مقاله تحقیقی
مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۸، دوره ۷۴، شماره ۲، ۲۳۶-۲۲۹
Original Article
DOI: 10.22059/jvr.2018.239016.2679

ارزیابی توزیع بافتی آنزیم رودناز در گونه‌های بومی ماهیان رودخانه کارون

تکاور محمدیان[1]، محمد رضا تابنده[1]، حسین خاج[2]
[1]گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز ، اهواز، ایران
[2]بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان بوشهر، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، بوشهر، ایران

(دریافت مقاله: ۲۲ آبان ماه ۱۳۹۷، پذیرش نهایی: ۲۶ دی ماه ۱۳۹۷)

چکیده

زمینه مطالعه: سیانید آزاد یک سم قوی در محیط‌هایی آبزیان می‌باشد. ماهیان آب شیرین حساس‌ترین گروه آبزیان به سیانید هستند که در غلظت‌های بالاتر از ۲۰ g/L مرگ و میر بالایی ایجاد می‌شود. تماس ماهیان با یون سیانید سبب بروز استرس، افزایش مرگ و میر و بالا رفتن قابل توجه بار متابولیکی می‌شود. رودناز یک آنزیم میتوکندریایی عمومی در پروکاریوت‌ها و یوکاروت‌ها می‌باشد که یون سیانید را با تبدیل آن به تیوسیانات، سم‌زدایی می‌نماید.

هدف: هدف از این مطالعه ارزیابی و مقایسه توزیع بافتی آنزیم رودناز در بافت‌های مختلف ۴ گونه از ماهیان بومی شامل برزم، بنی، شیربت و گطان می‌باشد.

روش کار: در مطالعه حاضر ۱۰ نمونه از هر گونه ماهی (در مجموع ۴۰ نمونه) با میانگین طول ۶/۵± ۳۲/۵ و میانگین وزن ۱۱۰ ± ۴۴۰ گرم از چهار منطقه ذخیره صید رودخانه کارون شامل گتوند، شوشتر، دارخوین و اهواز جداسازی شدند. فعالیت آنزیم رودناز در بافت‌های کبد، کلیه، آبشش و روده‌ها اندازه‌گیری شد. واحد فعالیت آنزیم بر اساس میکرومول تیوسیانات تولید شده در مدت یک دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و pH =۹/۲ محاسبه و بر اساس واحد U/mg پروتئین ارایه گردید.

نتایج: فعالیت آنزیم رودناز در تمام بافت‌های مورد مطالعه و با مقادیر متفاوت تایید گردید. بیشترین میزان فعالیت آنزیم در کبد و کلیه و پس از آن در آبشش و روده‌ها بدست آمد. فعالیت ویژه آنزیم در محدوده ۰/۳۳۷-۰/۱۳۵ در کبد، ۰/۲۶۲-۰/۱۱۳ در کلیه، ۰/۱۵۷-۰/۱۲۱ در آبشش و۰/۱۶۲-۰/۰۹۴در روده‌ها بدست آمد.

نتیجه گیری نهایی: نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که آنزیم رودناز در بافت‌های مختلف گونه‌های مورد مطالعه بیان می‌شود و ممکن است در اعمال فیزیولوژیک مختلف نقش داشته باشد که تعیین دقیق این اعمال نیازمند تحقیقات بیشتر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: رودناز، آبشش، روده، کبد، توزیع بافتی، ماهیان بومی

کپی رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله تحقیقات دامپزشکی محفوظ است.

