۲۳توالی دیگر از بانک ژن در ناحیه ژنی مشابه مقایسه گردید. بررسی فیلوژنی با استفاده ازآنالیز Maximum likelihood (ML) انجام شد. نتایج بررسی ,امورفولوژی و مولکولی مشخص کرد که نمونه ژله فیش شکوفا شده در سواحل چابهار Chrysaora sp. می باشد که با بقیه گونه های این جنس در کلاد خانواده pelagiidea قرار گرفته و با ۹۴٪ بوت استرپ حمایت می شود. نتایج کلی تحقیق نشان داد که داده های مولکولی در شناسایی گونه های ژله فیش بسیار مؤثر می‌باشد.

کلید واژه: استخراج DNA، 18s-rDNA، *Chrysaora* sp.، فیلوژنی، چابهار

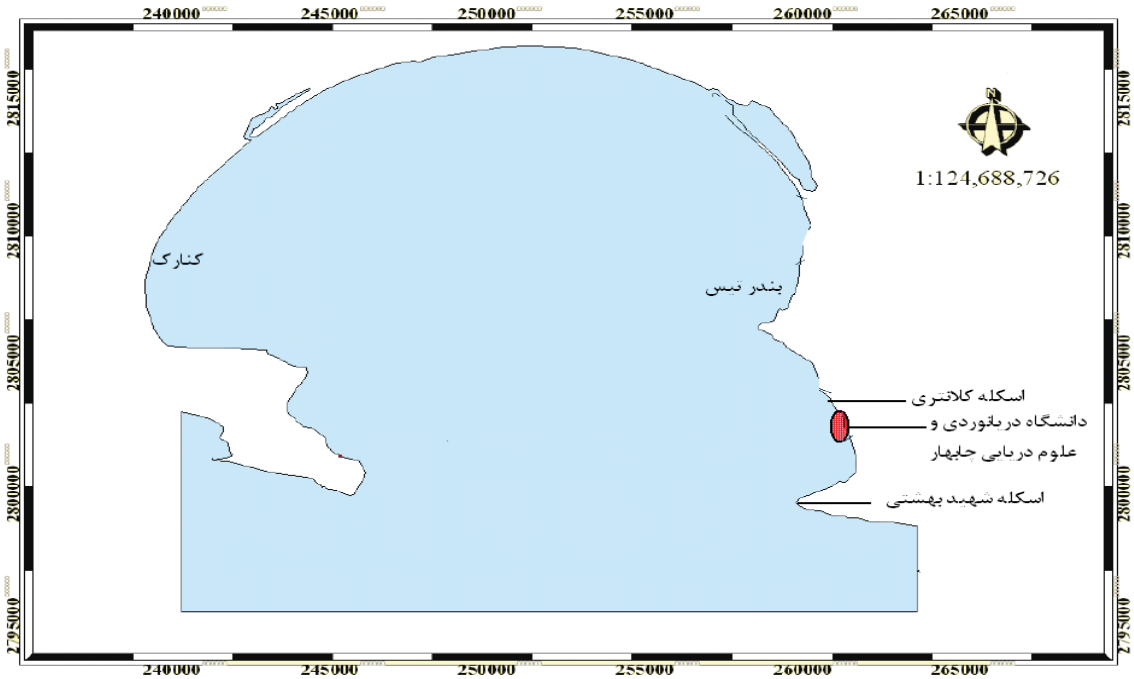
مقدمه

محیط زیست دریایی بیشترین تنوع از بی‌مهره‌گان را در خود جای می‌دهد (Brusca and Brusca, 2003). و این تنوع در اقیانوس هند- آرام بیشترین مقدار خود را دارد (Colin and Arneson, 1995). پنج رده‌ی آنتازوا، کوبوزوا، سیفوزوآ، هیدروزوا و استاروزوا از مرجانیان شناخته شده اند (kayal et al., 2013)، و این گونه ژله فیش عضو رده سیفوزوآ هستند و اغلب نمونه‌های این رده به شکل مدوز می‌باشند، پولیپ بسیار کوچک است و یا وجود ندارد و به عنوان ژله فیش های حقیقی شناخته شده اند(Dong et al., 2010). افزایش قابل توجه در بلوم ژله فیش ها در سرتاسر جهان و در اکوسیستم های دریایی به عنوان یک شاخص تغییر وضعیت در اکوسیستم های سطح زی شناخته می شود (Hamner and Dawson, 2008). شکوفایی آن‌ها اثرات نامطلوبی بر ادوات صیادی می گذارد و از میزان صید و کارایی آن ها به نحو چشمگیری می کاهد، همچنین با توجه به اینکه رژیم غذایی آن ها زئوپلانکتون های دریایی (لارو ماهیان وسخت پوستان) بوده، می توانند اثر نامطلوبی بر بازسازی ذخایر این آبزیان بگذارند و به عنوان رقیب غذایی برای سایر آبزیان باشند. بدین ترتیب بر رشد، تکثیر و پراکنش ماهیان و سایر آبزیان منطقه نیز اثر منفی خواهند داشت(Mills, 1995; Mills, 2001; Purcell et al., 2007). اهمیت بی‌مهره-گان دریایی در صنعت داروسازی روند افزایشی داشته است (Colin and Arneson, 1995). مدوزوزوئن‌ها، فرم‌های گوناگونی در مراحل مختلف چرخه‌ی زندگی خود از جمله بنتیک و پلاژیک را دارا هستند امروزه نه تنها در مورد بی‌مهره‌گان بلکه در مورد اکثر بی‌مهره‌گان و حتی مهره‌داران، آنالیز DNA یکی از روش‌های مطمئن در امر شناسایی و در نتیجه بررسی های تکاملی، سیستماتیک و ژنتیکی جمعیت‌های دریایی به حساب می‌آید (e.g., See McMillan et.al., 1991; Burton and Lee, 1994; France et al., 1996). از این رو، شناسایی دقیق گونه های آن بسیار مهم می باشد. در ایران تا کنون مطالعات زیادی در زمینه‌ی شناسایی مولکولی ژله‌فیش‌ها انجام نشده است. Daryanabrd و Dawson در سال ۲۰۰۸ شکوفائی ژله‌فیش *Crambionella orsini* (Scyphozoa: Rhizostomeae) در خلیج فارس و دریای عمان را مورد مطالعه و شناسایی ریخت شناختی و مولکولی قرار دادند.در این مطالعه گونه‌ای از ژله‌فیش‌ها که در بهمن ماه سال ۱۳۹۱ در سواحل چابهار بلوم کرده بود، مورد شناسایی مورفولوژی و مولکولی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از ژله‌فیش‌های شکوفا شده در چابهار از آب‌های ساحلی با موقعیت جغرافیایی 25°18′N 60°36′E با استفاده از تور پلانکتون گیر با بافت ۱۰۰ میکرون با استفاده از بطری پلانکتون گیر با l

