

ریخت‌شناسی و تبارشناسی حلزون دریایی حبایی (*Haloa natalensis* (Krauss, 1848) (نرم‌تنان، شکم پایان) از سواحل شمالی خلیج فارس

یاسر فاطمی^۱، عدنان شهدادی^۱، حمیدرضا اسماعیلی^۲ و محمدرضا طاهری زاده^{۱*}

^۱ ایران، بندرعباس، دانشگاه هرمزگان، دانشکده علوم و فنون دریایی، گروه زیست‌شناسی دریا

^۲ ایران، شیراز، دانشگاه شیراز، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۸/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۲۷

چکیده

حلزون دریایی حبایی (*Haloa natalensis* (Krauss, 1848) از گونه‌های مهم جنس *Haloa* Pilsbry, 1921 بوده که پراکنش وسیعی در ناحیه‌ی هند و آرام غربی و همچنین خلیج فارس دارد. در پاییز سال ۹۸ جمعیت بزرگی از این گونه در ساحل بندرعباس مشاهده شد. تنها مطالعه قبلی در مورد این گونه در آب‌های منطقه فقط به اسم گونه اشاره کرده است و توصیفی از آن در آب‌های منطقه نیست. همچنین رده‌بندی این جنس و خانواده نیز اخیراً دستخوش تغییرات زیادی شده است. این مطالعه ضمن بررسی مولکولی آن براساس توالی ژن قطعه ۱ سیتوکروم اکسیداز، خصوصیات ریخت‌شناسی آن را نیز توصیف می‌کند. این مطالعه اولین گزارش از این گونه در آب‌های ایرانی خلیج فارس است.

واژه‌های کلیدی: تنوع زیستی، سواحل شنی، بندرعباس، ایران

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۷۳۶۷۱۲۹۳، پست الکترونیکی: taheri1965@gmail.com

مقدمه

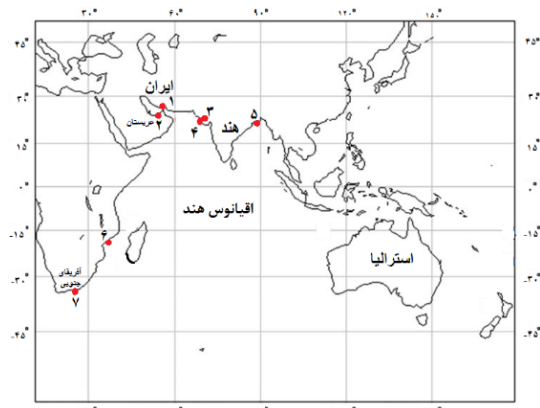
خانواده‌ی Haminoeidae Pilsbry, 1895 با ۱۱۵ گونه از اعضای مهم رده Cephalaspidea هستند که با داشتن پوسته‌ی تخم‌مرغی شکل و نیز داشتن سه سنگدان مضرس که برای تغذیه از جلبک‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد شناخته می‌شوند (۳ و ۷). سوهانک در آن‌ها دارای ردیف دندان‌های میانی و نیز دو دندان جانبی است. شماری از آن‌ها با محیط هم‌رنگ می‌شوند، بعضی در رسوبات دفن شده و شماری نیز رنگ‌آمیزی زیبایی دارند و بر روی سطح بستر زیست می‌کنند (۱، ۳، ۶، ۷ و ۸). بسیاری از جنس‌های این خانواده براساس ویژگی‌های پوسته و رنگ توصیف می‌شده‌اند که این موضوع باعث به وجود آمدن اشتباهات زیادی در رده‌بندی آن‌ها می‌شود. گونه‌های جنس *Haminoea* Turton & Kingston [in

Carrington], 1830 از خانواده Haminoeidae یک انشعاب سازشی (adaptive radiation) جهانی داشته و امروزه در مناطق بین جزر و مدی و در زیستگاه‌های جلبکی، مانگرو، سواحل گلی با غلف‌های دریایی و نیز مناطق مرجانی زیست می‌کنند (۷). اخیراً تک نیایی بودن این گروه مورد سؤال قرار گرفته و برای این گروه دو کلاد آتلانتیک - شرق آرام و کلاد هند- غرب آرام در نظر گرفته شد (۷). در پژوهش‌های اسکارس و همکاران در سال ۲۰۱۹ این موضوع مورد بررسی قرار گرفته است. پژوهش‌های آن‌ها بر اساس آنالیزهای مولکولی و نیز بررسی ویژگی‌های ریخت‌شناسی انجام شده است. آنها در نتیجه این تحقیق کلاد تک نیای آتلانتیک - شرق آرام را متعلق به جنس *Haminoea* در نظر گرفتند حال آنکه گونه‌های هند - آرام غربی را در پنج جنس جدا قرار

ریخت‌شناسی برای نمونه‌ی زنده، پوسته و سوهانک، با استفاده از داده‌های مولکولی، جایگاه تبارشناختی نمونه‌های ایرانی این گونه نیز بررسی شده است. در این مطالعه، این گونه برای اولین بار از ایران، آب‌های شمال خلیج فارس گزارش می‌شود.