*) نویسنده مسئول: تلفن: ۰۶۱-۳۳۳۳۰۰۷۳ نمابر: ۰۶۱-۳۳۳۶۰۸۰۷ Email: t.mohammadian@scu.ac.ir

How to Cite This Article
Mohammadiyan, T., Tabande, M., Khaj, H. (2019). Comparison of Tissue Distribution of Rhodanese Enzyme in Native Species of Karoun River. J Vet Res, 74(2), 229-236. doi: 10.22059/jvr.2018.239016.2679

مقدمه

سیانید یک ترکیب بسیار سمی است که به آسانی جذب شده و به علت جلوگیری از ورود اکسیژن، باعث مرگ بافت می‌شود. بسیاری از مواد طبیعی و همچنین محصولات صنعتی حاوی سیانید می‌باشند (۲۰). منابع طبیعی از سیانید شامل گونه‌های مختلف از باکتری‌ها، جلبک‌ها، قارچ‌ها، و گیاهان عالی هستند که سیانید را دفع می‌کنند (۴۶). نمک سیانید به طور گسترده‌ای در تولید پارچه‌های مصنوعی، پلاستیک، در صنعت معادن فلزی برای بازیافت فلزات گرانبها مثل طلا و نقره از سنگ معدن و به طور گسترده به عنوان عامل آفت‌کش و واسطه در کشاورزی برای تولید مواد شیمیایی استفاده می‌شود. بنابراین، سیانیدها یکی از دسته‌های مهم مواد شیمیایی سمی نگران‌کننده در فاضلاب‌های دریافتی توسط موجودات زنده آبزی هستند (۲۵،۴۴). سیانیدها به آسانی در سراسر غشاء آبشش جذب می‌شوند و به صورت قوی و سریع‌الاثر باعث القاء کاهش اکسیژن وهایپوکسی سمی در بافت می‌شوند. ماهی‌های آب شیرین حساس‌ترین گروه از موجودات آبزی نسبت به مسمومیت با سیانید هستند. مرگ و میر بالا در غلظت‌های بالاتر از ۲۰ µg/l سیانید آزاد و اثرات سوء بر روی شنا و تولید مثل در غلظت‌های بالاتر از ۵ µg/l در ماهیان گزارش شده است (۲۱). با این حال، تنوع درحساسیت به سیانید در ماهی‌های مختلف گزارش شده است (۱۹). در گزارشاتی کشته شدن حجم عظیمی از ماهی‌ها و سایر موجودات زنده آبزی ناشی از تخلیه تصادفی زباله‌های سیانیدی نیز اعلام شده است (۲۱،۲۲). رودناز (تیوسولفات: سولفورترانسفراز سیانید؛EC ۲،۸،۱،۱)، آنزیمی است که در همه موجودات زنده، از باکتری تا انسان فعال است (۴،۱۰،۱۷،۳۳،۴۰). رودناز یک سولفورترانسفراز می‌باشد که در شرایط آزمایشگاهی، تشکیل تیوسیانات از سیانید و تیوسولفات و یا دیگر دهندگان مناسب سولفور را تسریع می‌کند. این اعتقاد وجود دارد که رودناز در سم‌زدایی سیانید دخیل است (۶،۱۷،۲۶،۲۷،۴۷).

نقش رودناز در سم‌زدایی سیانید بوسیله غلظت‌های بالای این آنزیم در برخی از بافت‌ها و اندام‌های در معرض سیانیددر پستانداران، مانند کبد، پشتیبانی می‌شود (۴۳). با این حال، شواهدی وجود دارد که آنزیم رودناز ممکن است درگیر وظایفی دیگر، از جمله تشکیل مراکز سولفور آهن (۱۳)، مشارکت در سوخت و ساز انرژی (۱۲،۳۶)، و عملکردی به عنوان یک دیوردوکسین اکسیداز (۳۴)، شود. اکثر بافت‌ها دارای ویژگی صفات آنزیمی هستند که در ارتباط با عملکرد بافت می‌باشد. فعالیت اختصاصی رودناز در بافت، در طیف گسترده‌ای از گونه‌ها گزارش شده است (۱،۳،۵،۷،۱۰،۱۷،۱۸،۴۰). کپورماهیان بزرگترین گروه ماهی‌های پرورشی آب شیرین با اهمیت تجاری بالا می‌باشند. چهار گونه از این ماهیان شامل برزم (*Luciobarbus barbulus*)، بنی (*Mesopotamichthys sharpey*)، شیربت (*Tor grypus*) و گطان (*Luciobarbus xanthopterus*) بعنوان ماهیان بومی استان خوزستان می‌باشند. پراکنش این چهار گونه درجهان، محدود به قسمت‌هایی از ایران، عراق و سوریه است .هر چهار گونه در برنامه‌های بازسازی ذخایر منابع آبی شیلات بصورت مصنوعی تکثیر شده و سالانه بیش از ۲۰ میلیون قطعه بچه ماهی از این چهار گونه درمنابع آبی استان رهاسازی یا بصورت پلی‌کالچر همراه سایر کپورماهیان در استخرهای خاکی پرورش داده می‌شوند (گزارش آماری شیلات، ۲۰۰۱۵-۲۰۰۰). علی‌رغم اهمیت بالای آنزیم رودناز در مسمومیت‌زدایی یون سیانید در بافت‌های گونه‌های مختلف، اطلاعات بسیار کمی از فعالیت و توزیع بافتی این آنزیم در بسیاری از گونه‌های ماهی دردسترس می‌باشد.