۱۰۰ میکرون (ساخت شرکت هیدروبیوس) انجام شد. شکل ۱ موقعیت ایستگاه نمونه‌برداری را نشان می-دهد.



شکل۱- موقعیت منطقه نمونه برداری که با رنگ قرمز نشان داده شده است.

بعضی از نمونه های جمع آوری شده به منظور شناسایی ریخت شناختی در محل با اتانول ۹۵٪ فیکس شدند(Collins, 2002) و بعضی از نمونه ها داخل سطل و در آب دریا نگه داری شده و پس از انتقال به آزمایشگاه، نمونه در فریزر ۸۰- درجه سانتیگراد به منظور استفاده در آزمایشات مولکولی فریز شدند. یک برش کوچک از قسمت بازوی نمونه تهیه شد و در اپندورف له گردید. سپس استخراج DNA با استفاده از روش‌هایی مانندCTAB, GUTC فنل-کلروفرم ایزوامیل و لایسیس بافر (بر اساس کیت IQ 2000)انجام شد. کیفیت DNA استخراج شده بر روی ژل آگار ۱٪ با استفاده از لودینگ دای در دستگاه الکتروفورز و کمیت آن هم با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل RS232 بررسی گردید. تصاویر باندهای DNA تشکیل شده بر روی ژل، در دستگاه ژل داک مدلE_BOX_VX2/2Mتصویر برداری گردید و سپس در فریزر ۲۰- برای انجام واکنش زنجیره ای پلیمراز و تعیین توالی نگه داری شد. توسعه و بسط قسمتی از ژن در ناحیه 18s-rDNA با استفاده از آغاز گرهای 18Sa (Forward) (5’-ACC CTG GTT GAT CCT GCC AGT)- 18Sb (Reverse) (5’-GAT CCT TCTGCA GGT TCA CCT AC-3’). 18(Medlin et al., 1988) انجام شد. PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر مدلEpendorf 5331 در هر واکنش پلیمراز زنجیره ای ۲۰ نانوگرمِ DNA به عنوان نمونه الگو و 10x bufferMgCl2، Taq و

dNTP واز هر کدام از پرایمرهای رفت و برگشت در حجم ۵۰ میکرولیتری استفاده شد. سیکل حرارتی داده شده در واکنش های زنجیره ی پلیمراز شامل واسرشت سازی اولیه به مدت ۵ دقیقه در درجه حرارت۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد، سپس ۳۵ سیکل که شامل واسرشتگی در دمای ۹۴ درجه برای مدت ۴۰ ثانیه، اتصال آغاز گرها در۵۹ درجه برای ۱ دقیقه، بسط در ۷۲ درجه برای ۱/۵ دقیقه، و بسط نهایی در ۷۲ درجه برای ۷ دقیقه انجام شد. محصول PCR بر روی ژل الکتروفورز ۱٪ رؤیت شد. سپس باندهای مناسب تعیین و بعد از خالص‌سازی، برای تعیین توالی به کشور انگلیس ارسال گردید. توالی‌های بدست آمده از گونه ایران با توالی ۲۳ گونه در منطقه ژنی مشابه هم ردیف ساز گردید و سپس مورد آنالیزهای فیلوژنیک قرار گرفت. در این آنالیزها از نرم‌افزارهای MEGA (Kumar et al., 1994) Ver 5، (Hall, 1999) BioEdit Ver 7.0 و ClustalX (Jeanmougin. et al., 1998) استفاده شد. در بررسی فیلوژنیک آنالیز Maximum likelihood (ML) استفاده شد وگونه‌ی Paranthus niveusاز رده‌ی آنتوزوا و خانواده‌ی Actinostolidaeبه عنوان برون گروه انتخاب شد جدول ۱ تمام گونه هایی که در بررسی فیلوژنی به همراه شماره ثبت ژنی آن‌ها آورده شده است.