مواد و روشها

تعداد ۱۰ نمونه از گونه‌ی مورد نظر در هنگام جزر کامل و در آذر و دی ۱۳۹۸ در سواحل شهر بندرعباس نمونه‌برداری شد. ابتدا از نمونه‌ها در محیط عکاسی شد. سپس جهت نگهداری طولانی مدت به اتانول ۹۶ درصد منتقل شدند. بافت‌های بدن یک نمونه از داخل صدف بیرون آورده شد و از صدف خالی عکس‌برداری شد. همه‌ی تصاویر با استفاده از دوربین دیجیتال مدل Nikon d7200 به ثبت رسیدند. جهت استخراج سوهانک از پتاسیم هیدروکسید ۴ درصد استفاده شد. از سوهانک نیز با استفاده از دوربین دیجیتال مدل Nikon d5500 متصل به میکروسکوپ نوری عکس‌برداری شد.



شکل ۱- نقشه‌ی مربوط به محل جمع‌آوری نمونه‌های *H.*

natalensis در مطالعه‌ی حاضر و نیز محل جمع‌آوری نمونه‌های استفاده شده از این گونه در درخت فیلوژنی. (۱) ایران - بندرعباس، (۲) امارات، (۳) هند - گجرات - Poshitra، (۴) هند - گجرات - Mandavi، (۵) هند - خلیج بنگال، (۶) موزامبیک، (۷) آفریقای جنوبی.

شناسایی نمونه‌ها براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی، با کمک تصاویر ثبت شده و نیز مشاهده در زیر لوپ و

دادند. این گروه بندی‌ها براساس ویژگی‌های مولکولی، ریخت‌شناسی و نیز نیازهای اکولوژیکی صورت گرفت بدین‌صورت که، گونه‌های گرمسیری و نیمه‌گرمسیری هند - آرام غربی در جنس *Haloa*، نمونه‌های رنگی ناحیه‌ی هند - آرام غربی در جنس *Lamprohaminoea Habe*, 1952، نمونه‌های جنگل‌های مانگرو در شرق هند و غرب آرام در *Bakawan, Oskars et al., 2019*، نمونه‌های آب‌های معتدله استرالیا در جنس *Papawera Oskars et al., 2019* و در نهایت نمونه‌های بسترهای سخت ناحیه‌ی هند-آرام غربی در جنس *Smaragdinella Adams, 1848* قرارداد شدند (۷ و ۸).

Haloa یکی از جنس‌های مهم خانواده‌ی Haminoeidae است که در منطقه هند - آرام غربی پراکنش گسترده‌ای دارد (۷ و ۸). گونه‌های این جنس‌ها گیاهخوار بوده و در مناطق کم عمق بخصوص ناحیه‌ی بین جزرومدی زیست می‌کنند. آن‌ها بیشتر بروی بسترهای گلی با پوشش جلبکی و گاهی نیز بسترهای صخره‌ای با پوشش جلبکی یافت می‌شوند. صدف در اعضای جنس *Haloa* بیضی تخم‌مرغی شکل، نازک، شکننده و شفاف است که بیشترین قطر را در قسمت‌های میانی دارد. قطر دهانه هم اندازه یا کمی بیشتر از ماریپیچ مخروطی است. سوهانک در این جنس ابزار مناسبی برای توصیف نیست چون همیشه یک ویژگی اختصاصی برای گونه‌ها نیست (۱، ۳، ۶، ۷ و ۸).

