Modares Journal of Biotechnology. 2018;9(1):131-136

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*,
Homaei A.* *PhD*

How to cite this article
Zeinali F, Homaei 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. Mo-dares Journal of Biotechnology. 2018;9(1):131-136.

*Biochemistry Department, Science Faculty, Hormozgan University, Bandar Abbas, Iran
[1]Marine 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.homaei@hormozgan.ac.ir

Article History
Received: April 4, 2017
Accepted: October 23, 2017
ePublished: March 20, 2018

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. H_2O_2 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 $HgCl_2$ solution and a weak inhibitory effect was observed in the presence of $ZnSo_4$, $FeSo_4$, and $MgCl_2$ 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 Thallassiosira ... [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 ...

Copyright© 2018, TMU Press. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms.

Archive of SID

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسیددیسموتاز حرّای 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 حرّای (*Am*SOD) خلیج فارس و دریای عمان در برابر یون‌های فلزی بود.
مواد و روش‌ها: در پژوهش تجربی حاضر که روی برگ گونه درختی حرّا 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 کلریدمنیزیوم 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 حرّای منطقه خمیر در خلیج فارس و سیریک در دریای عمان تفاوتی ندارند.
کلیدواژه‌ها: سوپراکسیددیسموتاز، گونه حرّا، 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 پراکسیدهیدروژن (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:

$$2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$$

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 هیدروژن‌پراکسید (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 حرّا (*Avicennia marina*) اجرا شد و هدف آن ارزیابی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسیددیسموتاز حرّای (*Am*SOD) خلیج فارس و دریای عمان در برابر یون‌های فلزی بود.

مواد و روش‌ها

در پژوهش تجربی حاضر که روی گونه درختی حرّا اجرا شد، نمونه‌برداری از دو رویشگاه بندر خمیر در خلیج فارس و سیریک در دریای عمان مطابق روش *مک‌فارلان* و همکاران[14] و تیمارها در سه تکرار انجام شد. در آزمایشگاه حدود ۵گرم از برگ‌ها درون هاون چینی قرار گرفت و در نیتروژن مایع، پودر شد و با افزودن ۱۰میلی‌لیتر بافر تریس- هیدروکلراید (Tris-HCl) ۵۰میلی‌مولار و pH برابر با ۷/۵ به‌مدت ۲۰دقیقه در دور ۱۵۰۰۰دور 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- سفادکس و به‌تعادل‌رساندن آن با بافر ۵۰میلی‌مولار تریس و pH برابر با ۷/۵، محتوای سلولی دیالیزشده روی ستون بارگذاری شد. سپس ستون با بافر ۵۰میلی‌مولار 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

Archive of SID
www.SID.ir

سرعت عبور ۳میلی‌لیتر بر دقیقه جمع‌آوری شدند. نمونه‌های مثبت دارای فعالیت روی هم ریخته شد و با بافر ۵۰میلی‌مولار 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 ۵۰میلی‌مولار تریس هیدروکلراید، با pH برابر با ۸/۲ و حاوی یک‌میلی‌مولار اتیلن‌دی‌آمین‌تتراستیک‌اسید (EDTA) در دمای اتاق اندازه‌گیری شد که سوبسترای آن پیروگالول ۰/۲میلی‌مولار بود و طی آن ۵۰میکرولیتر از محلول رقیق آنزیم در ۲۸۵۰میکرولیتر از بافر تریس، ۱۰۰میکرولیتر از پیروگالول ۰/۲میلی‌مولار اضافه و مهار اتواکسیداسیون پیروگالول به پورپورگالین در بافر تریس به‌مدت ۵دقیقه اندازه‌گیری شد. سرعت مهار اتواکسیداسیون از طریق افزایش جذب در طول موج ۴۲۰نانومتر 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 ۲۰مولار) از نمک‌های کلریدسدیم، پتاسیم، کبالت، منیزیم، جیوه، مس، آهن، روی و منگنز در بافر ۵۰میلی‌مولار 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.