جدول۱- گونه هایی که در بررسی فیلوژنیک در این پژوهش استفاده شده به همراه شماره ثبت ژنی آن‌ها

گونه	شمارهبانکژنی
Paraphyllina ransoni	HM194855
Atorella octogonos	HM194854
Linuche unguiculata	HM194859
Desmonema sp.	HM194857.1
Cyanea capillata	HM194873
Cyanea annaskala	HM194831
Chrysaora sp.	Iranian
Chrysaora fuscescens	HM194868
Chrysaora melanaster	AY920780
Chrysaora melanaster	HM194864
Chrysaora lactea	HM194863
Sanderia malayensis	HM194861
Aurelia sp.	HM194874
Aurelia sp.	EU272547
Aurelia aurita	HM194866
Phacellophora camtschatica	HM194875
Pseudorhiza haeckeli	HM194856
Crambione mastigophora	HM 194836
Lychnorhiza lucerna	HM194860
Marivagia stellata	HQ285997

Cassiopea frondosa	HM194872
Cassiopea andromeda	HM194871
Atolla vanhoeffeni	HM194869
Paranthus niveus(out group)	GU473311

نتایج

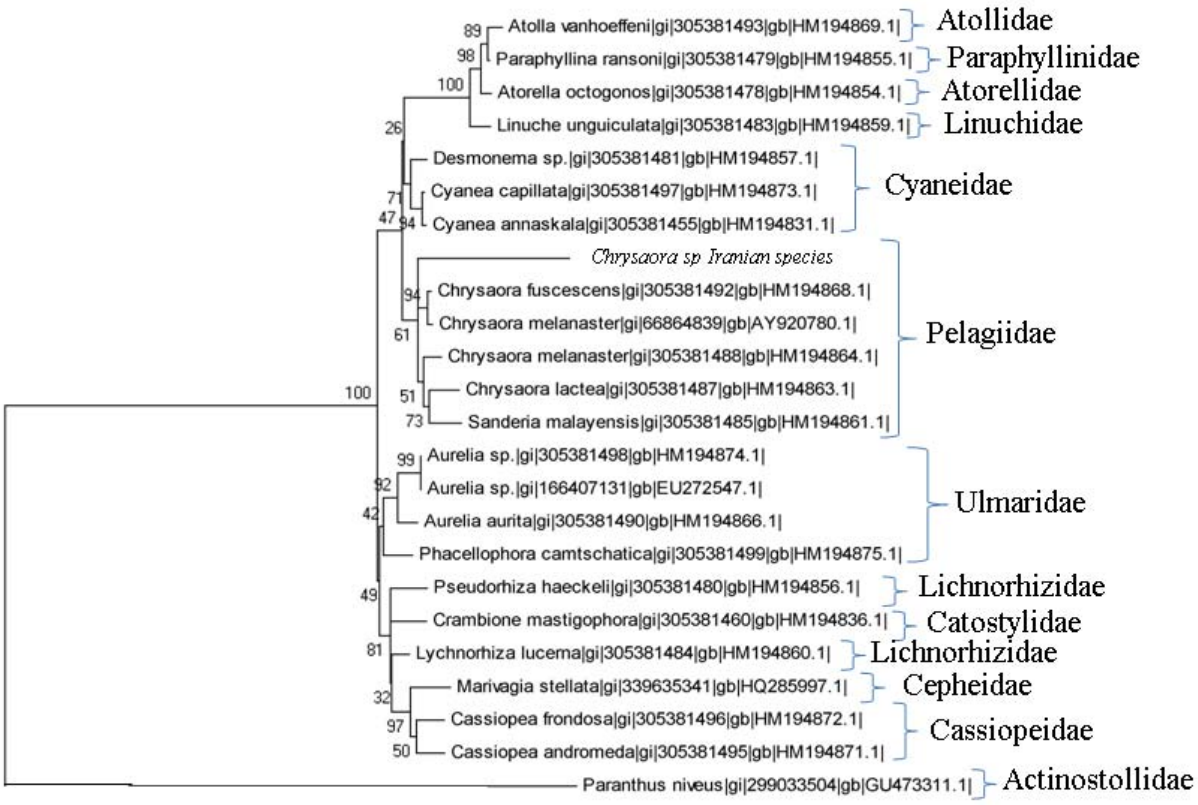
بررسی مورفولوژی گونه‌ی .*Chrysaora* sp

بررسی مورفولوژی با چشم غیر مسلح بر اساس رنگ، شکل و اندازه‌ی این گونه با سایر گونه‌های مدوزوزوا و مکاتبات با دکتر Kayal صورت گرفت، مشخص شد که این کیسه تن به جنس Chrysaor*a*، از رده‌ی سیفوزوا تعلق دارد (Dong et al., 2010; Collin, 1995)(شکل ۲). ولی گونه آن بر اساس منابع موجود تشخیص داده نشد. این گونه دارای تقارن شعاعی می‌باشد. دهان آن در مرکز سطح دهانی قرار گرفته که به حفره گاستروسکولار متصل می‌شود. .Chrysaora sp، هم دارای مرحله‌ی زندگی آزاد و هم مرحله‌ی زندگی پولیپ می‌باشد.

شکل۲- عکس از گونه‌ی .*Chrysaora* sp در ساحل چابهار

