



<https://tbj.ui.ac.ir/?lang=en>

**Taxonomy and Biosystematics**

E-ISSN: 2322-2190

Document Type: Research Paper

Vol. 14, Issue 2, No.51, (2022), P: 11-12

Received:05/07/2022 Accepted: 07/11/2022

## Phylogenetic Position of the Barnacle *Chelonibia testudinaria* Linnaeus, 1758 from the Persian Gulf

**Nooshin Ospid**

MSc Student, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran  
oospid2020@gmail.com

**Yaser Fatemi**

Ph. D. Graduate of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran  
y.fatemi@gmail.com

**Mohammad Sharif Ranjbar**

Associate Professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran  
sharif.ranjbar@gmail.com

**Adnan Shahdadi \***

Associate Professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran  
adnan@hormozgan.ac.ir

### Abstract

*Chelonibia testudinaria*, a globally widespread epibiont barnacle, has been the subject of previous phylogenetic studies which revealed that specimens of this species fall into three separate clades. One clade includes specimens from the Eastern Pacific, another encompasses specimens from the West and East Atlantic, and the third contains specimens from the Western Pacific and Southeast Asia. The current study aimed to investigate the phylogenetic position of *C. testudinaria* specimens from the Persian Gulf using the mitochondrial COX1 gene. The results indicated that specimens from the Persian Gulf clustered with those from Southeast Asia, including Taiwan, Malaysia, Singapore, and Japan, in a well-supported clade. This finding suggests that the widespread distribution of this species in the Indo-West Pacific may have been facilitated by sea turtles.

**Key words:** Bandar Abbas, Molecular Phylogeny, COX1, *Chelonibia testudinaria*, *Portunus segnis*.

### Introduction

The Indo-West Pacific region is renowned for its high marine biodiversity (Roberts et al., 2002; Wafar et al., 2011). Landmasses such as the Malay Peninsula and Sumatra Island have divided this oceanic region into

\*Corresponding author

Ospid, N., Fatemi, Y., Ranjbar, M. SH. & Shahdadi, A. (2021). Phylogenetic Position of the Barnacle *Chelonibia testudinaria* Linnaeus, 1758 from the Persian Gulf. *Taxonomy and Biosystematics*, 14(2), 69-76.

2322-2190 / © 2022

This is an open access article under the BY-NC-ND/4.0/ License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).



<http://dx.doi.org/10.22108/TBJ.2022.134207.1205>



<https://dorl.net/dor/20.1001.1.20088906.1401.14.51.5.6>

two areas: east and west. Phylogenetic studies on species complexes (e.g., [Ragionieri et al., 2009](#); [Lai et al., 2010](#); [Bowen et al., 2016](#)) have confirmed genetic isolation between the two sides of these land barriers in the Indo-West Pacific. *Chelonibia testudinaria* Linnaeus, 1758, a globally widespread epibiont barnacle, is found attached to the carapaces of crabs and sea turtles ([Rawson et al., 2003](#)). Previous phylogenetic studies have shown that specimens of this species fall into three separate clades: one with specimens from the Eastern Pacific, another including specimens from the West and East Atlantic, and a third with specimens from the Western Pacific and Southeast Asia ([Cheang et al., 2013](#)). This species is also common in the Persian Gulf and the Gulf of Oman ([Shahdadi et al., 2014](#)). Consequently, this study aimed to investigate the phylogenetic position of *C. testudinaria* from the Persian Gulf using a mitochondrial marker.

### Materials and Methods

Specimens of the swimming crab, *Portunus segnis*, were collected by a local fisherman from the coastal area of Bandar Abbas in the Persian Gulf, Iran. *C. testudinaria* specimens were removed from the carapaces of two crabs and preserved in 96% ethanol. Genomic DNA was isolated using the Puregene method. A fragment of the mitochondrial protein-coding gene cytochrome c oxidase subunit 1 (COX1) was amplified by polymerase chain reactions (PCRs). To amplify a 670 bp segment of the COX1 gene, corresponding to the commonly used barcoding region, the Folmer primers LCO1490 and HCO2198 ([Folmer, 1994](#)) were utilized. In addition to the sequences from the Persian Gulf specimens, homologous sequences of this species from GenBank (NCBI) were also included in the phylogenetic analyses. *Chelonibia caretta* was used as an outgroup for this analysis. Phylogenetic tree reconstruction was performed using a Maximum Likelihood (ML) algorithm with the software raxmlGUI ([Silvestro & Michalak, 2012](#)).