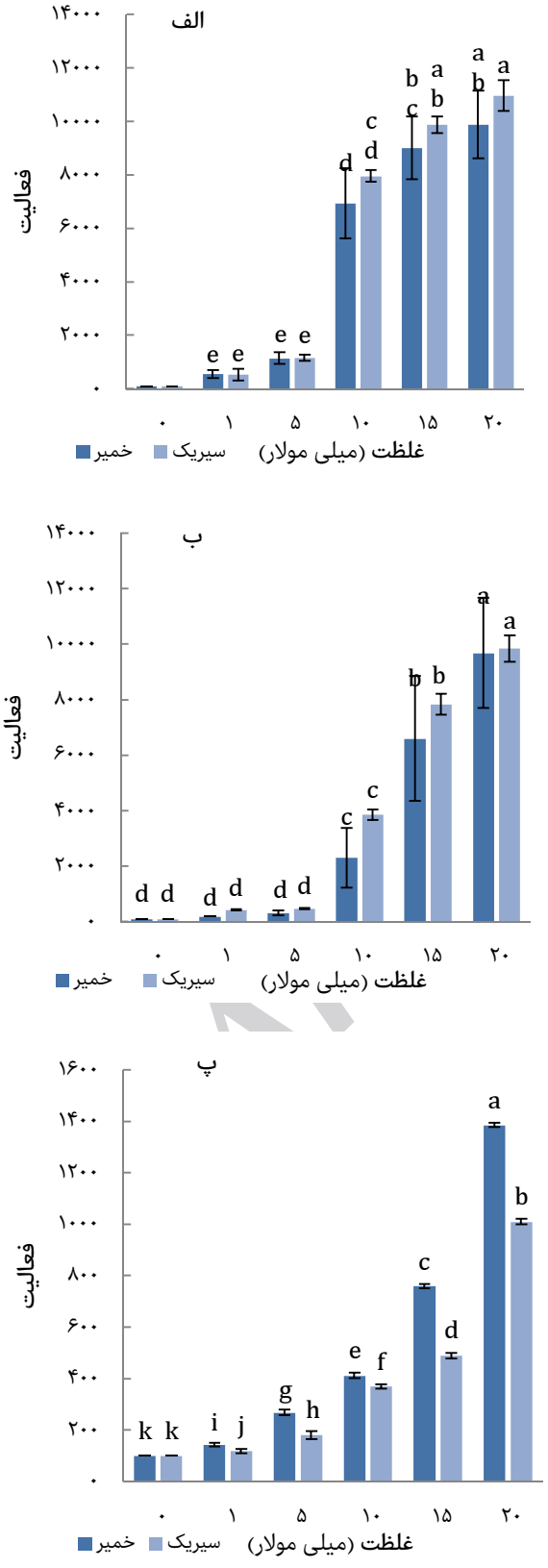
تعیین نوع آنزیم سوپراکسیددیسموتاز: به‌منظور شناسایی، ایزوآنزیم‌های مس/روی- سوپراکسیددیسموتاز (Cu/Zn-SOD)، منگنز- سوپراکسیددیسموتاز (Mn-SOD)، آهن- سوپراکسیددیسموتاز (Fe-SOD)، آنزیم خالص‌شده در محلول‌های مختلف از پتاسیم‌سیانید (KCN) و H_2O_2 در غلظت‌های مختلف در شرایط معمول آزمایشگاهی انکوبه شدند.

انواع SOD براساس کوفاکتور فلزی طبقه‌بندی می‌شوند. سه گروه از این آنزیم‌ها را می‌توان با حساسیت‌های مختلف آنها به KCN و H_2O_2 شناسایی کرد. بدین صورت که Cu/Zn-SOD به هر دو حساس است، Fe-SOD فقط به H_2O_2 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 حزا بررسی شد.