مقایسه روش‌های مختلف استخراج در این تحقیق نشان داد که برای مرجان‌هایی که بدن نرم و ژله ای دارند، بهترین روش استخراج DNA، روش بافر لیزکننده می باشد و با این روش می توان DNAیی مناسب از نظر کمیت و کیفیت بدست آورد.در شکل ۳ فیلوژنی این گونه که با استفاده از آنالیز ML به دست آمد، نشان داده شده است. در این درخت، گونه‌ها متعلق به ۱۱ خانواده از مدوزوزوا می‌باشند که شامل خانواده هایAtollidae، Paraphyllinidae، Atorellidae، Linuchidae، Cyaneidae، Catostylidae، Lichnorhizidae، Cassiopeidae، Cepheidae، Actinostollidae وPelagiidae می-باشد که گونه‌های مربوط به خانواده‌های مختلف در یک کلاد قرار می‌گیرند. گونه‌ی.*C*hrysaora sp از

ایران در کلادی که شامل گونه‌های متعلق به جنس *Chrysaora* و خانواده Pelagiidae است قرار گرفته و با ٪۹۴ بوت استرپ حمایت می‌شود.



شکل۳- درخت فیلوژنی گونه Chrysaora sp. از ایران همراه با ۲۳ گونه از مرجان‌ها متعلق به ۱۱ خانواده با استفاده از آنالیز ML بر اساس توالی ژنی قسمتی از ژن SSU اعداد بوت استرپ با ۱۰۰۰ replicate در نظر گرفته شده است.

بحث و نتیجه‌گیری

در این بررسی، یک گونه ژله‌فیش دریای عمان متعلق به جنس *Chrysaora* برای اولین بار از نظر ریخت شناسی و نیاشناسی بررسی گردیدند. این گونه، پتانسیل شکوفایی در دریای عمان را دارد.در حال حاضر، موقعیت فیلوژنیک نیاشناختی نیداریا درون متازوا مورد بحث می‌باشد. (Collins, 1998).

در مقابل، تجزیه و تحلیل کلادیستیکی بر اساس ریخت شناسی نشان می‌دهد یک گروه خواهری بنام شانه داران نیز علاوه بر Bilateria وجود دارد(Collins, 2002). Peterson و Eernisse در سال ۲۰۰۱ طبق داده های ریخت‌شناسی و توالی یابی SSU و درخت اشتقاق یافته از نیداریا، نشان دادندکه داده های