### Results and Conclusion

In total, 58 sequences of *C. testudinaria* were analyzed in this phylogenetic study. Nine sequences were obtained from the Persian Gulf, while the remaining were sourced from GenBank and originated from various regions. In line with previous studies ([Rawson et al., 2009](#); [Cheang et al., 2013](#)), the ML tree identified three distinct clades for *C. testudinaria* globally: the Eastern Pacific clade, the Atlantic clade (including western and Mediterranean sequences), and the West Pacific clade (encompassing sequences from Southeast Asia). The results showed that specimens from the Persian Gulf clustered with those from Southeast Asia, including Taiwan, Malaysia, Singapore, and Japan, in a well-supported clade. The widespread distribution of this species in the Indo-West Pacific region appears to have been facilitated by sea turtles.

## تبارزایی جمعیت گونه کشتی چسب *Chelonibia testudinaria* Linnaeus 1758 از خلیج فارس

نوشین اوسپید، دانشجوی کارشناسی ارشد زیست دریا، گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندر عباس، ایران

oospid2020@gmail.com

یاسر فاطمی، دانش آموخته دکتری زیست دریا، گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندر عباس، ایران

y.fatemi@gmail.com

محمدشریف رنجبر، دانشیار، گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندر عباس، ایران

sharif.ranjbar@gmail.com

عدنان شهدادی\*، استادیار، گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندر عباس، ایران

adnan@hormozgan.ac.ir

### چکیده

کشتی چسب گونه *Chelonibia testudinaria* Linnaeus روی سپر پشتی خرچنگ و لاک‌پشت‌های دریایی می‌چسبد و گونه‌ای با پراکنش جهانی شناخته می‌شود. براساس مطالعات تبارزادی و جغرافیای زیستی، اعضای این گونه در سه تبار مجزا قرار می‌گیرند. این تبارها شامل تبار نمونه‌های شرق اقیانوس آرام، تبار نمونه‌های اطلس و تبار مربوط به نمونه‌های غرب اقیانوس آرام و آسیای جنوب شرقی است؛ همچنین این گونه در خلیج فارس و دریای عمان پراکنش زیادی دارد و چندبار از این نواحی گزارش شده است. در مطالعه حاضر، جایگاه تبارزایی نمونه‌های جمع‌آوری شده از خلیج فارس در درخت تبارزایی جهانی این گونه با استفاده از ژن میتو کندریایی COX1 تعیین شده است. برای مقایسه، علاوه بر تعیین توالی نمونه‌های خلیج فارس، توالی‌های مشابه از بانک ژن نیز دریافت و در تحلیل‌های تبارزادی استفاده شد. نتایج حاصل نشان می‌دهد نمونه‌های خلیج فارس به همراه نمونه‌های آسیای جنوب شرقی از تایوان، مالزی، سنگاپور و همچنین ژاپن در یک تبار حمایت شده قرار می‌گیرند. به نظر می‌رسد پراکنش وسیع این گونه در منطقه هند - آرام غربی به کمک لاک‌پشت‌های دریایی تسهیل شده باشد.

واژه‌های کلیدی: بندرعباس، تبارشناسی مولکولی، COX1، *Chelonibia testudinaria*، *Portunus segnis*

### مقدمه

زیستی جانوران دریایی است (Porter, 1989;

Hellberg, 2009; Woodruff, 2010)؛ اما موجودات

مختلف ساکن یک منطقه به دلیل سبک‌های متفاوت

زندگی و تفاوت در قدرت پراکنش، الگوهای متنوعی

تحولات تاریخی زمین‌شناختی مانند یخبندان‌ها و

رژیم‌های هیدروگرافی مثل جریان‌های اقیانوسی از جمله

عوامل مهم در شکل‌دهی الگوی تبارزادی و جغرافیای

\* مسئول مکاتبات

اوسپید، نوشین، فاطمی، یاسر، رنجبر، محمدشریف و شهدادی، عدنان. (۱۴۰۱). تبارزایی جمعیت گونه کشتی چسب *Chelonibia testudinaria* Linnaeus 1758 از خلیج فارس. تاکسونومی و بیوسستماتیک، ۱۴(۵۱)، ۶۹-۷۶.