در مطالعه حاضر توزیع بافتی آنزیم رودناز در بافت‌های مختلف چهار گونه فوق بررسی و مقایسه شد تا براساس نتایج آن بتوان از این اطلاعات در بازسازی ذخایر و نیز مطالعات دیگر روی اثر آلودگی با سیانید بر فون ماهیان بومی استان استفاده نمود.

مواد و روش کار

آماده سازی ماهیان مورد آزمایش: در این مطالعه گونه‌های ماهیان بومی شامل برزم (*Luciobarbus barbulus*)، بنی (*Mesopotamichthys sharpey*)، شیربت (*Tor grypus*) و گطان (*Luciobarbus xanthopterus*) مورد استفاده قرار گرفتند. برای انجام آزمایش ۱۰ نمونه از هر گونه ماهی (در مجموع ۴۰ نمونه) با میانگین طول ۶/۵± ۳۲/۵ و میانگین وزن ۱۱۰ ± ۴۴۰ استفاده شدند. ماهی‌ها از چهار منطقه ذخیره صید رودخانه کارون شامل گتوند، شوشتر، دارخوین و اهواز جداسازی و به آزمایشگاه آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز انتقال یافتند.

ارزیابی آنزیم‌های رودناز: در آزمایشگاه ماهیان آسان‌کشی و کالبدگشایی شدند و بافت‌های کبد، کلیه، آبشش و روده‌ها به سرعت جداسازی و با سرم فیزیولوژی شسته شدند. همه نمونه‌های بافتی تا زمان آنالیز در فریزر ۲۰°C- نگهداری شدند. به منظور ارزیابی فعالیت رودناز در بافت‌های مذکور ابتدا با استفاده از بافر هموژن کننده (تریس ۵۰ Mmol، Triton X-۱۰۰ ۰/۱درصد، کلرید سدیم ۱۵۰ Mmol، سدیم فلوراید ۱Mmol، ۱ EDTAMmol، ۱SDS/۰درصد) بافت‌ها هموژن شدند. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و مایع رویی جهت ارزیابی فعالیت آنزیم مورد استفاده قرار گرفت. فعالیت آنزیم رودناز با استفاده از روش اصلاح شده Sorbo (۱۹۵۸) در بافت‌های کبد، کلیه، آبشش و روده‌ها اندازه‌گیری شد. بطور خلاصه مقدار۵۰ ml نمونه هموژن شده به۴ ml مخلوط واکنش حاوی تیوسولفات Mmol ۱۶/۸، بافر گلیسین ۴۰ Mmol و سیانید پتاسیم ۱۶۷ Mmol با pH=۹/۲ اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ °C انکوبه شد. واکنش با افزودن

جدول ۱. مقایسه میانگین ± انحراف معیار فعالیت آنزیم رودناز در بافت‌های مختلف ماهی شیربت *Tor grypus*.