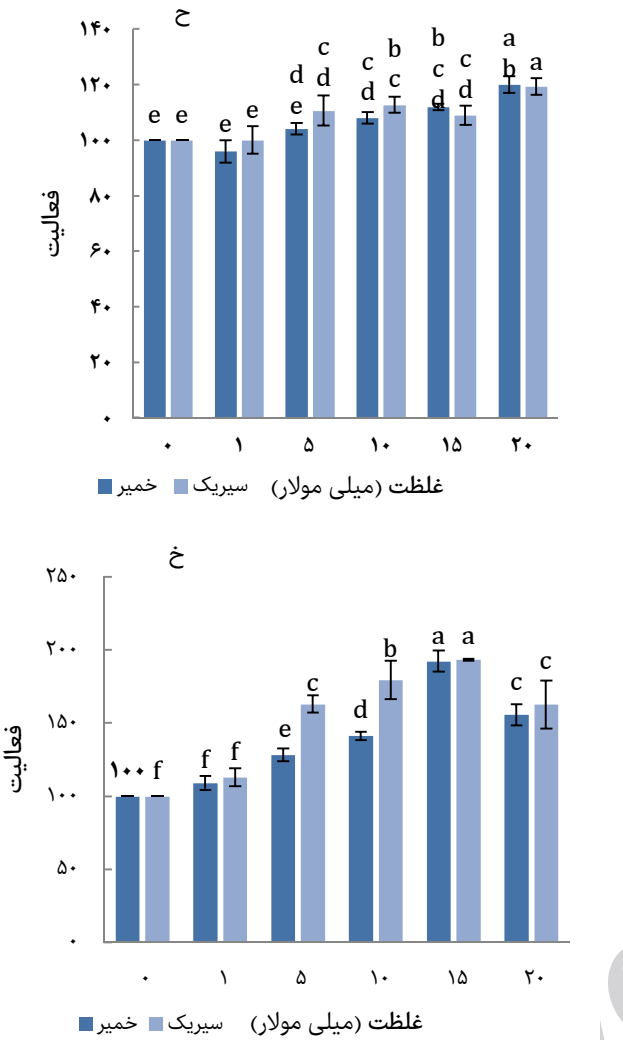
تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SPSS 19 از طریق آزمون تحلیل واریانس چندمتغیره برای بررسی تفاوت بین تیمارهای منطقه سیریک و آزمون چنددامنه‌ای دانکن برای مقایسه میانگین‌ها صورت گرفت.

یافته‌ها

تاثیر یون‌های فلزی بر فعالیت آنزیم *AmSOD*: یون‌های مس (Cu^{2+})، منگنز (Mn^{2+}) و کبالت (Co^{2+}) به‌طور قابل توجهی فعالیت SOD را افزایش دادند. اثر مهاری قوی در حضور محلول کلریدجیوه ($HgCl_2$) و اثر مهاری ضعیفی در حضور محلول سولفات‌روی ($ZnSo_4$)، سولفات‌آهن ($FeSo_4$) و کلریدمنیزیوم ($MgCl_2$) مشاهده شد. وقتی غلظت یون‌های سدیم (Na^+) و پتاسیم (K^+) بین یک تا ۲۰میلی‌مولار 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).