می‌چسبد؛ تا اینکه مطالعه‌ای مولکولی نشان داد نمونه‌های روی بسترهای مختلف از جمله لاک پشت‌ها (*C. testudinaria*) و خرچنگ‌ها (*C. patula*) در واقع هم گونه‌هایی مشابه با تفاوت ناچیز ریختی هستند (Cheang et al., 2013). مطالعات فیلوژغرافیایی مولکولی نشان داده است نمونه‌های این گونه در سه تبار متمایز مربوط به سه حوزه مختلف اقیانوسی (اطلس، آرام شرقی و آرام غربی) قرار می‌گیرند (Rawson et al., 2003). این مطالعات نشان داد نمونه‌های غرب اقیانوس اطلس (نمونه‌های سواحل شرقی آمریکا) و شرق اطلس (نمونه‌های مدیترانه) در یک تبار و نمونه‌های غرب آرام از ژاپن تا سنگاپور نیز در یک تبار قرار می‌گیرند (Cheang et al., 2013). شایان ذکر است که این گونه از گونه‌های رایج در خلیج فارس و دریای عمان است؛ همچنین در مطالعات مختلف و از بسترهای متفاوت گزارش شده است (Shahdadi et al., 2014). در سال‌های اخیر مطالعات مولکولی متعددی برای تعیین هویت و بررسی جایگاه تبارزادی گونه‌های جانوری ایران انجام شده است (Sheikhalikalayeh & Ghasempouri, 2021; Shahdadi & Ghanbarifardi, 2021). مطالعه حاضر نیز در نظر دارد با استفاده از نشانگر مولکولی ناحیه بارکد ژن میتوکندریایی سیتوکروم اکسیداز ۱ (COX1)، جایگاه تبارزادی نمونه‌های خلیج فارس را در بین نمونه‌های مناطق مختلف جهان نشان دهد.

### مواد و روش‌ها

تعداد ۱۰ نمونه کشتی‌چسب *C. testudinaria* از روی سپر پستی دو نمونه خرچنگ *Portunus segnis* (Forscal, 1775) (شکل ۱) برداشته و در اتانول ۹۶

نشان می‌دهند (Grosberg & Cunningham, 2001; Bowen et al., 2013). خلیج فارس که دریایی نیمه‌بسته در شمال غرب منطقه اقیانوسی هند - آرام غربی شناخته می‌شود، به‌ظاهر به دلیل عمق کم، در دوره‌های یخبندان به‌طور تقریبی خشک و خالی از سکنه بوده است (Barth & Khan, 2008)؛ بنابراین به نظر می‌رسد اغلب ساکنین این خلیج بعد از یخبندان اخیر از آب‌های اطراف مثل دریای عمان و دریای عربی منشأ گرفته باشند (Sheppard et al., 2010). ناحیه هند - آرام غربی یکی از متنوع‌ترین مناطق اقیانوسی از نظر تنوع زیستی شناخته می‌شود (Roberts et al., 2002; Wafar et al., 2011). وجود خشکی‌های ممتد مثل شبه جزیره مالایا و در امتداد آن جزایر سوماترا و جاوا این منطقه اقیانوسی را به دو بخش شرقی و غربی تقسیم کرده است. مطالعات مقایسه‌ای جغرافیای زیستی و بررسی فیلوژغرافیایی کمپلکس‌های گونه‌ای با کمک نشانگرهای مولکولی نیز این جدایی را تأیید می‌کند (Bowen et al., 2016)؛ برای مثال مطالعات فیلوژغرافیایی مولکولی روی خرچنگ‌های دو کمپلکس گونه‌ای *Portunus pelagicus* (Linnaeus, 1758) و *Neosarmatium meinerti* (De Man, 1887) که یکی نمونه شناگر و دیگری ساکن جنگل‌های حرا است، وجود گونه‌های متفاوت در دو طرف این مرز اقیانوسی را نشان می‌دهد (Ragionieri et al., 2009; Lai et al., 2010).