از جنس *Haloa* تاکنون ۲۸ گونه در ناحیه‌ی هند و آرام غربی معرفی شده است که سهم هند ۱۱ گونه و دریای سرخ ۳ گونه بوده است. گونه‌ی *H. natalensis Krauss*, 1848 نیز از گونه‌های همین جنس است که پراکنش آن را بسیار وسیع و در کل ناحیه‌ی هند - آرام غربی می‌دانند (۱ و ۳). این گونه از آب‌های امارات نیز گزارش شده است که متأسفانه اطلاعاتی در مورد محل دقیق جمع‌آوری نمونه‌ها و نیز توصیف یا عکس آن در دست نیست (۱ و ۳). در مطالعه حاضر ضمن تشریح ویژگی‌های

پس از بررسی کیفیت محصولات PCR بر روی ژل ۱/۵ درصد آگارز، نمونه‌هایی که مناسب تشخیص داده شدند، برای توالی‌یابی به شرکت توپاز ژن ارسال شدند.

توالی‌های خام دریافت شده با کمک نرم‌افزار Chromas Lite (v. 2.1.1) (Technelysium Pty Ltd, Queensland, Australia) ویرایش شده و پس از آن توالی‌های این گونه و گونه‌های مشابه از بانک جهانی ژن استخراج گردید (جدول ۱). همترازسازی توالی‌ها به کمک نرم‌افزار Bioedit صورت گرفت (۴ و ۵). برای ترسیم درخت، رسم شبکه هاپلوتایپی و نیز محاسبه فاصله ژنتیکی، سه مجموعه داده تهیه شد. برای رسم درخت فیلوژنی گونه‌ی جنس *Haloa* به عنوان برون گروه در نظر گرفته شد (۱). مجموعه داده‌ها با کمک نرم‌افزار AliView به فرمت PHYLIP برای ترسیم درخت، و با استفاده از وب‌سایت FaBox به فرمت Nexus جهت ترسیم شبکه هاپلوتایپی درآورده شد (۱۳). درخت‌های حداکثر احتمال در نرم‌افزار raxmlGUI با ۱۰۰۰ تکرار بوتسترپ و با استفاده از مدل GTR+G رسم گردید (۱۰ و ۱۱). تعیین مدل تکاملی (GTR+G) به کمک نرم‌افزار jModelTest (v. 2.1.4) انجام شد (۴). رسم شبکه به‌وسیله نرم‌افزار PopArt (۶) و نیز میانگین فاصله‌ی ژنتیکی بین ایستگاه‌ها با استفاده از نرم‌افزار Mega X محاسبه شد (۱۲).

نتایج

ویژگی‌های ریخت‌شناسی: با بررسی نمونه‌های جمع‌آوری شده از ساحل بندرعباس مشخص شد که، بدن به رنگ سبز مایل به قهوه‌ای تیره هست، البته در بعضی از نمونه‌ها پس‌زمینه‌ی قهوه‌ای غالب بر رنگ سبز است. شمار زیادی لکه‌ی سفید بر روی بدن قابل مشاهده است که هرچه به سمت انتهای بدن می‌رویم درشت‌تر، در قسمت جلوی بدن ریزتر و در قسمت مرتفع پوسته بسیار تنک و ریز هستند.

میکروسکوپ نوری انجام شد. از کلیدهای موجود برای شناسایی نمونه‌ها کمک گرفته شد (۱، ۳، ۶، ۷ و ۸).

با استفاده از روش محلول نمکی، DNA از دو فرد از نمونه‌های جمع‌آوری شده استخراج شد. برای استخراج DNA ۱۰ میلی‌گرم از بافت عضله در محلول لیزکننده (CLS: Qiagen, USA) و به مدت ۱۰ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. بافت در ساعات سوم یا چهارم به کمک میله‌های پلاستیکی له شدند. سپس به آن‌ها محلول رسوب‌دهنده‌ی پروتئین (PPS: Qiagen, USA) اضافه شد و پس از سانتریفیوژ، مایع رویی به اتانول ۹۶ درصد منتقل شدند. پس از حدود چهار ساعت که نمونه‌ها در دمای ۲۰- نگهداری شدند، نمونه‌ها سانتریفیوژ شده و مایع رویی دور ریخته شد و برای نگهداری طولانی مدت به رسوب DNA محلول TE اضافه شد. با کمک ژل الکتروفورز، نمونه‌هایی که به‌اندازه‌ی کافی DNA داشتند تعیین و برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز انتخاب شدند. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از آغازگرهای رفت LCO1490 با توالی نوکلئوتیدی ۵'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3' و برگشت HCO2198 با توالی نوکلئوتیدی ۵'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'