گونه ماهی	کبد	کلیه	روده	آبشش
بنی ***Mesopotamichthys sharpey***	۰/۳۲۸ ± ۰/۰۷۸	۰/۲۳۸ ± ۰/۰۳۱	۰/۱۱۳ ± ۰/۰۲۱	۰/۱۶۷ ± ۰/۰۴۱
شیربت ***Tor grypus***	۰/۲۹۷ ± ۰/۰۶۴	۰/۲۱۹ ± ۰/۰۵۱	۰/۱۲۴ ± ۰/۰۱۷	۰/۱۳۸ ± ۰/۰۲۷
گطان ***Luciobarbus xanthopterus***	۰/۳۱۱ ± ۰/۰۵۷	۰/۲۲۷ ± ۰/۰۵۲	۰/۱۱۶ ± ۰/۰۱۱	۰/۱۵۲ ± ۰/۰۴۶
برزم ***Luciobarbus barbulus***	۰/۳۴۱ ± ۰/۰۹۲	۰/۲۳۰ ± ۰/۰۴۶	۰/۱۰۹ ± ۰/۰۳۱	۰/۱۷۲ ± ۰/۰۴۳

۰/۵ ml فرمالدئید ۳۸درصد متوقف شد. در نمونه شاهد فرمالدئید همزمان به نمونه آنزیم به مخلوط واکنش اضافه شـد. سپسبه منظور تعیین میزان تیوسیانات تشکیل شده، ۱ ml محلول رنگزا (۰/۰۲۵ ۳ (NO۳) Fe درml ۰/۷۴ آب وml ۰/۲۶ نیتریک اسـید غلیظ) به هر نمونه اضافه و با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. جذب مایع رویی در طول موجnm ۴۶۰ در مقابل شـاهد قرائت گردید. مقدار تیوسیانات تولید شـده در هر واکنش با رسـم نمودار استاندارد تغییرات غلظت‌های مختلف تیوسـیانات(Mmol/L ۲۰۰-۵) در مقابل جذب نمونه‌ها محاسـبه گردید. واحد فعالیت آنزیم بر اسـاس Mmol تیوسیانات تولید شده در مدت یک دقیقه در دمای ۳۷ درجه سـانتی‌گراد و pH=۹/۲ محاسبه و بر اساس واحد U/mg پروتئین ارایه گردید. مقدار پروتئین در نمونه‌های هموژن بافتی با استفاده از روش برادفورد و آلبومین سرم گاوی (mg/ml) بعنوان استاندارد اندازه‌گیری شد.

آنالیز آماری: تجزیه و تحلیل‌های آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSSنسـخه ۱۸ انجام شد. مقایسه فعالیت آنزیم بین بافتهای مختلف در یک گونه و بین یک بافت در گونه‌های مختلف با استفاده از آزمون مستقل t انجام شد. سطح معنی‌داری داده‌ها $P<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