کشتی‌چسب *Chelonibia testudinaria* (Linnaeus, 1758) گونه‌ای است که روی بدن سایر جانوران می‌چسبد و پراکنش جهانی دارد (Rawson et al., 2003). برای چندین سال این گونه را دارای میزبان اختصاصی می‌دانستند که فقط روی بدن لاک پشت‌ها

میکرولیتر از هر آغازگر و یک میکرولیتر از DNA الگو) انجام شد. برنامه‌های سیکل حرارتی شامل ۳۵ سیکل و به ترتیب زیر انجام شد: واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه، واسرشت‌سازی‌های دوره‌ای در دمای ۹۴ درجه سانتی-گراد به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال در دمای ۴۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، تکثیر قطعه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه. پس از بررسی کیفیت محصولات PCR روی ژل ۱/۵ درصد آگارز، نمونه‌هایی که مناسب تشخیص داده شد، برای توالی‌یابی به شرکت نیاژن نور (تهران) ارسال شد.

پس از دریافت توالی‌ها، ویرایش توالی‌های خام اولیه با کمک نرم‌افزار Chromas صورت گرفت؛ سپس توالی‌های این گونه از مناطق مختلف (از هر سه تبار مطالعات قبلی (Cheang et al., 2013)) از بانک ژن (NCBI) استخراج شد. دو توالی از گونه *Chelonibia caretta* (Spengler, 1790) استفاده در جایگاه برون‌گروه از بانک ژن استخراج شد. به کمک نرم‌افزار Bioedit هم‌ترازسازی توالی‌ها صورت گرفت (Hall, 1999). برای ترسیم درخت، داده با کمک نرم‌افزار AliView به فرمت PHYLIP تبدیل شد. درخت حداکثر احتمال در نرم‌افزار raxmlGUI با ۱۰۰۰ تکرار بوتسترپ و با استفاده از مدل GTR+G رسم شد (Rodriguez et al., 1990; Silvestro & Michalak, 2012).

درصد نگهداری شد. نمونه‌های خرچنگ از آب‌های بین بندرعباس و قشم صید شد و در زمان برداشتن، نمونه‌های بارناکل زنده بود.

استخراج DNA به روش محلول نمک و از بافت پاهای رشته‌ای انجام شد. پاهای رشته‌ای در ۲۰۰ میکرولیتر محلول لیزکننده سلول قرار داده شد؛ سپس ضمن له کردن و هم‌زدن مداوم، محلول حدود ۲۰ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در مرحله بعد، ۷۰ میکرولیتر از محلول رسوب‌دهنده پروتئین به آن اضافه شد؛ پس از آن به خوبی هم زده و سپس سرد شد. پس از سانتریفیوژ، مایع رویی به ۵۱۰ میکرولیتر الکل مطلق اضافه شد و در طول شب در فریزر قرار گرفت؛ سپس با استفاده از سانتریفیوژ یخچال‌دار به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۱۴۰۰۰، سانتریفیوژ و مایع رویی دور ریخته شد؛ سپس به رسوب کف لوله‌ها ۲۵ میکرولیتر محلول بافر TE اضافه شد. پس از بررسی نمونه‌ها به کمک ژل آگاروز و اشعه ماوراءبنفش، نمونه‌های مناسب برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز جدا شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از آغازگرهای رفت LCO1490 با توالی نوکلئوتیدی 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3' و برگشت HCO2198 با توالی نوکلئوتیدی 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAAATCA-3' برای تکثیر قطعه‌ای با طول حدود ۷۰۰ باز آلی از ژن سیتوکروم اکسیداز میتوکندریایی انجام شد (Folmer et al., 1994). واکنش در حجم ۲۵ میکرولیتر (شامل ۱۰ میکرولیتر آب، ۱۲ میکرولیتر مستر میکس، یک