جهت تکثیر قطعه‌ای با طول حدود ۷۰۰ باز آلی از ژن سیتوکروم اکسیداز میتوکندریایی (COI) انجام گرفت (۲). واکنش در حجم ۲۵ میکرولیتر (شامل ۱۰ میکرولیتر آب، ۱۲ میکرولیتر مستر میکس (محصول شرکت توپاز ژن)، ۱ میکرولیتر از هر آغازگر و ۱ میکرومتر از DNA الگو) انجام گرفت. برنامه‌های سیکل حرارتی شامل ۳۵ سیکل و به ترتیب زیر انجام گرفت: واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه، به مدت ۵ دقیقه، واسرشت سازی‌های دوره‌ای در دمای ۹۴ درجه به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال در دمای ۴۸ درجه به مدت ۴۵ ثانیه، تکثیر قطعه در دمای ۷۲ درجه به مدت ۱ دقیقه و تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه به مدت ۵ دقیقه.

جدول ۱ - لیست گونه‌های استفاده شده در درخت فیلوژنی مطالعه‌ی حاضر، به همراه موقعیت مکانی و شماره‌ی دسترسی آنها در بانک جهانی ژن (NCBI)

نام گونه	مکان	شماره‌ی دسترسی در بانک جهانی ژن
<i>Haloa natalensis</i>	ایران - بندرعباس ۱	MW407990
<i>H. natalensis</i>	ایران - بندرعباس ۲	MW407989
<i>H. natalensis</i>	امارات	KF615826
<i>H. natalensis</i>	هند - گجرات ۱	MH638598
<i>H. natalensis</i>	هند - گجرات ۲	MH638592
<i>H. natalensis</i>	هند - گجرات ۳	MH638607
<i>H. natalensis</i>	هند - گجرات ۴	MH638608
<i>H. natalensis</i>	هند - گجرات ۵	MH638596
<i>H. natalensis</i>	هند - خلیج بنگال	MH638602
<i>H. natalensis</i>	موزامبیک	MK473512
<i>H. natalensis</i>	آفریقای جنوبی	KF615825
<i>H. aptei</i>	هند - جزیره اندامان	MH638604
<i>H. aptei</i>	هند - Lakshadweep	MH638590
<i>H. japonica</i>	دریای مدیترانه ۱	KF615824
<i>H. japonica</i>	دریای مدیترانه ۲	KF615823
<i>H. cymbalum</i>	فیلیپین	DQ974675
<i>H. cymbalum</i>	اندونزی	KF615842
<i>Haminoea alfredensis</i>	آفریقای جنوبی ۱	KF615814
<i>H. alfredensis</i>	آفریقای جنوبی ۲	KF615816
<i>Atys jeffreysi</i>	مالت	KX523206

بعضی مناطق قلوه‌سنگ پوشش اصلی زیستگاه را تشکیل داده است (شکل ۲).

بررسی‌های مولکولی: دو توالی نمونه‌های ایرانی پس از ویرایش دارای ۵۵۶ باز آلی بودند (شماره دسترسی بانک ژن در جدول ۱) و پس از ترجمه در Mega کدون پایانی در آنها یافت نشد. مجموعه توالی‌هایی که برای محاسبه فاصله ژنتیکی (K2P) استفاده شد دارای ۵۵۶ باز آلی بودند. در این بررسی مشخص شد که هاپلوتایپ ایران کمترین اختلاف را به ترتیب با هاپلوتایپ‌های گجرات و خلیج بنگال، و بیشترین اختلاف را با هاپلوتایپ‌های موزامبیک و آفریقای جنوبی دارند. در بین تمامی هاپلوتایپ‌ها، اختلاف هاپلوتایپ‌های موزامبیک و آفریقای

شمار زیادی لکه‌های سیاه بر روی پوسته دیده می‌شود که در قسمت انتهایی آن درشت‌تر و در قسمت‌های جلویی و میانی ریزتر هستند. قسمت پوزه‌ای دولبی، چشم‌ها به‌صورت لکه‌ی سیاهی قابل مشاهده‌اند که ناحیه‌ی جلوی چشم‌ها بدون هر گونه لکه‌ای است. پوسته تخم‌مرغی است و به رنگ قهوه‌ای مایل به سبز و شفاف دیده می‌شود. ناحیه‌ی periostracum شفاف‌تر و نازک‌تر است، لبه‌های columellar نازک و براق، قسمت پینه‌ای ناحیه‌ی columellar پهن، لبه‌ی خارجی گرد و تا بعد قسمت apex کشیده شده است (شکل ۱). زیستگاه نمونه‌ها در سواحل شهر بندرعباس در شمال خلیج فارس جمع‌آوری شدند. این سواحل شنی-گلی، تقریباً پناهگاهی با فعالیت کم امواج و همراه با پوشش جلبک‌های رشته‌ای بودند. در

های موزامبیک و آفریقای جنوبی با ۳/۶ درصد اختلاف، بیشترین فاصله ژنتیکی را با هم داشتند (جدول ۲).

