

Antioxidant Enzymes Activity of Superoxide Dismutase in the *Avicennia marina* from the Persian Gulf and Gulf of Oman in the Presence of the Metal Ions

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Zeinali F.¹ MSc,

Homaie A.* PhD

How to cite this article

Zeinali F, Homaie A. Antioxidant Enzymes Activity of Superoxide Dismutase in the *Avicennia marina* from the Persian Gulf and Gulf of Oman in the Presence of the Metal Ions. Modares Journal of Biotechnology. 2018;9(1):131-136.

ABSTRACT

Aims Mangroves are subjected to a range of abiotic stresses, which affect their growth and normal physiological processes. One of the most important modes of enzymatic antioxidant defense against stress caused by reactive oxygen species (ROS) is superoxide dismutase (SOD). The aim of this study was to evaluate the antioxidant enzymes activity of superoxide dismutase in the *avicennia marina* from the Persian Gulf and Gulf of Oman in the presence of the metal ions.

Materials & Methods In the present experimental study, which was conducted on the leaf of *avicennia marina*, the sampling was carried out from two habitats including Khamir port in the Persian Gulf and Sirik in the Gulf of Oman and the treatments were carried out in 3 replications. H₂O₂ sensitivity test and KCN test were used to determine the SOD type. The data were analyzed, using SPSS 19 software by multivariate analysis of variance and Duncan's multiple range test for comparing the means.

Findings The type of SOD enzyme was detected as Copper-zinc superoxide dismutase (Cu/Zn-SOD). There was no significant difference between different treatments of metals between two regions, and no interaction was observed between metal factor, concentration, and type of region. A strong inhibitory effect was observed in the presence of HgCl₂ solution and a weak inhibitory effect was observed in the presence of ZnSO₄, FeSO₄, and MgCl₂ solutions.

Conclusion Copper, manganese, and cobalt ions significantly increase the activity of the superoxide dismutase, while monovalent ions such as sodium and potassium have little effect on increasing SOD activity and the activity of the antioxidant enzymes of *avicennia marina* leaf from Khamir port in the Persian Gulf and Sirik in the Gulf of Oman is not different.

Keywords Superoxide Dismutase; *Avicennia marina*; Persian Gulf; Gulf of Oman; Metal ions

CITATION LINKS

[1] Effects of the physical structure of mangrove vegetation on a benthic ... [2] Biology of mangroves and mangrove ... [3] Prediction of enzyme-inhibitor interactions in *Avicennia marina* Cu-Zn superoxide dismutase: Implications of functionally significant residues in the metal ... [4] Over expression of cytosolic copper/zinc superoxide dismutase from a mangrove plant *Avicennia marina* in indica rice var Pusa Basmati-1 confers abiotic ... [5] Cloning, expression, and characterization of iron superoxide dismutase in *sonneratia alba*, a highly salt tolerant ... [6] Superoxide dismutase: An industrial ... [7] Purification, molecular cloning, and some properties of a manganese-containing superoxide dismutase from ... [8] Molecular cloning, characterization and expression analysis of cytoplasmic Cu/Zn-superoxide dismutase (SOD) from ... [9] Biochemical characterization of a cambialistic superoxide dismutase isozyme from diatom *Thalassiosira* ... [10] Superoxide dismutase, an enzymic function for... [11] Evidence in oyster of a plasma extracellular superoxide ... [12] Superoxide dismutase in the marine sponge ... [13] Cloning and characterization of a new manganese superoxide dismutase from deep-sea thermophile ... [14] Accumulation and distribution of heavy metals in the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk) Vierh: Biological ... [15] Superoxide dismutase and ... [16] The role of metals in ... [17] Effect of cadmium and zinc on antioxidant enzyme activity in ... [18] Protective role of salt in catalysis and maintaining structure of halophilic proteins ... [19] CuZn-superoxide dismutases from the fern *Equisetum arvense* and the green alga ... [20] Molecular characterization and response to salt stress of mRNAs encoding cytosolic Cu/Zn superoxide dismutase and catalase from ... [21] Effects of cadmium on growth and superoxide dismutase ... [22] Superoxide dismutase is involved in high tolerance to copper in ... [23] A new human ... [24] Antioxidant modulation in response to metal-induced oxidative stress ... [25] Photosynthetic pigments and peroxidase activity as indicators of heavy metal stress in ...

*Biochemistry Department, Science Faculty, Hormozgan University, Bandar Abbas, Iran

¹Marine Biology Department, Marine Science & Technology Faculty, Hormozgan University, Bandar Abbas, Iran

Correspondence

Address: Address: Biochemistry Department, Science Faculty, Hormozgan University, Bandar Abbas, Iran.
Postal Code: 7916193145
Phone: +98 (76) 3371100011
Fax: +98 (76) 33670716
a.homaie@hormozgan.ac.ir

Article History

Received: April 4, 2017

Accepted: October 23, 2017

ePublished: March 20, 2018

فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز حزای خلیج فارس و دریای عمان در برابر یون‌های فلزی

فرخزاد زینلی MSc

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

احمد همایی PhD*

گروه بیوشیمی، دانشکده علوم، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

چکیده

اهداف: درختان مانگرو در معرض طیف وسیعی از تنش‌های غیرزنده قرار دارند که بر رشد و سایر فرآیندهای فیزیولوژیک آنها اثر می‌گذارد. یکی از مهم‌ترین روش‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی- آنزیمی در برابر تنش‌های ناشی از گونه‌های اکسیژن فعال، آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD) است. هدف این پژوهش ارزیابی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسیددیسموتاز حزای (AmSOD) خلیج فارس و دریای عمان در برابر یون‌های فلزی بود.