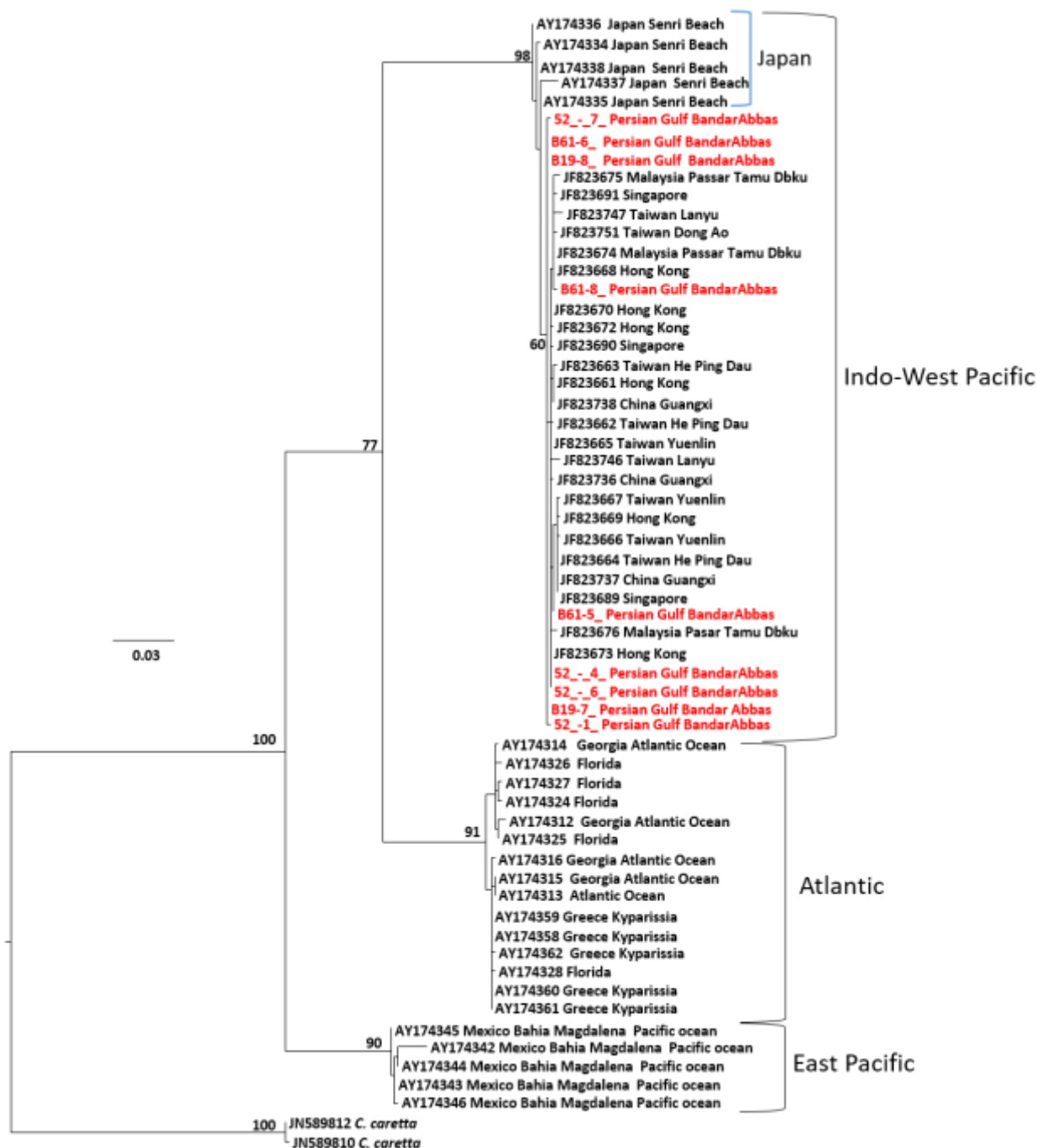
شکل ۱- نمونه‌های کشتی چسب *C. testudinaria* روی سپر پشتی خرچنگ آبی *P. segnis*.

Figure 1 - Samples of the barnacle *C. testudinaria* on the carapace of the swimming crab *P. segnis*.