جنوبی، با صفر درصد اختلاف ژنتیکی، نزدیکترین هاپلوتایپ‌ها به همدیگر و هاپلوتایپ ایران و هاپلوتایپ-

جدول ۲- میانگین فاصله ژنتیکی (K2P) بین محل‌های مورد مطالعه در گونه *H. natalensis*

		۱	۲	۳	۴	۵
۱	خلیج فارس (ایران)					
۲	خلیج فارس (امارات)	۰/۰۱۳				
۳	هند (گجرات)	۰/۰۰۸	۰/۰۱۰			
۴	هند (خلیج بنگال)	۰/۰۱۰	۰/۰۱۱	۰/۰۰۶		
۵	موزامبیک	۰/۰۳۶	۰/۰۳۲	۰/۰۳۲	۰/۰۳۲	
۶	آفریقای جنوبی	۰/۰۳۶	۰/۰۳۲	۰/۰۳۲	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰

مشخص ژنتیکی وجود دارد: یک گروه در شرق آفریقا (شامل هاپلوتایپ‌های آفریقای جنوبی و موزامبیک) و گروه دیگر مربوط به جمعیت‌های هند (گجرات)، خلیج بنگال و خلیج فارس (شامل ۷ هاپلوتایپ) می‌باشد. همان‌طور که در شکل ۳ نیز مشخص است خلیج فارس دارای دو هاپلوتایپ (شامل هاپلوتایپ ایران و هاپلوتایپ امارات)، گجرات دارای ۴ هاپلوتایپ، خلیج بنگال، موزامبیک و آفریقای جنوبی نیز هرکدام دارای یک هاپلوتایپ است. هاپلوتایپ ایرانی خلیج فارس ۲ تا ۶ جهش، با هاپلوتایپ‌های گجرات و ۷ جهش با هاپلوتایپ امارات فاصله دارد. هاپلوتایپ‌های جنوب آفریقا شامل موزامبیک و آفریقای جنوبی ۱۴ تا ۱۷ جهش از هاپلوتایپ‌های خلیج فارس و هند فاصله دارند.

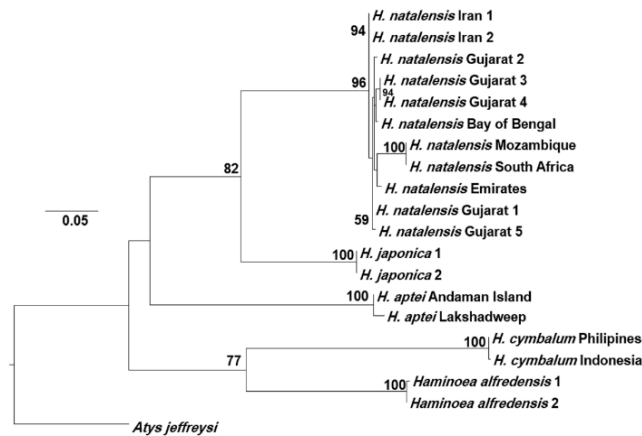
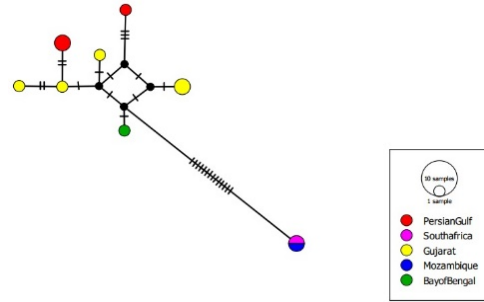
مجموعه توالی‌های مورد استفاده برپا رسم درخت فیلوژنی دارای حداکثر ۶۸۲ و حداقل ۵۵۶ باز آلی بودند. در درخت حداکثر احتمال همه نمونه‌های *H. natalensis* یک کلاد را تشکیل داده که نمونه‌های ایرانی نیز در این کلاد در بین دیگر نمونه‌ها قرار گرفتند. کلاد *H. japonica* کلاد خواهری *H. natalensis* را تشکیل می‌دهد و این دو گونه (دو کلاد) در زیر یک خوشه با ۸۲ درصد حمایت بوتسترپ قرار گرفتند. (شکل ۳).