نتایج

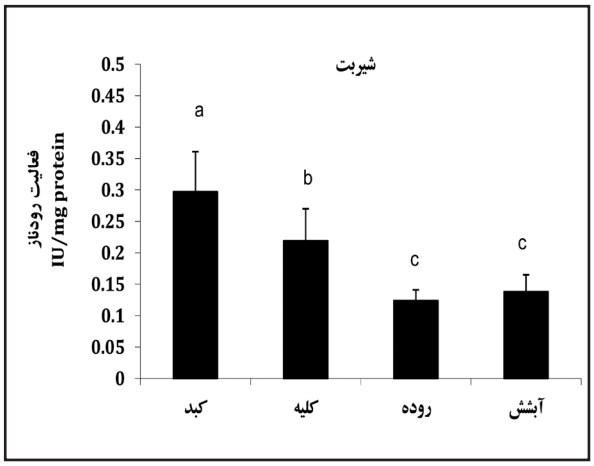
فعالیت اختصاصی رودناز در بافت‌های مختلفماهیان بومی مورد مطالعه، در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود بیشترین فعالیت رودناز در کبد مربوط به ماهی برزم (*Luciobarbus barbulus*) با میانگین ۰/۰۹۲ ± ۰/۳۴۱ و کمترین فعالیت آن مربوط به ماهی شیربت (Torgrypus) بـا میانگین ۰/۰۶۴ ±۰/۲۹۷ بود. بیشـترین فعالیت رودناز در کلیـه مربوط به ماهـی بنـی (*Mesopotamichthys sharpey*) با میانگیـن ۰/۰۳۱ ±۰/۲۳۸ و کمترین فعالیت آن مربوط به ماهی شـیربت (*Tor grypus*) با میانگین ۰/۰۵۱ ± ۰/۲۱۹ بود. بیشترین فعالیت رودناز در روده مربوط به ماهی شیربت (*Tor grypus*) با میانگین ۰/۰۱۷ ± ۰/۱۲۴ و کمترین فعالیت آن مربوط به ماهی برزم (*Luciobarbus barbulus*) با میانگین۰/۰۳۱ ± ۰/۱۰۹ بود. بیشـترین فعالیت رودناز در آبشش مربوط به ماهی بـرزم (*Luciobarbus barbulus*) با میانگین۰/۰۴۳ ±۰/۱۷۲ و کمترین فعالیت آن مربوط به ماهی شیربت (*Tor grypus*) با میانگین ۰/۰۲۷ ±۰/۱۳۸ بود. نتایج تحقیق حاضر نشاندهنده الگوی متفاوت فعالیت رودناز در بافت‌های هر گونه بود. در تمام گونه‌ها بالاترین فعالیت رودناز در بافت کبد مشـاهده شد (نمودار ۱). در گونه‌های گطان و بنی فعالیت رودناز در بافت‌های کلیه و آبشش اختلاف معنی‌داری نداشت (نمودار ۲). در گونه شـیربت فعالیت آنزیم رودناز در بافت‌های آبشش و روده مشابه بود (نمودار ۱). در تمام گونه‌ها فعالیت رودناز در روده‌ها کمترین میزان را نشان داد.

بحث

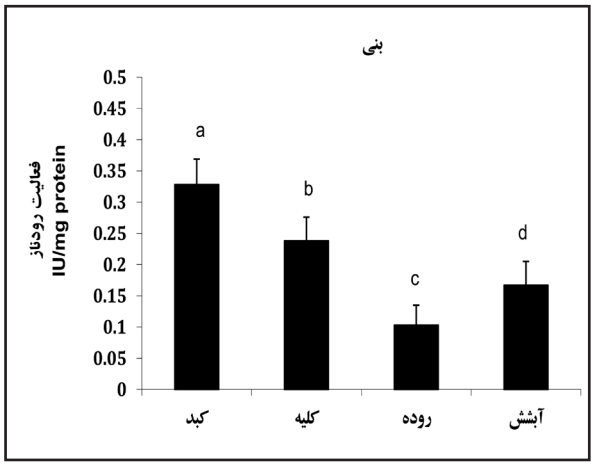
سـیانید یک سم قوی و گسـترده در محیط زیست است. مسمومیت با سـیانید در انسـان و سـایر حیوانات یک موضوع سم‌شناسـی و زیست محیطی مهم می‌باشد. تبدیل آنزیمی سیانید به تیوسیانات توسط رودناز، به عنوان مسـیر اصلی سوخت و ساز سیانید درحیوانات در نظر گرفته می‌شود (۶،۱۳،۴۷). سـطح رودناز موجود در بافت‌های مختلف جانوران با میزان در معرض قرار گرفتن آن‌ها با سـیانید، در ارتباط است (۶،۹،۳۰). یک ارتباط نزدیک بین فعالیت رودنازو تولید سـیانید در گیاهان گزارش شده است که نشان می‌دهد این آنزیم مکانیسمی مهم برای سم‌زدایی سیانید در گیاهان سـیانوژنیک، می‌باشـد (۴۱). رودناز همچنین یک آنزیم کلیدی درگیر در سم‌زدایی سیانید در ماهی است (۲۴). این حقیقت که گونه‌های مختلف گربه ماهی و دیگرحیوانات قادر به انطباق و زنده ماندن در زیستگاه‌های آلوده به سیانید هستند، منجر به این فرضیه شده است که آنزیم رودناز ایمنی ذاتی در برابر سمیت سیانید را برای گربه ماهی و سایر آبزیان فراهم می‌کند (۲).