مواد و روش‌ها: در پژوهش تجربی حاضر که روی برگ گونه درختی حزا اجرا شد، نمونه‌برداری از دو رویشگاه بندر خمیر در خلیج فارس و سیریک در دریای عمان صورت گرفت و تیمارها در سه تکرار انجام شد. برای تعیین نوع SOD از آزمون حساسیت H_2O_2 و KCN استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SPSS 19 از طریق آزمون تحلیل واریانس چندمتغیره و آزمون چنددامنه‌ای دانکن برای مقایسه میانگین‌ها صورت گرفت.

یافته‌ها: نوع آنزیم SOD، مس/روی- سوپراکسیددیسموتاز (Cu/Zn-SOD) تشخیص داده شد. بین تیمارهای مختلف فلزات بین دو منطقه اختلاف معنی‌داری وجود نداشت و برهم‌کنش بین فاکتور فلزات و غلظت و نوع منطقه مشاهده نشد. اثر مهاری شدیدی در حضور محلول کلریدجیوه و اثر مهاری ضعیفی در حضور محلول سولفات‌روی، سولفات‌آهن و کلریدمنیزیم مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: یون‌های مس، منگنز و کبالت به‌طور قابل توجهی فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز را افزایش می‌دهند، در حالی که یون‌های تک‌ظرفیتی مانند سدیم و پتاسیم تاثیر ناچیزی بر افزایش فعالیت SOD دارند و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برگ گونه درختی حزای منطقه خمیر در خلیج فارس و سیریک در دریای عمان تفاوتی ندارند.

کلیدواژه‌ها: سوپراکسیددیسموتاز، گونه حزا، خلیج فارس، دریای عمان، یون‌های فلزی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۱/۱۵

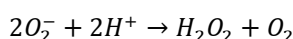
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۸/۰۱

*نویسنده مسئول: a.homaei@hormozgan.ac.ir

مقدمه

جنگل‌های مانگرو از اکوسیستم‌های منحصربه‌فرد و پُرتولید جهان هستند و در محیط‌های ساحلی، پناهگاه و مکان تغذیه‌ای مناسبی را فراهم می‌آورند^[1]. سازگاری‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک زیادی که در درختان مانگرو نسبت به شرایط حاد محیطی وجود دارد، ممکن است در هیچ گروه دیگری از گیاهان نباشد^[2]. گیاهان در محیط زیست خود در معرض طیف وسیعی از تنش‌های غیرزنده مانند تنش اسمزی، شوری و مسمومیت با فلزات سنگین قرار دارند که بر رشد و دیگر فرآیندهای فیزیولوژیک آنها اثر می‌گذارد^[3]. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نقش مهمی در مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های غیرزنده دارند. در گیاهان شورپسند مانند مانگروها سطح بالایی از فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD) گزارش شده است که نقش عمده‌ای در دفاع از گیاه در برابر تنش‌های محیطی شدید دارد^[4]. فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برگ‌های گیاهان مانگرو نسبت به سایر اندام‌ها مانند ساقه، گل و ریشه بیشتر است^[5]. گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) بسیار واکنش‌پذیر شامل

مولکول‌های حاوی اکسیژن تولیدشده طی فرآیند تنفس هوازی عادی مانند رادیکال‌های سوپراکسید (O_2^-) و هیدروکسیل (OH^-)، اکسیژن تنها و پراکسیدهایدروژن (H_2O_2) هستند و ممکن است با واکنش با ماکرومولکول‌های درون‌سلولی باعث استرس‌اکسیداتیو و آسیب آنها شوند^[6]. از این رو سطح ROS تحت کنترل سیستم آنتی‌اکسیدانی قرار دارد^[5]. سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی شامل دو نوع آنزیمی و غیرآنزیمی است^[7]. یکی از تشکیل‌دهنده‌های مهم سیستم دفاع آنزیمی توسط مک‌کرد و فریدوویچ در سال ۱۹۶۹ گزارش شده است. براساس واکنش دیسموتاسیون O_2^- توسط آنزیم، آنها نام سوپراکسیددیسموتاز (EC1.15.1.1) را برای این گروه از آنزیم‌ها پیشنهاد داده‌اند^[8-10]. SOD واکنش زیر را کاتالیز می‌کند:

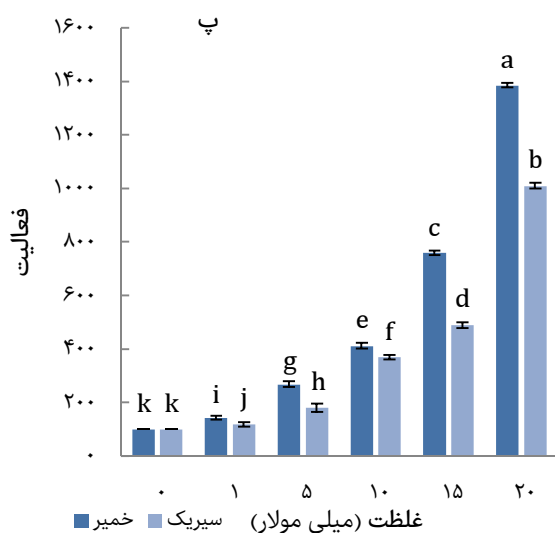
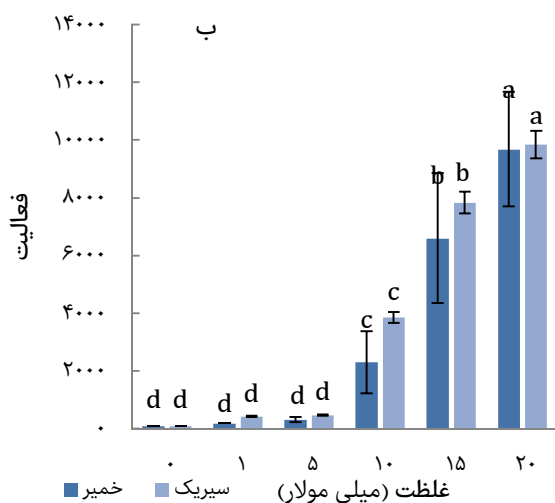
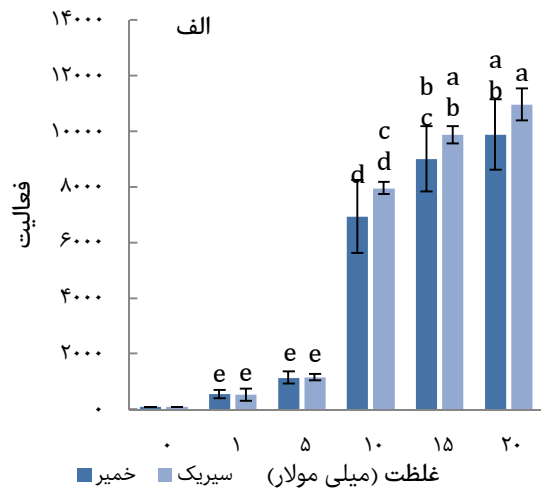


H_2O_2 توسط آنزیم‌های دیگر مانند کاتالاز و پراکسیداز به محصول آبی بی‌ضرر تبدیل می‌شود^[7, 11]. عمل ترکیبی این دو آنزیم، سطح سوپراکسیدآنیون (O_2^-) و هیدروژن پراکسید (H_2O_2) را پایین نگه می‌دارد^[12]. در دهه ۱۹۹۰، آنزیم آنتی‌اکسیدان SOD به بازار معرفی شد، اگر چه در ابتدا برای آن کاربردهای درمانی زیادی برشمرده شد، اما انتظارات را برآورده نکرده و محدود به کاربردهای غیردارویی در انسان (آرایشی، غذایی، کشاورزی و صنایع شیمیایی) و دارویی در حیوانات شده است^[6, 13]. بنابر مطالب ذکرشده، پژوهش حاضر روی گونه درختی حزا (*Avicennia marina*) اجرا شد و هدف آن ارزیابی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسیددیسموتاز حزای (AmSOD) خلیج فارس و دریای عمان در برابر یون‌های فلزی بود.

مواد و روش‌ها

در پژوهش تجربی حاضر که روی گونه درختی حزا اجرا شد، نمونه‌برداری از دو رویشگاه بندر خمیر در خلیج فارس و سیریک در دریای عمان مطابق روش مک‌فارلن و همکاران^[14] و تیمارها در سه تکرار انجام شد. در آزمایشگاه حدود ۵ گرم از برگ‌ها درون هاون چینی قرار گرفت و در نیتروژن مایع، پودر شد و با افزودن ۱۰ میلی‌لیتر بافر تریس- هیدروکلراید (Tris-HCl) ۵۰ میلی‌مولار و pH برابر با ۷/۵ به مدت ۲۰ دقیقه در دور ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع رویی برداشته شد، پس از رسوب با آمونیوم‌سولفات، دیالیز نمونه‌های پروتئینی انجام گرفت و در حداقل بافر تریس حل شد. برای خالص‌سازی پروتئین‌ها از دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد سریع (FPLC) استفاده شد. بدین منظور پس از آماده‌سازی ستون تعویض کاتیونی CM- سفاکس و به‌تعادل‌رساندن آن با بافر ۵۰ میلی‌مولار تریس و pH برابر با ۷/۵، محتوای سلولی دیالیزشده روی ستون بارگذاری شد. سپس ستون با بافر ۵۰ میلی‌مولار تریس و pH برابر با ۷/۵ شست‌وشو داده شد تا تمامی پروتئین‌هایی که به ستون تعویض کاتیونی متصل نشده بودند، خارج شوند. با ایجاد یک گرادیان خطی صفر تا یک‌مولار سدیم‌کلراید در بافر مشابه، پروتئین‌های متصل‌شده به رزین برحسب میزان بار مثبت سطحی خود و قدرت اتصال آنها به رزین به‌ترتیب با افزایش قدرت یونی بافر، شست‌وشو و از ستون جدا شده و سپس در لوله‌های مختلف جمع‌آوری شدند. نمونه‌های دارای فعالیت جدا شدند و فعالیت آنها در حضور سوبسترای پیروگالول بررسی شد. در این پژوهش فراکشن‌های مختلف با

(MgCl₂) مشاهده شد. وقتی غلظت یون‌های سدیم (Na⁺) و پتاسیم (K⁺) بین یک تا ۲۰ میلی‌مولار بود، فعالیت آنزیم تغییر چندانی نکرد. بین تیمارهای مختلف در هر یک از مناطق سیریک و خمیر اختلاف معنی‌داری وجود داشت. تیمارهای مختلف فلزات بین دو منطقه (سیریک و خمیر) اختلاف معنی‌داری نداشتند و برهم‌کنش بین فاکتور فلزات و غلظت و نوع منطقه مشاهده نشد (نمودار ۱، الف-خ).