## نتایج

شرق آمریکا و یونان (مدیترانه) (تبار اطلس) و تبار سوم شامل سایر نمونه‌ها (شامل نمونه‌های هند - آرام غربی) می‌شود. همه نمونه‌های خلیج فارس به همراه نمونه‌های سنگاپور، مالزی، هنگ کنگ، تایوان و ژاپن در تبار هند و آرام غربی قرار گرفت. در این تبار نمونه‌های ژاپن در قاعده و سایر نمونه‌ها در زیر تباری با حمایت بوتسترپ ۶۰ قرار گرفت. نمونه‌های خلیج فارس در سراسر این زیر تبار پخش شده است و جدایی خاصی از سایر نمونه‌های آسیای شرقی نشان نمی‌دهد.

تعداد نه توالی از نمونه‌های *C. testudinaria* از خلیج فارس به دست آمد. تعداد ۴۹ توالی از این گونه مربوط به مناطق مختلف به همراه دو توالی از گونه *C. caretta* نیز از بانک ژن استخراج شد (شماره‌های دسترسی در درخت آورده شده است). درخت حداکثر احتمال به دست آمده (تصویر ۲) حاوی سه تبار حمایت شده مشخص و متمایز از گونه *C. testudinaria* است. تبار نخست شامل نمونه‌های غرب مکزیک (شرق اقیانوس آرام)، تبار دوم شامل نمونه‌های



شکل ۲- درخت حداکثر احتمال ژن *COX1* برای نمونه‌های گونه *C. testudinaria* از سراسر دنیا، رسم شده با نرم‌افزار *raxmlGUI*. نمونه‌های خلیج فارس با رنگ قرمز مشخص شده است. دو توالی *C. caretta* در جایگاه برون‌گروه انتخاب شد. اعداد روی شاخه‌ها مربوط به بوتسترپ است.

Figure 2 - Maximum Likelihood Gene Tree for COX1 gene of *C. testudinaria* samples from around the world, constructed using the software *raxmlGUI*. Samples from the Persian Gulf are highlighted in red. Two sequences of *C. caretta* were chosen as outgroups. Numbers on branches represent bootstrap support.

## بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد نمونه‌های خلیج فارس متعلق به تبار آسیای شرقی است (شکل ۲). این الگوی تبارزادی نشان داد مرز موجود (جداکننده شرق و غرب) در ناحیه اقیانوسی هند - آرام غربی (Bowen et al., 2016) بین جمعیت‌های این گونه در شرق آسیا و غرب اقیانوس هند جدایی ایجاد نکرده است. این نزدیکی تبارزادی نمونه‌های مربوط به مناطق جغرافیایی دور از هم (ژاپن، تایوان تا خلیج فارس) نشان از قدرت زیاد پراکنش این گونه دارد؛ همچنین این توانایی پراکنش موجب نزدیکی تبارزادی نمونه‌های شرق و غرب اطلس شده است (Rawson et al., 2003)؛ این درحالی است که بسیاری از سخت‌پوستان، چه آنهایی که خود در سواحل زیست می‌کنند ولی لارو پلانکتونی دارند (مثل کمپلکس گونه‌ای خرنجنگ *N. meinerti*) (Ragionieri et al., 2009) و چه آنهایی که هم خود پلاژیک و هم لارو پلانکتونی (مثل کمپلکس گونه‌ای خرنجنگ *P. pelagicus*) (Lai et al., 2010) دارند، الگویی متفاوت نشان می‌دهند. خرنجنگ‌های گفته شده در دو طرف مرز یادشده در تبارهای متفاوت قرار می‌گیرند و جدایی تاریخی در الگوی تبارزادی نشان می‌دهند. کشتی‌چسب‌های ساحلی متعلق به کمپلکس گونه‌ای *Chthamalus malayensis* Pilsbry, 1916 نیز واگرایی‌های تبارزادی در جمعیت‌های مناطق مختلف هند - آرام غربی نشان می‌دهند (Simon- Blecher et al., 2021)؛ اما مطالعات مولکولی انجام‌شده روی گونه *C. testudinaria*، جدایی