شکل ۲- الف، پ، ت: نمونه‌ی زنده *H. natalensis*؛ ب: تخم‌های *H. natalensis* بر روی بستر، ث: تصویر پوسته‌ی از سه زاویه دهانه‌ی پوسته، قسمت پشتی و قسمت جلویی (مقیاس اندازه گیری ۱ سانتیمتر)، ج: بستر محل زیست نمونه‌ها.

مجموعه توالی مورد استفاده برای رسم شبکه هاپلوتایپی دارای ۵۵۶ باز آلی بودند. نتایج حاصل از ترسیم شبکه هاپلوتایپی نیز تقریباً با نتایج جدول فاصله ژنتیکی همخوانی دارد. به‌صورت کلی با ترسیم شبکه هاپلوتایپی مشخص شد که برای گونه‌ی *H. natalensis* دو گروه

شکل ۳- شبکه هاپلوتایپی ۵۴۸ باز آلی ژن COI برای نمونه‌های گونه‌ی *H. natalensis* ترسیم‌شده در PopArt هر خط هاشور نمایانگر یک جهش هست.



شکل ۴- درخت فیلوژنی حداکثر احتمال (ML) براساس توالی نوکلئوتیدی ژن میتوکندریایی سیتوکروم اکسیداز (COI) برای گونه *H. natalensis* و سایر گونه‌های خویشاوند، به کمک نرم‌افزار raxmlGUI با ۱۰۰۰ تکرار بوتسترپ. برای توالی‌های مطالعه حاضر و ۱۸ توالی مقایسه‌ی از بانک جهانی ژن (NCBI) استخراج شده (شماره ثبت در درخت قابل مشاهده است). *R. jeffreysi* به‌عنوان برون گروه. اعداد حمایتی بوتسترپ ۵۰ به بالا نشان داده شده‌اند.

بحث و نتیجه‌گیری

Haminoea با داشتن ۱۱۵ گونه از زیرمجموعه‌های مهم این زیررده را تشکیل می‌دهند و که مشخصه‌ی اصلی آن‌ها صدف تخم‌مرغی شکل نازک و وجود سه سنگدان برای تغذیه از جلبک‌ها می‌باشند. جنس *Haloa* که محدود به ناحیه‌ی هند-آرام غربی هست با داشتن ۱۲ گونه در اقیانوس هند از مهم‌ترین اعضای این خانواده است و با داشتن جمعیت مای بالا، نقش مهمی را در اکوسیستم مای ساحلی این مناطق ایفا می‌کند (۱، ۳، ۶، ۷ و ۸).

حلزون دریایی حبابی *Haloa natalensis* یکی از گونه‌های مهم این جنس است که پراکنش بالایی در منطقه هند-آرام غربی دارد (۱) و به واسطه‌ی لکه‌های سیاه و سفید و رنگ متمایل به سبز بدن، پوسته‌ی شفاف‌ی که اندام مای بدن به

اقیانوس هند و به تبع آن دریای عمان و خلیج فارس میزبان مهم گونه‌های رده‌ی Cephalaspidea هستند و تاکنون مطالعات جامع خوبی بر روی آن‌ها صورت گرفته است و گونه‌هایی چون *H. aptei* نیز از این مناطق توصیف شده اند (۱ و ۳). رده‌ی Cephalaspidea گروه مهمی از بالا رده عقب آبششان (Opisthobranchia) هستند که با داشتن حدود ۷۸۰ گونه و با ویژگی‌هایی چون داشتن پوسته‌ی شفاف، صدف داخلی و یا کلاً بدن صدف، شناخته می‌شوند. آن‌ها عموماً بوسطه سپر سری، یا بافتی گوشتی که قسمت سر را می‌پوشاند شناخته می‌شوند. آن‌ها تتاکل دهانی و رینوفور ندارند. از این میان گونه‌های خانواده‌ی

در مطالعه‌ای که اخیراً بر روی گونه‌های این جنس در هند انجام شده است ۲۷ گونه برای هند و شمال غرب اقیانوس هند برشمرده شده است که سهم هند ۱۱ گونه و دریای سرخ ۳ گونه و خلیج فارس یک گونه است (۱). همچنین گونه‌ی *H. aptei* نیز به عنوان گونه جدید از گجرات هند توصیف شده است.

مطابق با مطالعه‌ی حاضر، در مطالعه بهارات و همکاران در سال ۲۰۱۸ نیز گونه‌ی *H. japonica* در کلاد خواهری *H. natalensis* قرارگرفت (۱). همچنین در مطالعه‌ی حاضر نمونه‌ی امارات و نمونه‌های آفریقایی در یک کلاد مشترک، هرچند حمایت نشده، قرارگرفت که این نیز مطابق با مطالعه‌ی بهارات و همکاران در سال ۲۰۱۸ بود.