سرعت عبور ۳ میلی‌لیتر بر دقیقه جمع‌آوری شدند. نمونه‌های مثبت دارای فعالیت روی هم ریخته شد و با بافر ۵۰ میلی‌مولار تریس هیدروکلراید و pH برابر با ۷/۵ دیالیز شدند. مراحل فوق با ستون‌های تعویض آنیونی دی‌اتیل‌آمینواتیل (DEAE) - سفارز و فیلتراسیون ژلی سفادکس G-75 به‌منظور دستیابی به آنزیم خالص تکرار شد.

سنجش SOD و اندازه‌گیری پروتئین: فعالیت SOD در بافر ۵۰ میلی‌مولار تریس هیدروکلراید، با pH برابر با ۸/۲ و حاوی یک میلی‌مولار اتیلن‌دی‌آمین‌تترااستیک‌اسید (EDTA) در دمای اتاق اندازه‌گیری شد که سوبسترای آن پیروگالول ۰/۲ میلی‌مولار بود و طی آن ۵۰ میکرولیتر از محلول رقیق آنزیم در ۲۸۵۰ میکرولیتر از بافر تریس، ۱۰۰ میکرولیتر از پیروگالول ۰/۲ میلی‌مولار اضافه و مهار اتواکسیداسیون پیروگالول به پورپورگالین در بافر تریس به‌مدت ۵ دقیقه اندازه‌گیری شد. سرعت مهار اتواکسیداسیون از طریق افزایش جذب در طول موج ۴۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. یک واحد آنزیم SOD، مقدار آنزیم مورد نیاز برای مهار ۵۰٪ از اتواکسیداسیون پیروگالول است.

تاثیر یون‌های فلزی بر فعالیت SOD: غلظت‌های (صفر تا ۲۰ مولار) از نمک‌های کلرید سدیم، پتاسیم، کبالت، منیزیم، جیوه، مس، آهن، روی و منگنز در بافر ۵۰ میلی‌مولار تریس هیدروکلراید با pH برابر با ۸/۲ تهیه و فعالیت نسبی آنزیم طبق روش معمول اندازه‌گیری و نسبت به فعالیت آنزیم در محلول بدون یون‌های فلزی مقایسه شد. ضمناً فعالیت آنزیم در شرایط مختلف نسبت به فعالیت آن در بافر بدون هیچ افزودنی به دست آمد. در تهیه محلول‌های فوق باید به این نکته توجه شود که پس از افزودن ترکیب مورد نظر، pH بافر در صورت تغییر تنظیم شود.