نمونه‌های مربوط به حوزه‌های مختلف اقیانوسی را نشان می‌دهد (Rawson et al., 2003; Cheang et al., 2013). شواهد موجود نشان می‌دهد باوجود توانایی پراکنش زیاد، نمونه‌های این گونه کشتی‌چسب نتوانسته است از مرز بین این حوزه‌های اقیانوسی عبور و ساختار تبارزادی جهانی همگنی ایجاد کند. با توجه به کوتاهی دوره لاروی و محدودیت قدرت شنای لاروهای پلانکتونی سخت‌پوستان، بعید است که این گونه خود توانسته باشد در سراسر منطقه هند - آرام غربی پراکنش داشته باشد؛ به‌ویژه اینکه شواهد متعدد در سایر سخت‌پوستان و حتی کشتی‌چسب‌ها این محدودیت‌ها را تأیید می‌کند. یکی از اصلی‌ترین میزبان‌های این گونه کشتی‌چسب، خرنجنگ‌های شناگر هستند که خود نیز ساختار تبارزادی متفاوت و گسسته‌ای را در منطقه نشان می‌دهند (Lai et al., 2010) و نمی‌توانند حامل‌های مناسبی برای جابجایی بین جمعیت‌های دور از هم باشند. با توجه به جدایی تبارهای اقیانوسی، به نظر می‌رسد این گونه نتوانسته است مانند گونه *Amphibalanus amphitrite* (Darwin, 1854) (Chen et al., 2014) از طریق کشتی‌ها (فعالیت زی‌چسبندگی و آب توازن) جابجا شود. با توجه به قدرت نسبی زیاد پراکنش لاک‌پشت‌های دریایی و طی کردن مسافت‌های به‌نسبت طولانی (Hays, 2002)، به نظر می‌رسد حامل اصلی این گونه کشتی‌چسب برای ارتباط جمعیت‌های دور از هم، همین لاک‌پشت‌های دریایی باشند.



## References

- Barth, H. J., & Khan, N. Y. (2008). *Biogeophysical setting of the Gulf*. Protecting the Gulf's marine ecosystems from pollution. Springer.
- Bowen, B. W., Gaither, M. R., DiBattista, J. D., Iacchei, M., Andrews, K. R., Grant, W. S., & Briggs, J. C. (2016). Comparative phylogeography of the ocean planet. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(29), 7962-7969. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1602404113>
- Bowen, B. W., Rocha, L. A., Toonen, R. J. & Karl, S. A. (2013). The origins of tropical marine biodiversity. *Journal of Trends in Ecology & Evolution*, 28(6), 359-366. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tree.2013.01.018>
- Cheang, C. C., Tsang, L. M., Chu, K. H., Cheng, I. J., & Chan, B. K. (2013). Host-specific phenotypic plasticity of the turtle barnacle *Chelonibia testudinaria*: A widespread generalist rather than a specialist. *Plos One*, 8(3), e57592. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0057592>
- Chen, H. N., Tsang, L. M., Chong, V. C., & Chan, B. K. (2014). Worldwide genetic differentiation in the common fouling barnacle, *Amphibalanus amphitrite*. *Biofouling*, 30(9), 1067-1078. <http://dx.doi.org/10.1080/08927014.2014.967232>
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Journal of Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5), 294-299.
- Grosberg, R., & Cunningham, C. (2001). Genetic structure in the sea: From populations to communities. In Bertness M.D., Gaines S.D., Hay M.E. (Eds.) *Marine Community Ecology*. Sinauer Associates, Sunderland, MA, USA. Pp. 61-84.
- Hall, T. A. (1999). *A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT*. Nucleic Acids Symposium Series. Information Retrieval Ltd., c1979-c2000.
- Hays, G. C., Broderick, A. C., Godley, B. J., Lovell, P., Martin, C., McConnell, B. J., & Richardson, S. (2002). Biphasal long-distance migration in green turtles. *Journal of Animal Behaviour*, 64(6), 895-898. <https://doi.org/10.1006/anbe.2002.1975>
- Hellberg, M. E. (2009). Gene flow and isolation among populations of marine animals. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40, 291-310. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.110308.120223>
- Lai, J. C., Ng, P. K., & Davie, P. J. (2010). A revision of the *Portunus pelagicus* (Linnaeus, 1758) species complex (Crustacea: Brachyura: Portunidae), with the recognition of four species. *Raffles Bulletin of Zoology*, 58(2), 11-23.
- Porter, S. C. (1989). Some geological implications of average Quaternary glacial conditions. *Quaternary Research*, 32(3), 245-261. [https://doi.org/10.1016/0033-5894\(89\)90092-6](https://doi.org/10.1016/0033-5894(89)90092-6)
- Ragionieri, L., Fratini, S., Vannini, M., & Schubart, C. D. (2009). Phylogenetic and morphometric differentiation reveal geographic radiation and pseudo-cryptic speciation in a mangrove crab from the Indo-West Pacific. *Journal of Molecular Phylogenetics and Evolution*, 52(3), 825-834. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2009.04.008>
- Rawson, P. D., Macnamee, R., Frick, M. G., & Williams, K. L. (2003). Phylogeography of the coronulid barnacle, *Chelonibia testudinaria*, from loggerhead sea turtles, *Caretta caretta*. *Journal of Molecular Ecology*, 12(10), 2697-2706. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-294X.2003.01940.x>
- Roberts, C. M., McClean, C. J., Veron, J. E., Hawkins, J. P., Allen, G. R., McAllister, D. E., ... & Werner, T. B. (2002). Marine biodiversity hotspots and conservation priorities for tropical reefs. *Science*, 295(5558), 1280-1284. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1067728>