در مطالعـه حاضـر، بالاترین فعالیـت رودناز در هر چهـار گونه مورد بررسی در کبد مشاهده شد، در حالیکه کمترین فعالیت آن در روده بود. در مطالعات قبلی، افزایش سطح فعالیت رودنازدر کبد ماهی مجاور با سیانید، گزارش شده است (۱۴). در مطالعه دیگری که بر روی ماهی دامسل زندانی (*Dascyllus aruanus*) در معرض سیانید قرار گرفته، انجام شد تفاوت معنی‌داری در فعالیت رودناز کبد بین تیمارهای مختلف رخ داد.

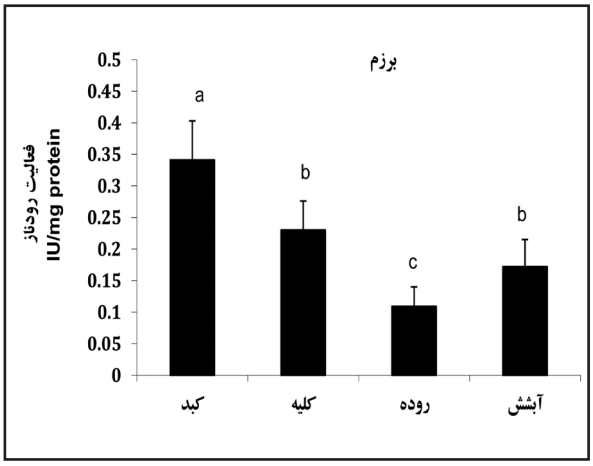
امـا این تغییرات در فعالیت آنزیم، به میزان مواجهه با سـیانید ارتباط نداشته است (۲۴). رودناز از آبشش و کلیه ماهی نیز جدا شده، اما بیشترین فعالیت آن در کبد بوده است (۲۹). بالاترین میانگین فعالیت اختصاصی رودناز در کبد و کلیه گونه‌های کپور قبلا گزارش شده است (۳،۵،۱۷،۱۸،۳۷،۴۸). در مطالعه‌ای که توسـط Baghshani و Aminlari در سـال ۲۰۱۲، بر روی چهار گونه ماهی کپور انجام شد، بیشترین میزان فعالیت آنزیم رودناز در هـر چهـار گونه مورد مطالعه در کبد و کلیه بدسـت آمد. نتایج مطاللعه



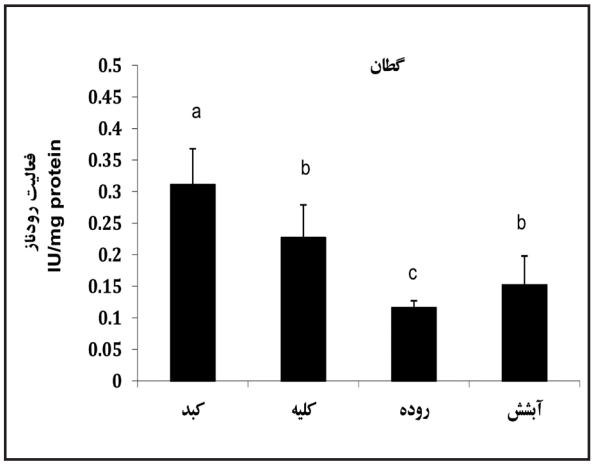
نمودار۱. مقایسه میانگین ± انحراف معیار فعالیت آنزیم رودناز در بافت‌های مختلف ماهی شیربت *Tor grypus* (n=۱۰). حروف نامتشابه بر روی نمودارها نشاندهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $P<۰/۰۵$ می باشد.