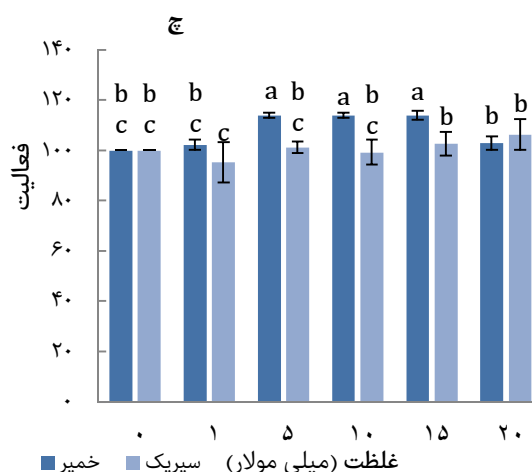
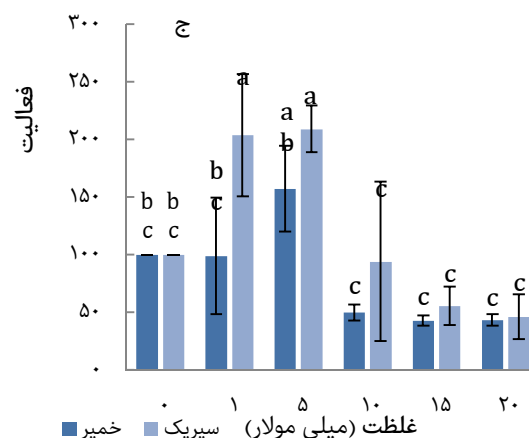
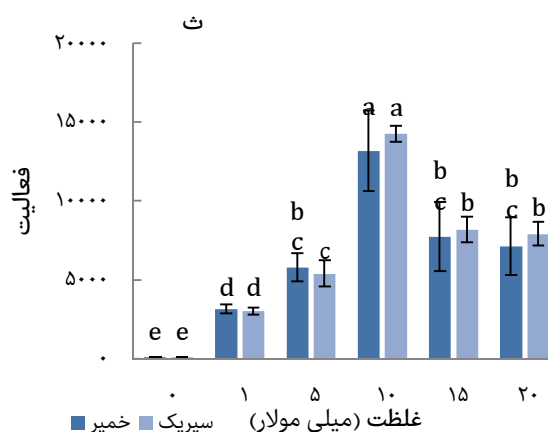
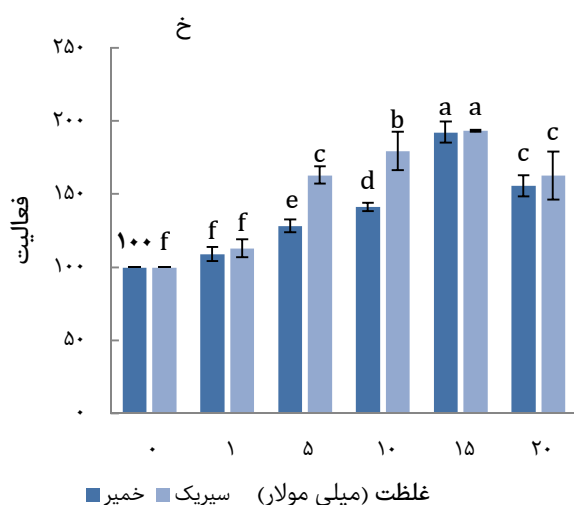
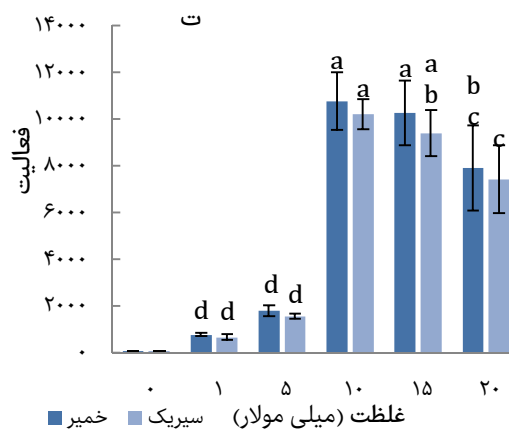
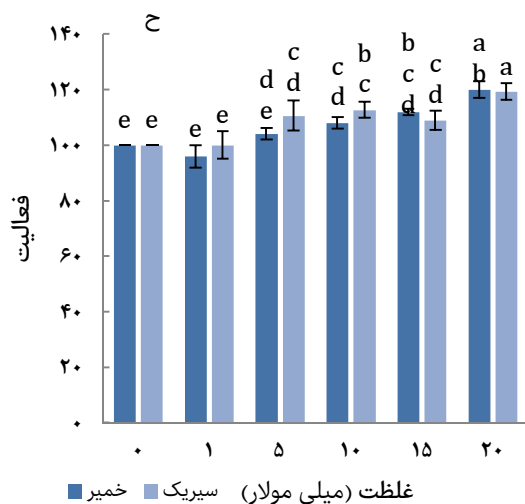
تعیین نوع آنزیم سوپراکسیددیسموتاز: به‌منظور شناسایی، ایزوآنزیم‌های مس/روی - سوپراکسیددیسموتاز (Cu/Zn-SOD)، منگنز - سوپراکسیددیسموتاز (Mn-SOD)، آهن - سوپراکسیددیسموتاز (Fe-SOD)، آنزیم خالص‌شده در محلول‌های مختلف از پتاسیم سیانید (KCN) و H₂O₂ در غلظت‌های مختلف در شرایط معمول آزمایشگاهی انکوبه شدند.

انواع SOD براساس کوفاکتور فلزی طبقه‌بندی می‌شوند. سه گروه از این آنزیم‌ها را می‌توان با حساسیت‌های مختلف آنها به KCN و H₂O₂ شناسایی کرد. بدین صورت که Cu/Zn-SOD به هر دو حساس است، Fe-SOD فقط به H₂O₂ حساس است و Mn-SOD نسبت به هر دو مقاوم است [15]. KCN به‌عنوان یکی از مهارکننده‌های SOD استفاده می‌شود و مهار شدیدی بر Cu/Zn-SOD دارد [15]. در این پژوهش برای اولین بار ویژگی‌های آنزیم Cu/Zn-SOD گونه جزا بررسی شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SPSS 19 از طریق آزمون تحلیل واریانس چندمتغیره برای بررسی تفاوت بین تیمارهای منطقه سیریک و آزمون چنددامنه‌ای دانکن برای مقایسه میانگین‌ها صورت گرفت.

یافته‌ها

تاثیر یون‌های فلزی بر فعالیت آنزیم AmSOD: یون‌های مس (Cu²⁺)، منگنز (Mn²⁺) و کبالت (Co²⁺) به‌طور قابل توجهی فعالیت SOD را افزایش دادند. اثر مهار قوی در حضور محلول کلرید جیوه (HgCl₂) و اثر مهار ضعیفی در حضور محلول سولفات روی (ZnSO₄)، سولفات آهن (FeSO₄) و کلرید منیزیم



نمودار ۱) فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز *AmsOD* منطقه خمیر و سیریک در برابر یون فلزات

الف) یون فلز کبالت کلرید (CoCl_2)

ب) یون فلز سولفات مس (CuSO_4)

پ) یون فلز سولفات منگنز (MnSO_4)

ت) یون فلز سولفات روی (ZnSO_4)

ث) یون فلز سولفات آهن (FeSO_4)

ج) یون فلز کلرید جیوه (HgCl_2)

چ) یون فلز یتاسیم کلراید (KCl)

ح) یون فلز سدیم کلرید (NaCl)

خ) یون فلز کلرید منیزیم (MgCl_2)

حروف غیرهمنام نشان دهنده تفاوت معنی دار است.