توالی یابی مولکولی ارائه شده در تحقیقی که بر روی مجموعه متنوعی از نیداریا انجام شده، از این فرضیه که نیداریای زنده یک کلاد را تشکیل می‌دهند، حمایت میکند (Boero et al., 1998).
در بین نیداریا، سه گروه از ۴ گروه نیداریا شامل هیدروزوا، کوبوزوا و سیفوزوا به عنوان رده های Linnaean به رسمیت شناخته شده اند و بنظر می‌رسد که به خوبی از منوفیلتیک بودن حمایت می‌کند. در توافق با سایر تحقیقات، کلاد آنتوزوا گروه خواهری مدوزوزوا می‌باشد (Werner, 1973a; Bruscaand Brusca, 2003; Bridge et al., 1992)در بین مدوزوزوا , هیدروزوا و کوبوزوا بشدت از فرضیه منوفیلتیک پشتیبانی می کند. اکثر محققیندریافتند که آنتوزوا گروه خواهری مدوزوزوا می‌باشد و به این نتیجه رسیدند که اجداد نیداریا احتمالاً فاقد مرحله مدوز پلاژیک میباشند (Werner, 1973a;Shuchert, 1996; Harbison, 1985; Collins, 1998).در مقابل، شاهدی که اثبات می‌کند نیدارین‌ها از میان متازوا، تک نیایی هستند، از توالی ملکولی داده‌های زیرواحد کوچک (SSU) ریبوزومی(Collins, 1998) و نیز زیرواحد بزرگ (LSU) ریبوزومی ناشی می‌شود. اغلب آنالیزهای فیلوژنیک نیداریا، بر روی تعیین ارتباط میان چهار تاکسون اصلی از آن‌ها که شامل آنتوزوا، کوبوزواهیدروزوا و سیفوزوا می‌شود، صورت می-گیرد (Bridge et al., 1992). بر این اساس، یک نظر کلی این است که آنتوزوا، گروه خواهری نیدارین‌های باقی‌مانده است که به خیلی از مدوزوزوآ برمی‌گردند (Petersen, 1979) یا اینکه تعداد کمتری از آن‌ها به تسرازوا برمی‌گردند. واضح است که دلیل متقاعدکننده برای تک نیایی بودن مدوزوزوآ، دارا بودن ژنوم‌های میتوکندریایی خطی (Bridge et al., 1992) و وجود چتر می‌باشد. اما در مورد ارتباط میان گروه‌های مدوزوزوئن اصلی باقی‌مانده اختلاف وجود دارد. در تحقیق حاضر نیز آنتازوا که هم از لحاظ ریخت شناسی و هم از لحاظ مولکولی با سه رده‌ی دیگر از مدوزوزوا شامل سیفوزوا، هیدروزوا و کوبوزوا (زیر شاخه مدوزوزوزا) اختلاف داشت، گروه خواهری نیدارین‌های باقی‌مانده محسوب می‌شوند که با بسیاری از اعضای مدوزوزوزا در ارتباطند.
اینکه آیا جد نیداریا از یک پولیپ یا مدوز (یا حتی اکتینولا و پلانولا) می باشد، برای بیش از یک قرن مورد بحث بوده است (Brooks, 1886) اینکه جد یک مدوزوزوئید از نیداریا بوده توسط Hyman (1940) پیش بینی شد. پولیپ جنسی biradialنیز بدون پریدرم اجدادی در نظر گرفته شد (Collins, 2002). در حالیکه دیگران (Werner, 1973a) پولیپ اجدادی را بصورت ۴ پر که توسط یک لوله پریدرم احاطه شده مشاهده کردند. توافقی کهبه‌وضوح وجود دارد اینست‌که که آنتوزوا گروه خواهری مدوزوزوا می‌باشد. (Bridge et al., 1992; Medina et al., 2001; Collins, 2002). با فرضیه کلادیستیک چنین استنباط شد که جد نیدارین های بالغ یک جانور ساکن به شکل پولیپ بوده است. احتمالاً جد نیداریا دو شعاعی بوده که قبلا توسط Salvini–Plawen (1978) استنتاج شده بود. این نتیجه بیان کرد که نیدارین های آنتوزوا و بیلاتریا، طبق مکانیسم های مولکولی ایجاد تقارن بدن، احتمالاً

از یک جد دو شعاعی معمولی بوده است (Collins, 2002). اگر نیداریای اجدادی پولیپوئید بالغ بود، وقتیکه به مرحله مدوزی میرسید چرخه زندگی خیلی اتفاقی به اصل و نسب مدوزوزوا هدایت میشد.این مسأله بیان می کند که مدوز نوعیهم شکلی (synapomorphy)با مدوزوزوا هست تا نیداریا. اگرچه اختلاف مشخصی در چگونگی تکامل مدوز در زیرگروه های متنوع مدوزوزوئن ها وجود دارد اما، احتمالا هیچ گروهی از مدوزوزوئن ها سهم نسبی بخاطر نژاد معمولی از جد مدوزوزآنداشته اندو بر اساس فرضیه کلادیستیک مطرح شده, پروسه هایتکامل اجدادی مدوزا در مدوزوزوا مشخص نمی باشد(Collins, 2002)..

*Chrysaora*را می‌توان به شرح زیر از دیگر پلاژیدها متمایز ساخت. در این مدوز، اندام‌های حسی در محل تقاطع یک کیسه‌ی ساب آمبرلا و دو فرورفتگی عمیق اگزامبرلایی قرار گرفته‌اند. یکی فرو رفتگی قیفی شکل و دیگری توسط لپت‌های(lappets) مجاور همپوشانی می‌شود. نسبت به حفره‌های حسی اگزامبرلایی حفرات سطحی‌تری هم وجود دارند(Brusca and Brousca, 2003). به عنوان مثال در *Pelagianoctiluca* یا *Sanderia* sp. وجود ندارد (Colin and Arneson, 1995). در مدوزها، سپتا نسبت به تنتاکل‌های نزدیک به روپالیوم‌ها محدود می‌شود. به عنوان مثال در گونه‌های *Sendaria* یا تنتاکل‌ها و روپالیوم‌های حدواسط در گونه‌های پلاژیا به استثنای *Chrysaora* sp.، اگزامبرلا دارای لکه های رنگی با الگوی ستاره ای است. اینالگو در گونه‌های *Pelagia* و *Sanderia* وجود ندارد. اگزامبرلای مدوزها از زگیل‌های آشکار منشأ نگرفته است(Colin and Arneson, 1995). در مقابل زگیل‌های اگز-آمبرلایی در گونه‌های *Pelagia* و *Sendaria*، برآمدگی‌های مزوگلیایی آشکار هستند. در مدوزها، بافت-های گنادی بیشتر شامل کیسه‌های گنادی می‌شوند. بافت‌های گنادی گونه‌های *Pelagia* و *Sandetia*، خارجی می‌باشند. در افیرا دسته‌های نماتوسیست در یک الگوی قابل توجه از تکه (patch) های مستطیل شکل در کنار هر روپالیوم به همراه یک حلقه متشابه از تکه های دایره‌ای بر روی سطح اگزامبرلایی از بدن آرایش یافته‌اند.