نمودار۲. مقایسه میانگین ± انحراف معیار فعالیت آنزیم رودناز در بافت‌های مختلف بنی *Mesopotamichthys sharpey* (n=۱۰). حروف نامتشابه بر روی نمودارها نشاندهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $P<۰/۰۵$ می باشد.



نمودار۳. مقایسه میانگین ± انحراف معیار فعالیت آنزیم رودناز در بافت‌های مختلف برزم *Luciobarbus barbulus* (n=۱۰). حروف نامتشابه بر روی نمودارها نشاندهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $P<۰/۰۵$ می باشد.



نمودار۴. مقایسه میانگین ± انحراف معیار فعالیت آنزیم رودناز در بافت‌های مختلف گطان *Luciobarbus xanthopterus* (n=۱۰). حروف نامتشابه بر روی نمودارها نشاندهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $P<۰/۰۵$ می‌باشد.

حاضر با نتایج مطالعات فوق همخوانی دارد. به نظر می‌رسد که الگوی توزیع رودناز در ماهی‌های بومی در مطالعه حاضر به طور زیاد به گونه و بافت خاص مربوط می‌باشد. همچنین، فعالیت آنزیم در یک بافت خاص ممکن است منعکس کننده توانایی آن بافت در سم‌زدایی سیانید باشد (۳). در مطالعه حاضر فعالیت اختصاصی رودناز (۰/۳۴۱ واحد آنزیم/ میلی گرم پروتئین) در عصاره خام کبد ماهی برزم (*Luciobarbus barbulus*) بالاتر از ماهیان بومی دیگر بود که در مقایسه با مطالعه Akinsiku و همکاران در سال ۲۰۱۰، فعالیت اختصاصی رودناز در گربه ماهی آفریقایی *Clarias gariepinus* بیشتر از مقدار کنونی برای گونه‌های بومی بود که می‌توان دلیل آن را وجود مقدار زیاد سیانید و تحمل بالای این ماهی نسبت به سیانید موجود در محیط زندگی‌اش دانست. با این حال، در برخی از گونه‌های جانوری نشان داده شده است که سایر ارگان‌ها به عنوان مثال دستگاه گوارش (۶،۸،۴۰) و یا غدد آدرنال (۲۶) دارای فعالیت‌های بالاتری از رودناز هستند. از سویی دیگر، میزان فعالیت رودناز کبد و کلیه برای گونه‌های بومی در مطالعه حاضر، نسبت به داده‌های بدست آمده در گزارشات قبلی برای جانوران دیگر کمتر است (۱،۳،۵). Dudeck و همکاران در سال ۱۹۸۰، گزارش دادند که فعالیت اختصاصی رودناز کبد در ماهی در مقایسه با موش، همستر، و قورباغه پایین‌تر است. نتایج مطالعات فوق با نتایج مطالعه حاضر متفاوت است که این احتمالاً به علت تفاوت‌های بین گونه‌ای، وضعیت تغذیه‌ای، و یا دیگر عوامل ناشناخته است. با این حال، فعالیت‌های بالاتر رودناز در کبد گونه‌های بومی مورد مطالعه، ممکن است به طورکلی به نقش کبد به عنوان ارگان اصلی تغییر شکل دهنده زیستی در فرآیندهای سم‌زدایی سیانید نسبت داده شود (۱). از میان بافت‌های دیگر، فعالیت اختصاصی رودناز در کلیه به صورت قابل توجهی نسبت به روده و آبشش در همه گونه‌های بومی بیشتر بود. سیانید ابتدا وارد جریان خون ماهی می‌شود و سپس از طریق آبشش و روده به سرعت در سایر بافت‌های بدن پراکنده می‌شود (۳۲). یک منبع بزرگ از سیانید در طبیعت گلیکوزیدهای سیانوژنیک هستند. فعالیت آنزیمی فلور میکروبی