فعالیت Cu/Zn-SOD توسط سیانید و H_2O_2 مهار شد، در حالی که Mn-SOD نسبت به این تیمارها غیرحساس بود و Fe-SOD تنها به H_2O_2 حساس بود. قراردادن آنزیم در معرض H_2O_2 با غلظت بیش از ۱۵ میلی مولار، آن را غیرفعال کرد (نمودار ۲). غلظت پایین H_2O_2 (۱ تا ۱۰ میلی مولار) به آرامی *AmsOD* خمیر را فعال ساخت و در غلظت های بالاتر، فعالیت آن را کاهش داد، اما غلظت یک میلی مولار فعالیت *AmsOD* سیریک را کاهش داد و در غلظت های بالاتر به طور کامل آن را غیرفعال کرد. همچنین *AmsOD* نسبت به KCN حساس بود. افزودن یک میلی مولار KCN به محلول مورد آزمایش، فعالیت *AmsOD* را کاهش داد و در غلظت ۱۰ میلی مولار و غلظت های بالاتر *AmsOD* سیریک به طور

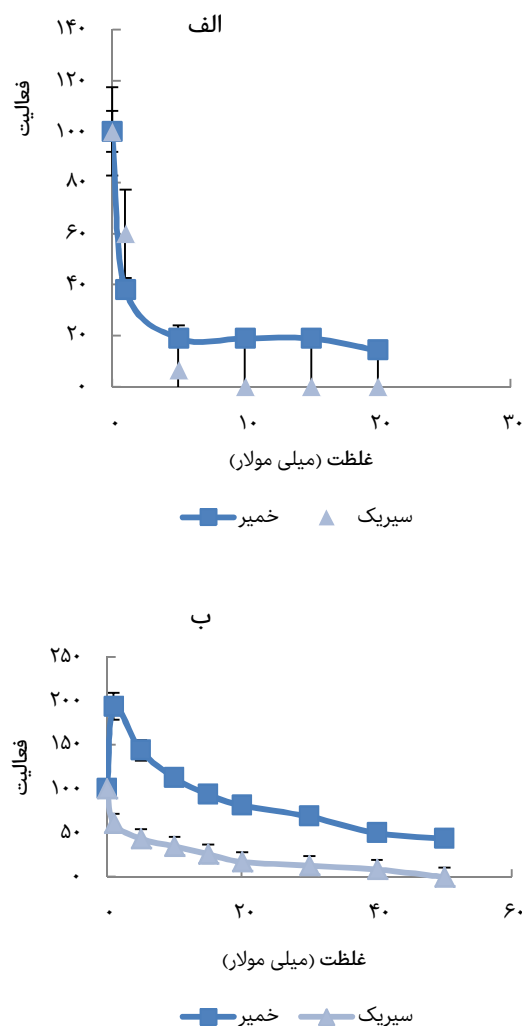
Cu/Zn-SOD و Fe-SOD را غیرفعال می‌کند و بر آنزیم Mn-SOD بی‌اثر است [19].

داده‌های آزمایشگاهی نشان داد که یون‌های تک‌ظرفیتی مانند Na^+ و K^+ تأثیر ناچیزی بر افزایش فعالیت SOD داشتند و وقتی غلظت این یون‌ها بین ۱ تا ۲۰ میلی‌مولار بود، فعالیت آنزیم تغییر چندانی نکرد. این نشان می‌دهد که یون‌های تک‌ظرفیتی قلبایی مانند Na^+ و K^+ و رادیکال‌های اسیدی مانند Cl^- تأثیری بر فعالیت آنزیم ندارند. در سایر موجودات دریایی نیز گزارش شده است که تیمار با NaCl سطح بیان Cu/Zn-SOD را در برگ‌های جوان و بالغ در مقایسه با برگ‌های پیر گونه *بروزریا ژیمنوریزا* (*Bruguiera gymnorrhiza*) افزایش می‌دهد [20]. در این تحقیق یون‌های Cu^{2+} ، Mn^{2+} و Co^{2+} افزایش زیادی در فعالیت SOD ایجاد کردند و اثر مهاری قوی در حضور محلول HgCl_2 مشاهده شد. در گونه *تتراسلمیس گراسیلیس* (*Tetraselmis gracilis*) کادمیوم باعث افزایش فعالیت آنزیم SOD شده است [21]. تأثیر مثبت Mn^{2+} بر فعالیت آنزیم EPT3 منگنز- سوپراکسیددیسموتاز جنس *ژئوباسیلوس* مشخص شده است. سایر یون‌های دو ظرفیتی فعالیت آنزیم را مهار کرده‌اند و Cu^{2+} بیشترین تأثیر مهاری را داشته است [13]. میزان پروتئین سوپراکسیددیسموتاز N6 جنس *کریپتوکوکوس* با کشت در محیط حاوی Cu^{2+} ، کرومیوم (Cr^{2+})، Fe^{3+} و نیکل (Ni^{2+}) افزایش یافته و با افزودن Mn^{2+} به محیط کشت کاهش پیدا کرده است [22]. در مطالعه‌ای مجموع فعالیت SOD گونه *لینگولودینیوم پولیدروم* (*Lingulodinium polyedrum*) به‌طور قابل‌توجهی با در معرض قرارگیری Hg^{2+} ، Cd^{2+} ، سرب (Pb^{2+}) و Cu^{2+} به‌ترتیب ۱۳۴، ۱۴۸، ۱۲۷ و ۱۳۹٪ افزایش یافته است. افزایش قابل توجه در فعالیت SOD فقط در حضور Cd^{2+} و ۱۱٪ و Cu^{2+} و ۱۴٪ مشاهده شده است، در حالی که در مجاورت Pb^{2+} ، ۱۱٪ به‌طور قابل توجهی کاهش یافته است [23]. تحت استرس شدید، افزایش قابل توجهی در فعالیت SOD *لینگولودینیوم پولیدروم* (Hg^{2+} ، ۱۰٪، Cd^{2+} ، ۷۰٪، Pb^{2+} ، ۵۶٪ و Cu^{2+} ، ۳۰٪) مشاهده شده است. تحت استرس شدید فلزات، تغییر قابل ملاحظه‌ای در فعالیت دو آنزیم مشاهده نشد، مانند آنچه در مورد قراردادن SOD در معرض تیمار Cd^{2+} در *لینگولودینیوم پولیدروم* گزارش شده است که طی آن ۳۵٪ افزایش فعالیت داشته است [24]. در این مطالعه برهم‌کنش بین فاکتور فلزات و غلظت و نوع منطقه مشاهده نشد که می‌تواند ناشی از انباشته شدن فلزات در ریشه درختان جزا و انتقال محدود به بافت برگ باشد [25]. البته برای مقایسه میزان تفاوت انتقال فلزات به برگ در دو منطقه (خمیر و سیریک) نیازمند تحقیق و بررسی بیشتری است و میزان فعالیت آنزیم *AmsOD* موجود در برگ معیار مناسبی برای مقایسه مقاومت آنزیم در برابر فلزات موجود در محیط در دو منطقه نیست. پژوهش حاضر محدودیتی نداشت. پیشنهاد می‌شود به‌منظور افزایش مقاومت آنزیم در برابر تنش‌های محیطی، موتاسیون نقطه‌ای در ژن آن ایجاد شود و همچنین آنزیم روی بسترهای شیمیایی برای استفاده طولانی‌مدت از آن پایدار شود.