بازبینی جنس *Chrysaora* (Péron Lesueur, 1810) از مشاهدات در موزه (Brazil, Europe, and USA) بر روی نمونه‌های زنده در طبیعت و در چرخه‌های زندگی بعضی گونه‌های کشت داده شده تحت شرایط آزمایشگاهی انجام شد. در مجموع از ۱۶۸ موزه، برخی از آن‌ها با بسیاری از مدوزها مقایسه شدند. از جمله این‌ها ۹ نمونه بودند. این جنس شامل ۱۳ گونه‌ی معتبرمی باشد (Chrysaora achlyos, C. chinensis, C. colorata, C. fulgida, C. fuscescens, C. hysoscella, C. lactea, C. melanaster, C. pacifica, C. pentastoma, C. plocamia, and C. quinquecirrha)، یکی از گونه‌ها inquirenda (Chrysaora caliparea) و دو گونه‌ی مورد تردید (*C. kynthia* and *C. wurlerra*) می باشد. تفکیک گونه‌ها عمدتاً بر اساس تعداد تنتاکل، شکل سپتاهای شعاعی، توسعه‌ی تنتاکل، رنگ و اندازه-

گیری نماتوسیست‌ها می‌باشد. *Chrysaora pacifica*، بر اساس تعداد تنتاکل و ضمایم نماتوسیست از *C. melanaster* متمایز می‌شود(Totton, 1965). نمونه‌ی اختصاصی مدیترانه *C. hysoscella*، هرمافرودیت می‌باشد و در نتیجه از *C.flugia* ی آفریقای شرقی متمایز در نظر گرفته می‌شود. Chrysaora achlyo*s* (شمال شرق اقیانوس آرام) و *C.* plocamia (در جنوب شرقی اقیانوس آرام و جنوب غربی اقیانوس اطلس) از نظر جغرافیایی از هم جدا شده اند اما از لحاظ ریخت شناسی یکسان هستند، که تنها با الگوی رنگی مشخص می شود(Peterson and Eernisse 2001) . در درخت فیلوژنی تحقیق حاضر، گونه های این جنس در یک کلاد پلاژیده قرار گرفته و با بوت استرپی ضعیف (۶۱٪) حمایت می شود و گونه‌ی ایرانی غریبه با این‌ها با حمایت ۹۴٪ بوت استرپ، گروه خواهری بقیه گونه های این جنس می باشد (شکل ۳). اخیراً مطرح شده است که گونه‌ی *C. southcotti* و گونه‌ی *C. pentastoma* از نظر فیلوژنی بسیار نزدیک می باشند(Collins, 2002) که در آنالیز حاضر، این گونه ها در نظر گرفته نشدند. هم چنین اطلاعات ژنی آن‌ها در بانک ژن مربوط به ناحیه متفاوت ژنی ثبت شده که یعنی در جنس Chrysaor*a* گونه های *C. colorata*، *C. plocamia*، و *C. achlyos* یک کلاد خواهری را با داشتن یک موقعیت پایه در درخت فیلوژنی نشان می دهند و این‌ها گونه‌هایی با بیش از ۲۴ تنتاکل هستند (که قبلاً به جنس Dactylometra اختصاص می‌یافتند) و یک کلاد را تشکیل می‌دهند (Gershwin and Collins, 2002).

از آنجا که بخش زیادی از بدن این موجودات را آب تشکیل می‌دهد، بنابراین استخراج DNA به آسانی امکان‌پذیر نمی‌باشد (Gershwin and Collins, 2002). نتایج این تحقیق نشان داد بهترین و مقرون به صرفه ترین روش استخراج DNA برای این گونه روش بافر لیز کننده می باشد. شناسایی مولکولی در کنار شناسایی ریخت شناسی می تواند در شناسایی دقیق مرجان‌های مدوز بسیار موثر باشد.