- Rodriguez, F., Oliver, J. L., Marin, A., & Medina, J. R. (1990). The general stochastic model of nucleotide substitution. *Journal of Theoretical Biology*, 142(4), 485-501. [https://doi.org/10.1016/s0022-5193\(05\)80104-3](https://doi.org/10.1016/s0022-5193(05)80104-3)
- Shahdadi, A., & Ghanbarifardi, M. (2021). Molecular identification of *platax orbicularis* (Forsskål, 1775) from the Persian Gulf. *Journal of Taxonomy and Biosystematics*, 13(2), 87-96. <https://doi.org/10.22108/tbj.2021.130747.1179> [In Persian].
- Shahdadi, A., Sari, A., & Naderloo, R. (2014). A checklist of the barnacles (Crustacea: Cirripedia: Thoracica) of the Persian Gulf and Gulf of Oman with nine new records. *Zootaxa*, 3784(3), 201-223. <http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.3784.3.1>
- Sheikhalikalayeh, H. P., & Ghasempouri, S. M. (2021). Genealogy of lesser whitethroat subspecies (*Sylvia Curruca Halimodendri*) in Qeshm Island using a systematic molecular approach. *Journal of Taxonomy and Biosystematics*, 13(46), 1-16. <http://dx.doi.org/10.22108/TBJ.2021.126436.1143> [In Persian].
- Sheppard, C., Al-Husiani, M., Al-Jamali, F., Al-Yamani, F., Baldwin, R., Bishop, J., & Zainal, K. (2010). The Gulf: A young sea in decline. *Marine Pollution Bulletin*, 60(1), 13-38. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.10.017>
- Silvestro, D., & Michalak, I. (2012). raxmlGUI: A graphical front-end for RAxML. *Journal of Organisms Diversity & Evolution*, 12(4), 335-337. <http://dx.doi.org/10.1007/s13127-011-0056-0>
- Simon-Blecher, N., Jacob, A., Levy, O., Appelbaum, L., Elbaz-Ifrah, S., & Aчитuv, Y. (2021). Flatfoot in Africa, the cirripede *Chthamalus* in the west Indian Ocean. *Peer-Reviewed Journal*, 9, e11710. <https://doi.org/10.7717%2Fpeerj.11710>
- Wafar, M., Venkataraman, K., Ingole, B., Ajmal Khan, S., & LokaBharathi, P. (2011). State of knowledge of coastal and marine biodiversity of Indian Ocean countries. *PloS one*, 6(1), e14613. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0014613>
- Woodruff, D. S. (2010). Biogeography and conservation in Southeast Asia: How 2.7 million years of repeated environmental fluctuations affect today's patterns and the future of the remaining refugial-phase biodiversity. *Journal of Biodiversity and Conservation*, 19(4), 919-941. <http://dx.doi.org/10.1007/s10531-010-9783-3>