نتیجه‌گیری

یون‌های مس، منگنز و کبالت به‌طور قابل توجهی فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز را افزایش می‌دهند، در حالی که یون‌های تک‌ظرفیتی مانند سدیم و پتاسیم تأثیر ناچیزی بر افزایش فعالیت SOD دارند. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برگ گونه درختی

کامل غیرفعال شد، در حالی که *AmsOD* خمیر حدود ۲۰٪ فعالیت بیشینه خود را حفظ کرد (نمودار ۲).



نمودار ۲) فعالیت آنزیم *AmsOD* در منطقه خمیر و سیریک در برابر H_2O_2 و KCN

الف) فعالیت آنزیم *AmsOD* در منطقه خمیر و سیریک در برابر KCN
ب) فعالیت آنزیم *AmsOD* در منطقه خمیر و سیریک در برابر KCN
غلظت صفر نشان‌دهنده فعالیت آنزیم بدون حضور H_2O_2 و KCN است.

بحث

پژوهش حاضر با هدف ارزیابی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسیددیسموتاز جزای خلیج فارس و دریای عمان در برابر یون‌های فلزی انجام شد. یون‌های فلزی نقش مهمی در عملکرد بیولوژیک بسیاری از آنزیم‌ها دارند. حالت‌های مختلف از تعامل فلز- پروتئین شامل فلز- لیگاند و مجموعه‌های آنزیم- پل وجود دارد. فلزات می‌توانند به‌عنوان دهنده یا گیرنده الکترون، اسیدهای لوئیس یا تنظیم‌کننده ساختاری باشند [16]. فلزات مکانیزم‌های متفاوتی برای سمیت در شرایط مختلف محیطی و در گونه‌های مختلف نشان می‌دهند [17]. یون‌های فلزات سنگین اتم‌هایی با بار مثبت هستند. آنها با تداخل در پل‌های نمکی، عملکرد آنزیم را مختل می‌کنند [18]. طبق یافته‌ها غلظت پایین H_2O_2 (۱ تا ۱۰ میلی‌مولار) *AmsOD* خمیر را فعال کرد و با افزایش غلظت، فعالیت آن کاهش یافت، اما غلظت یک میلی‌مولار فعالیت *AmsOD* سیریک را کاهش داد و با افزایش غلظت به‌طور کامل غیرفعال شد. علت این رویداد این است که H_2O_2 آنزیم‌های

حزای منطقه خمیر در خلیج فارس و سیریک در دریای عمان تفاوتی ندارند.

تشکر و قدردانی: بدین وسیله مراتب قدردانی و سپاس خود را از دانشگاه هرمزگان اعلام می‌داریم.

تأییدیه اخلاقی: در این پژوهش هیچ استفاده‌ای از نمونه‌های انسانی یا جانوری نشده است.

تعارض منافع: هیچ گونه تعارض منافی وجود ندارد.

سهم نویسندگان: فرخزاد زینلی (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی/تحلیلگر آماری/نگارنده بحث (۵۰٪): احمد همایی (نویسنده دوم)، نگارنده مقدمه/روشن‌شناس/پژوهشگر اصلی/نگارنده بحث (۵۰٪)

منابع مالی: منابع مالی این تحقیق توسط دانشگاه تربیت مدرس تأمین شده است.