www.SID.ir

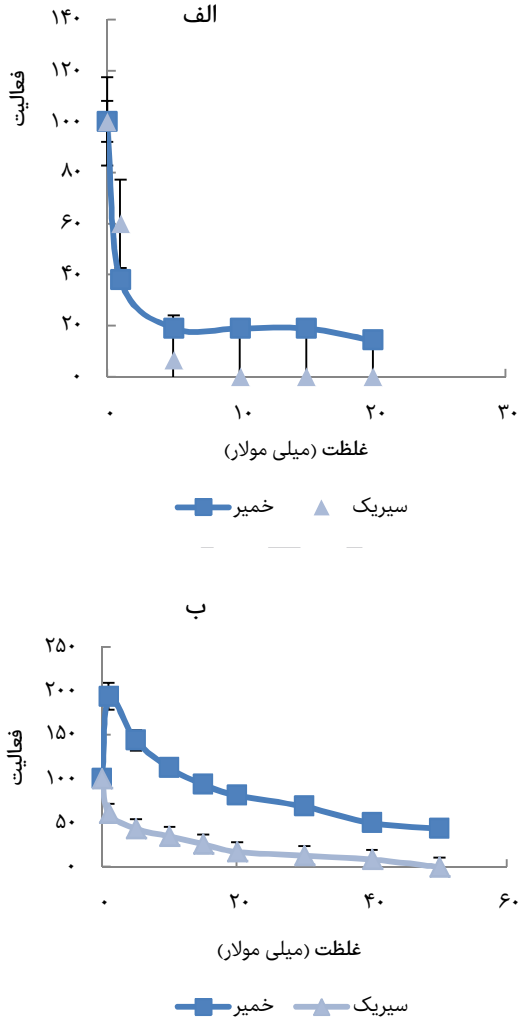


نمودار ۱) فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز *Am*SOD منطقه خمیر و سیریک در برابر یون فلزات
الف) یون فلز کبالت‌کلرید ($CoCl_2$)
ب) یون فلز سولفات‌مس ($CuSo_4$)
پ) یون فلز سولفات‌منگنز ($mnSo_4$)
ت) یون فلز سولفات‌روی ($ZnSo_4$)
ث) یون فلز سولفات‌آهن ($FeSo_4$)
ج) یون فلز کلریدجیوه ($HgCl_2$)
چ) یون فلز پتاسیم‌کلراید (KCl)
ح) یون فلز سدیم‌کلرید ($NaCl$)
خ) یون فلز کلریدمنیزیوم ($mgCl_2$)
حروف غیرهمنام نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار 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 ۱۵میلی‌مولار، آن را غیرفعال کرد (نمودار ۲). غلظت پایین H_2O_2 (۱ تا ۱۰میلی‌مولار) به‌آرامی *Am*SOD خمیر را فعال ساخت و در غلظت‌های بالاتر، فعالیت آن را کاهش داد، اما غلظت یک‌میلی‌مولار فعالیت *Am*SOD سیریک را کاهش داد و در غلظت‌های بالاتر به‌طور کامل آن را غیرفعال کرد. همچنین *Am*SOD نسبت به KCN حساس بود. افزودن یک‌میلی‌مولار KCN به محلول مورد آزمایش، فعالیت *Am*SOD را کاهش داد و در غلظت ۱۰میلی‌مولار و غلظت‌های بالاتر *Am*SOD سیریک به‌طور

Archive of SID
www.SID.ir

کامل غیرفعال شد، در حالی که *Am*SOD 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 H2O2 و KCN است.

بحث

پژوهش حاضر با هدف ارزیابی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسیددیسموتاز حزای (*Am*SOD) 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 ۱۰میلی‌مولار) *Am*SOD خمیر را فعال کرد و با افزایش غلظت، فعالیت آن کاهش یافت، اما غلظت یک‌میلی‌مولار فعالیت *Am*SOD سیریک را کاهش داد و با افزایش غلظت به‌طور کامل غیرفعال شد. علت این رویداد این است که H_2O_2 آنزیم‌های 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^+ تاثیر ناچیزی بر افزایش فعالیت SOD داشتند و وقتی غلظت این یون‌ها بین ۱ تا ۲۰میلی‌مولار بود، فعالیت آنزیم تغییر چندانی نکرد. این نشان می‌دهد که یون‌های تک‌ظرفیتی قلیایی مانند Na^+ و K^+ و رادیکال‌های اسیدی مانند Cl^- تاثیری 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 *بروژریا 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]. تاثیر مثبت Mn^{2+} بر فعالیت آنزیم EPT3 منگنز- سوپراکسیددیسموتاز جنس ژئوباسیلوس مشخص شده است. سایر یون‌های دوظرفیتی فعالیت آنزیم را مهار کرده‌اند و Cu^{2+} بیشترین تاثیر 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+}، ۱۱% و Cu^{2+}، 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 پولیدرام* (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 انباشته‌شدن فلزات در ریشه درختان حزا 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 *Am*SOD 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 تاثیر ناچیزی بر افزایش فعالیت SOD دارند. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برگ گونه درختی

www.SID.ir
Archive

حرّای 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.

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

تعارض منافع: هیچ گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

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

منابع مالی: منابع مالی این تحقیق توسط دانشگاه تربیت مدرس تامین 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 Thallassiosira 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 gymnorrhiza. 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.

Archive of SID

www.SID.ir