در مطالعه‌ی اسکارس و همکاران در سال ۲۰۱۹ که *H. natalensis* به جنس *Haloa* منتقل شد این جنس یک گروه تک‌نیایی را تشکیل داده که در کلاد خواهری جنس *Bakawan* قرارگرفته است. در مطالعه‌ی آن‌ها نمونه‌ی امارات *H. natalensis* در کلاد خواهری نمونه‌های هند قرارگرفته است که مطابق با آرایش هاپلوتایپ‌ها (شکل ۴) در مطالعه حاضر است.

در مطالعه‌ی اسکارس و همکاران در سال ۲۰۱۹ کلاد جنوب آفریقا جدای از کلاد هند و خلیج فارس قرارگرفت. در این مطالعه نیز نمونه‌های آفریقایی تا حدودی از سایر نمونه‌ها (هند و خلیج فارس) جدا افتاده، اما نه به صورت دو کلاد مجزا (شکل ۴). بلکه دو نمونه آفریقایی در مطالعه حاضر در یک کلاد ولی در میان سایر نمونه‌ها قرارگرفتند. به هر حال استفاده از نمونه‌های بیشتر و نشانگرهای بیشتر و دقیق‌تر در مقیاس درون گونه‌ای ممکن است وضعیت فیلوژنی و فیلوجغرافیای درون گونه‌ای را برای *H. natalensis* مشخص‌تر کند.

در مطالعه‌ی گوسلینر و همکاران در سال ۲۰۱۸ یک نمونه ناشناخته از این جنس در آب‌های عربستان سعودی

راحتی در درون آن قابل مشاهده هستند، از گونه‌های نزدیک خود مثل *H. japonica* تفکیک می‌شود. پراکنش این گونه در منطقه شمال غرب اقیانوس هند نیز می‌رسد و گزارش‌ها مستندی نیز از حضور آن در قسمت‌های جنوبی خلیج فارس (امارات) موجود است (۱ و ۳). متأسفانه همچون اغلب دیگر شکم‌پایان حوزه‌ی خلیج فارس، این گزارش‌ها اغلب فقط به اسم نمونه اکتفا کرده و هیچ‌گونه توصیفی برای نمونه‌ها و یا عکسی از آن‌ها در دست نیست. نمونه‌های مورد مطالعه در این تحقیق به دلیل داشتن ویژگی‌هایی چون رنگ سبز تیره، وجود لکه‌های سفید و سیاه زیاد در قسمت پشتی بدن، پوسته‌ی نازک، تخم‌مرغی و شفاف آن، قابل مشاهده بودن دو چشم به صورت نقاط سیاه تقریباً ریزی که قسمت جلوی آن‌ها فاقد لکه است، *H. natalensis* شناسایی شد. بررسی‌های مولکولی (درخت فیلوژنی، ترسیم شبکه‌ی هاپلوتایپی و همچنین تهیه‌ی جدول فاصله ژنتیکی) نیز انتساب نمونه‌های ایرانی به گونه *H. natalensis* را تایید کرد.

پس از اندازه‌گیری میزان اختلاف ژنتیکی بین هاپلوتایپ‌های این گونه، مشخص شد که هاپلوتایپ ایران، کمترین فاصله را با هاپلوتایپ‌های گجرات و بیشترین فاصله را با هاپلوتایپ‌های موزامبیک و آفریقای جنوبی داشتند (جدول ۲). در شبکه‌ی هاپلوتایپی ترسیم شده نیز ما شاهد تشکیل دو گروه ژنتیکی یکی در جنوب آفریقا و دیگری در شمال اقیانوس هند و خلیج فارس بودیم. نمونه‌های خلیج فارس که شامل دو تا هاپلوتایپ می‌شوند (یکی هاپلوتایپ ایران و دیگری هاپلوتایپ امارات) نزدیک به نمونه‌های هند هستند (شکل ۳) که این نشان می‌دهد که به احتمال زیاد جمعیت‌های این گونه در خلیج فارس از ناحیه‌ی هند منشأ گرفته است. وجود تعداد بالای هاپلوتایپ با توجه به تعداد کم نمونه‌های بررسی شده نشان از تنوع ژنتیکی بالای این گونه در شمال اقیانوس هند دارد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از سرکار خانم طهیرا هاشمی مسئول آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه هرمزگان و همچنین آقای موسی فاطمی به جهت همکاری‌های صمیمانه‌شان در طول تحقیق، کمال تشکر را دارند.