منابع

- 1- Kon K, Kurokura H, Tongnunui P. Effects of the physical structure of mangrove vegetation on a benthic faunal community. *J Exp Mar Biol Ecol*. 2010;383(2):171-80.
- 2- Kathiresan K, Bingham BL. Biology of mangroves and mangrove ecosystems. *Adv Mar Biol*. 2001;40:81-251.
- 3- Jabeen U, Salim A, Abbasi A. Prediction of enzyme-inhibitor interactions in *Avicennia marina* Cu-Zn superoxide dismutase: Implications of functionally significant residues in the metal binding sites. *Pak J Biochem Mol Biol*. 2011;44(1):1-7.
- 4- Prashanth SR, Sadhasivam V, Parida A. Over expression of cytosolic copper/zinc superoxide dismutase from a mangrove plant *Avicennia marina* in indica rice var Pusa Basmati-1 confers abiotic stress tolerance. *Transgenic Res*. 2008;17(2):281-91.
- 5- Wang F, Wu Q, Zhang Z, Chen S, Zhou R. Cloning, expression, and characterization of iron superoxide dismutase in *sonneratia alba*, a highly salt tolerant mangrove tree. *Protein J*. 2013;32(4):259-65.
- 6- Bafana A, Dutt S, Kumar S, Ahuja PS. Superoxide dismutase: An industrial perspective. *Crit Rev Biotechnol*. 2011;31(1):65-76.
- 7- Wang Y, Osatomi K, Nagatomo Y, Yoshida A, Hara K. Purification, molecular cloning, and some properties of a manganese-containing superoxide dismutase from Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 2011;158(4):289-96.
- 8- Anju A, Jeswin J, Thomas PC, Paulton MP, Vijayan KK. Molecular cloning, characterization and expression analysis of cytoplasmic Cu/Zn-superoxide dismutase (SOD) from pearl oyster *Pinctada fucata*. *Fish Shellfish Immunol*. 2013;34(3):946-50.
- 9- Huang JK, Wen L, Ma H, Huang ZX, Lin CT. Biochemical characterization of a cambialistic superoxide dismutase isozyme from diatom *Thalassiosira weissflogii*: Cloning, expression, and enzyme stability. *J Agric Food Chem*. 2005;53(16):6319-25.
- 10- McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase, an enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). *J Biol Chem*. 1969;244(22):6049-55.
- 11- Gonzalez M, Romestand B, Fievet J, Huvet A, Lebart MC, Gueguen Y, et al. Evidence in oyster of a plasma extracellular superoxide dismutase which binds LPS. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;338(2):1089-97.
- 12- Marques D, Esteves AI, Almeida M, Xavier J, Humanes M. Superoxide dismutase in the marine sponge *Cliona celata*. *Mar Biol*. 2008;153(5):807-13.
- 13- Zhu Y, Wang G, Ni H, Xiao A, Cai H. Cloning and characterization of a new manganese superoxide dismutase from deep-sea thermophile *Geobacillus* sp. EPT3. *World J Microbiol Biotechnol*. 2014;30(4):1347-57.
- 14- MacFarlane GR, Pulkownik A, Burchett MD. Accumulation and distribution of heavy metals in the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk) Vierh: Biological indication potential. *Environ Pollut*. 2003;123(1):139-51.
- 15- Bowler C, Montagu MV, Inze D. Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*. 1992;43:83-116.
- 16- Riordan JF. The role of metals in enzyme activity. *Ann Clin Lab Sci*. 1977;7(2):119-29.
- 17- Chandran R, Sivakumar AA, Mohandass S, Aruchami M. Effect of cadmium and zinc on antioxidant enzyme activity in the gastropod, *Achatina fulica*. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2005;140(3-4):422-6.
- 18- Sinha R, Khare SK. Protective role of salt in catalysis and maintaining structure of halophilic proteins against denaturation. *Front Microbiol*. 2014;5:165.
- 19- Kanematsu S, Asada K. CuZn-superoxide dismutases from the fern *Equisetum arvense* and the green alga *Spirogyra* sp.: Occurrence of chloroplast and cytosol types of enzyme. *Plant Cell Physiol*. 1989;30(5):717-27.
- 20- Takemura T, Hanagata N, Dubinsky Z, Karube I. Molecular characterization and response to salt stress of mRNAs encoding cytosolic Cu/Zn superoxide dismutase and catalase from *Bruguiera gymnorhiza*. *Trees*. 2002;16(2-3):94-9.
- 21- Okamoto OK, Asano CS, Aidar E, Colepicolo P. Effects of cadmium on growth and superoxide dismutase activity of the marine microalga *Tetraselmis gracilis* (prasinophyceae) 1. *J Phycol*. 1996;32(1):74-9.
- 22- Miura T, Abe F, Inoue A, Usami R, Horikoshi K. Superoxide dismutase is involved in high tolerance to copper in the deep-sea yeast, *Cryptococcus* sp. N6. *Biotechnol Lett*. 2002;24(13):1069-74.
- 23- Okamoto OK, Colepicolo P. Response of superoxide dismutase to pollutant metal stress in the marine dinoflagellate *Gonyaulax polyedra*. *Comp Biochem Physiol Part C Pharmacol Toxicol Endocrinol*. 1998;119(1):67-73.
- 24- Okamoto OK, Pinto E, Latorre LR, Bechara EJ, Colepicolo P. Antioxidant modulation in response to metal-induced oxidative stress in algal chloroplasts. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2001;40(1):18-24.
- 25- MacFarlane GR, Burchett MD. Photosynthetic pigments and peroxidase activity as indicators of heavy metal stress in the Grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. *Mar Pollut Bull*. 2001;42(3):233-40.