اعضای هیدروزوئن‌های کلونیال، راسته‌ی سیفونوفورا، خیلی اوقات در جریان جمع‌آوری با تور قطعه قطعه می‌شوند و به همراه زوئیدهای لازم برای شناسایی، از دست می‌روند (Totton, 1965). نتیجه‌ی کلی این تحقیق و دیگر تحقیقات(Medina et al., 2001; Collins, 2002) نشان می دهد که شناسایی دقیق مدوزوزوئن‌ها، با استفاده از ویژگی‌های ریخت شناسی به تنهایی بسیار دشواراست. این موجودات، لطیف و نازک‌اندو در جریان جمع‌آوری سنتی با تور به آسانی آسیب می‌بینند، در نتیجه محتوای آب بافت‌هایشان بالا می‌رود. نکته دیگر اینکه، معرفی در سطح گونه که به مشخصات ریخت شناسی دقیق وابسته است، برای خیلی از گونه‌ها غیر ممکن می‌شود.

منابع

دریانبرد، ر.، ۱۳۸۲.« تولید انبوه عروس دریایی گونه ی *Crambionella orsini* در آب های خلیج فارس و دریای عمان»، مجله ی پژوهش و سازندگی، شماره ی ۶۱. ۷ صفحه.

Boero, F., Gravili, C., Pagliara, P., Piraino, S., Bouillon, J. and Schmid, V. 1998. The cnidarian premises of metazoan evolution: from triploblasty, to coelom formation, to metamery. *Italian Journal of Zoology*. 65: 5–9.

Bridge, D., Cunningham, C.W., Schierwater, B., DeSalle, R., Buss, L.W., 1992. Class- level relationships in the phylum Cnidaria: evidence from mitochondrial genome structure. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 89: pp 8750–8753.

Brooks, W.K. 1886. Life history of the Hydromedusae. A discussion of the Medusae and of the significance of metagenesis. *Memoirs of Boston Society of Natural History*. 3: 359–430.

Brusca, R.C., and Brusca, G.J., 2003. *Invertebrates*. Sinauer Associates, Sunderland, M.A.

Burton, R.S., and Lee, B., 1994. Nuclear and mitochondrial gene genealogies and allozyme polymorphism across a major phylogeographic break in the copepod *Tigriopus californicus. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA.* 91: pp 5197–5201.

Colin, P.L., and Arneson, C., 1995. *Tropical Pacific Invertebrates.* Beverly Hills, Calif.: Coral Reef Press.

Collins, A.G., 1998. Evaluating multiple alternative hypotheses for the origin of Bilateria: an analysis of 18S rRNA molecular evidence. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the* USA 95.

Collins, A.G., 2002. Phylogeny of Medusozoa and the evolution of cnidarian life cycles. *Journal of Evolutionary Biology.* 15: pp 418–432.

Dawson, M. N., askoff, K. A. R, Jacobs, D. K. 1998. Field preservation of marine invertebrate tissue for DNA analyses. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*. 2: pp 145-152.

Dessauer, H.C., Cole, C.J., Hafner, M.S., 1995. Collection and storage of tissues. In: Hillis, D.M., and Moritz, C. (eds.). *Molecular Systematics, 2nd ed.* Sunderland, Mass.: Sinauer, 25–41.

Dixon, M., and Webb, E.C., 1979. *Enzymes.* New York, N.Y.: Academic Press.

Ducklow, H.W., and Mitchell, R., 1979. Composition of mucus released by coral reef coelenterates. *Limnology and Oceanography*. 24: pp 706–714.

France, S.C., Rosel, P.E., Agenbroad, J.E., Mullineaux, L.S., Kocher, T.D., 1996. DNA sequence variation of mitochondrial large-subunit rRNA provides support for a two-subclass organization of the Anthozoa (Cnidaria). *Molecular Marine Biology and Biotechnology.* 5: pp 15–28.

Hansell, D.A., and Carlson C.A., 2002. Biogeochemistry of marine dissolved organic matter. Academic Press, San Diego.

Harbison, G.R. 1985. On the classification and evolution of the Ctenophora. In: The Origins and Relationships of Lower Invertebrates (S. Conway Morris, J. D. George, R. Gibson and H.M. Platt, eds), pp. 78–100. Clarendon Press, Oxford.

Hyman, L.H., 1940. The Invertebrates, Vol. 1. Protozoa Through Ctenophora. McGraw-Hill, New York.

Kirchman, D.L., 2000. Microbial Ecology of the Oceans. Wiley-Liss, New York. marine zooplankton. *Limnology and Oceanography*. 12: pp 376–382.

McMillan, J., Mahony, T., Veron, J.E.N., Miller, D.J., 1991. Nucleotide sequencing of highly repetetive DNA from seven species in the coral genus *Acropora* (Cnidaria: Scleractinia) implies a division contrary to morphological criteria. *Marine Biology.* 110: pp 323–327.

Medina, M., Collins, A.G., Silberman, J.D. and Sogin, M.L., 2001. Evaluating hypotheses of basal animal phylogeny using complete sequences of large and small subunit rRNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. USA. 98; pp 9707–9712.