گزارش شده است که نیاز است نسبت به شناسایی آن و نیز حضور احتمالی آن در آب‌های ایران اقدام کرد.

در مطالعه‌ی حاضر جمعیت زیادی از این گونه در آب‌های بندرعباس مشاهده شد که نیاز است نسبت به مطالعه‌ی آن‌ها و نقش آن‌ها در زیست‌بوم‌های ساحلی اقدام شود.

منابع

- 1- Bharate, M., Padula, V., Apte, D., and Shimpi, G. G., 2010. Integrative description of two new *Cratena* species (Mollusca: Nudibranchia) from western India. *Zootaxa*, Vol, 4729(3), PP: 359–370.
- 2- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., and Vrijenhoek, R., 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates, *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, Vol, 3, PP: 294–299.
- 3- Gosliner, T. M., Valdes, A., and Behrens, D. W., 2018. *Nudibranch & Sea Slug Identification Indo-Pacific*, 2nd Ed. New World Publications, California, 451 p.
- 4- Guindon, S., and Gascuel, O., 2003. A simple, fast and accurate method to estimate large phylogenies by maximum-likelihood, *Systematic Biology*, 52, PP: 696–704. <https://doi.org/10.1080/10635150390235520>.
- 5- Hall, T. A., 1999. BioEdit, a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, Vol, 41, PP: 95–98.
- 6- Leigh, J. W., and Bryant, D., 2015. PopART, Full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution*, Vol, 6, PP: 1110–1116.
- 7- Oskars, T. R., Bouchet, P., and Malaquias M. A. E., 2015. A new phylogeny of the Cephalaspidea (Gastropoda: Heterobranchia) based on expanded taxon sampling and gene markers, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, Vol, 89, PP: 130–150.
- 8- Oskars, T. R., and Malaquias, M. A. E., 2019. A molecular phylogeny of the Indo-West Pacific species of *Haloa sensu lato* gastropods (Cephalaspidea: Haminoeidae): Tethyan vicariance, generic diversity, and ecological specialization, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, Vol, 139, PP: 1-21.
- 9- Oskars, T. R., Too, C. C., Rees, D., Mikkelsen, P. M., Willassen, E., and Malaquias M. A. E., 2019. A molecular phylogeny of the gastropod family Haminoeidae sensu lato (Heterobranchia: Cephalaspidea), a generic revision, *Invertebrate Systematics*, Vol, 33, PP: 426–472.
- 10- Rodriguez, F. J., Oliver, J. L., Marin, A., and Medina, J. R., 1990. The general stochastic model of nucleotide substitution, *Journal of Theoretical Biology*. 142, 485e501 p.
- 11- Silvestro, D., and Michalak, I., 2012. RaxML GUI: a graphical front-end for RAXML, *Organisms Diversity and Evolution*, Vol, 12, PP: 335–337.
- 12- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., and Kumar, S., 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony method. *Molecular Biology and Evolution*, Vol, 28, PP: 2731–2739.
- 13- Villesen, P., 2007. FaBox: an online toolbox for Fasta sequences, *Molecular Ecology Notes*, 7, PP: 965–968.

Morphology and phylogeny of the Bubble snail *Haloa natalensis* (Krauss, 1848) (Mollusca, Gastropoda) from the northern coast of the Persian Gulf

Fatemi Y.,¹ Shahdadi A.,¹ Esmaceli H.R.² and Taherizadeh M.R.¹

¹ Dept. of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, I.R. of Iran.

² Dept. of Biology, School of Science, Shiraz University, Shiraz, I.R. of Iran.

Abstract

Haloa natalensis (Krauss, 1848), one of the most important species of the genus *Haloa* Pilsbry, 1921, is widely distributed throughout the Indo-Pacific region. Populations of this species was observed in November 2019 in the coastal waters of Bandar Abbas, Iran. There is no description and illustration for this species from the area, except a name record in the previous study. Moreover, this genus has experienced a taxonomic re-arrangement based on new phylogenetic analyses. In this study, we examined the collected individuals and their morphological features as well as their habitat, were described and their phylogenetic position within species was addressed using the mitochondrial CO1 sequences. This is the first report of this species in the northern part of the Persian Gulf and also for the Iranian waters.

Key words: Biodiversity, sandy coasts, Bandar Abbas, Iran.