Petersen, K.W., 1979. Development of coloniality in Hydrozoa. In: Biology and Systematics of Colonial Organisms (G. Larwood and B. R. Rosen, eds), pp. 105–139. Academic Press, New York.

Peterson, K.J. and Eernisse, D.J. 2001. Animal phylogeny and the ancestory of bilaterians: inferences from morphology and 18s rDNA gene sequences. *Evolution Development.* 3: pp 170-205.

Pitt, K.A., Koop, K., Rissik, D., 2005. Contrasting contributions to inorganic nutrient recycling by the co-occurring jellyfishes, Catostylus mosaicus and Phyllorhiza punctata (Scyphozoa, Rhizostomeae). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 315: 71–86.

Salvini-Plawen, L.V. 1978. On the origin and evolution of the lower Metazoa. *Zeit Systematics of Zoology Systematics Evolution Forschung*. 16: 40–88.

Schuchert, P. 1996. The Marine Fauna of New Zealand: Athecate Hydroids and Their Medusae (Cnidaria: Hydrozoa). New Zealand Oceanographic Institute, Wellington.

Seutin, G., White, B.N., Boag, P.T., 1991. Preservation of avian blood and tissue samples for DNA analyses. *Canadian Journal of Zoology*.69: 82–90.

Totton, A.K., 1965. A Synopsis of the Siphonophora British Museum of Natural History, London.

Webb, K.L., and Johannes, R.E., 1967. Studies of the release of dissolved free amino acids by Pitt, K.A., Koop, K., Rissik, D., 2005. Contrasting contributions to inorganic nutrient recycling by the co-occurring jellyfishes, Catostylus mosaicus and Phyllorhiza punctata (Scyphozoa, Rhizostomeae). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 315: 71–86.

Werner, B., 1973a. New investigations on systematics and evolution of the class Scyphozoa and the phylum Cnidaria. *Publication Seto Marine Biology Laboratory*. 20: 35–61.

Kayal, E., Roure, B., Philippe, H., Collins, A.G., Lavrov, D.V., 2013. Cnidarian phylogenetic relationships as revealed by mitogenomics. BMC Evolutionary Biology. 13:5.

Dong, S., Mulders, W.H, Rodger, J., Woo, S., Robertson, D., 2010. Acoustic trauma evokes hyperactivity and changes in gene expression in guinea-pig auditory brainstem. Eur J Neurosci. 31:1616 –1628.

Hamner, W.M., and Dawson, M.N., 2008. A review and synthesis on the systematics and evolution of jellyfish blooms: advantageous aggregations and adaptive assemblages. *Hydrobiologia*. 616: 161-191.

Mills, C.E., 1995. Medusae, siphonophores, and ctenophores as planktivorous predators in changing global ecosystems. ICESJournal of Marine Science. 52: 575–581.

Mills, C.E., 2001. Jellyfish blooms: are populations increasing globally in response to changing ocean conditions? Hydrobiologia. 451: 55–68.

Mills, C.E., 1995. Medusae, siphonophores, and ctenophores as planktivorous predators in changing global ecosystems. ICES Journal of Marine Science. 52: 575–581.

McMillan, J., Mahony, T., Veron, J.E.N., Miller, D.J., 1991. Nucleotide sequencing of highly repetetive DNA from seven species in the coral genus *Acropora* (Cnidaria: Scleractinia) implies a division contrary to morphological criteria. Marine Biology. 110: 323–327.

Dawson, M.N., Rascoff A.A., Jacobs, K.D., 1998. Molecular Marine Bilogy and biotechnology. 7(2), 145-151.

Daryanabard, R. and Dawson N.M., 2008. jellyfish blooms: *Crambionella orsini* (scyphozoa: Rhizostomeae) in the gulf of Oman, Iran, 2002-2003. marine biological association of the United kingdom.88: 477-483.

Kumar, S., Tamura, K., Nei, M., 1994. MEGA: molecular evolutionary genetics analysis software for microcomputers. Computer Applications in the Biosciences. 10:189–19

Jeanmougin, F., Thompson, J.D., Gouy, M., Higgins, D.G., Gibson, T.J., 1998. Multiple sequence alignment with Clustal X. Trends in Biochemical Sciences. 23: 403–405.

Harbison, G.R. 1985. On the classification and evolution of the Ctenophora. In: The Origins and Relationships of Lower Invertebrates (S. Conway Morris, J. D. George, R. Gibson and H.M. Platt, eds), pp. 78–100. Clarendon Press, Oxford.

Hyman, L.H., 1940. The Invertebrates, Vol. 1. Protozoa Through Ctenophora. McGraw-Hill, New York.

Brooks, W.K., 1886. Life history of the Hydromedusae. A discussion of the Medusae and of the significance of metagenesis. *Memoirs read before the Boston Society of Natural History*. 3, 359–43.

Gershwin, L. and Collins, A.G., 2002. A preliminary phylogeny of Pelagiidae (Cnidaria, Scyphozoa), with new observations of Chrysaora colorata. *Journal of Natural History* 36, 127–148.