دستگاه گوارش بر این گلیکوزیدهای بلع شده از طریق مواد غذایی، سیانید هیدروژن سمی را آزاد می‌کند. سیانوژن‌ها در حال حاضر به عنوان مواد ضد تغذیه‌ای در برخی از مواد مشتق شده از گیاهان (مانند ریشه محصولات زراعی همچون دانه کتان) هستند که به عنوان مواد تشکیل دهنده خوراک ماهی می‌باشند (۲۳). تحقیقات نشان داده است که مصرف خوراک ماهی محتوی مواد غذایی سیانوژن مانند بذر کتان، در مقایسه با ماهیان دریافت کننده غذای کنترل موجب کاهش رشد می‌شوند (۲۷،۴۵). پایین بودن فعالیت آنزیم رودناز که در این مطالعه مشاهده گردید ممکن است توجیهی بر کاهش رشد ناشی از مصرف غذاهای حاوی سیانید بالا در ماهیان باشد.

آبشش، به عنوان ارگان تنفسی ماهی، در طول مواجهه با سیانید محیط زیست، متمایل به تماس مستقیم با سیانید است. از این رو، فعالیت نسبتاً بالاتر رودناز در این بافت‌ها احتمالاً سم زدایی مناسب سیانید را قبل از انتقال آن از طریق جریان خون به اندام‌های دیگر، ثابت می‌کند. در مطالعه حاضر، روده و آبشش ماهیان بومی فعالیت رودناز را نشان دادند، اگر چه مقدار آن پایین‌تر از کبد و کلیه است. وجود رودناز در بافت‌های مختلف، دیگر عملکردهای مهم بیولوژیکی این آنزیم را علاوه بر سم‌زدایی سیانید نشان می‌دهد. با توجه به جرم کل عضلات، نقش تمام رودناز بدنو کل سیانید تغییر شکل دهنده زیستی، می‌تواند قابل توجه باشد (۱۶). این مسئله مطرح شده است که فعالیت رودناز ممکن است تحت تأثیر رژیم غذایی باشد (۳۹). با مطالعه گونه‌های ماهیان بومی می‌توان آن‌ها را بر اساس عادات غذایی به گوشتخوار (*Luciobarbus barbulus*) و همه‌چیز خوار (*Tor grypus* و *Mesopotamichthys sharpey* و *Luciobarbus xanthopterus*)، طبقه‌بندی نمود (۱۱). گونه‌های ماهی که مقدار قابل توجهی از خوراک خود را توسط مواد گیاهی به دست می‌آورند، احتمالاً در معرض سطح بالاتری از گلیکوزیدهای سیانوژنیک قرار می‌گیرند. با این حال، نبودن تفاوت‌های بین گونه‌ای در فعالیت‌های آنزیمی بافت‌های مختلف نشان می‌دهد که عادات تغذیه‌ای، اثر قابل توجهی بر سطح رودناز در گونه‌های مختلف ماهیان بومی ندارد. به طور خلاصه، این مطالعه نشان داد که آنزیم رودناز در بافت‌های مختلف چهار گونه ماهیان بومی استان خوزستان بیان شده و داری فعالیت است. حضور رودناز در بافت‌های مختلف نشان می‌دهد که این آنزیم ممکن است در بسیاری ازفعالیت‌های فیزیولوژیکی در این گونه‌ها، نقش داشته باشد. مطالعات آینده برای روشن شدن خواص مولکولی رودناز از دخالت آنزیم در دیگر فرآیندهای بیولوژیکی علاوه بر سم‌زدایی سیانید و امکان ایجاد شرایط پاتوفیزیولوژیکی در این گونه‌ها، مورد نیاز است.

تشکروقدردانی

نویسندگان مقاله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز و قطب علمی آبزیان بدلیل تامین هزینه‌های پروژه تشکر و قدردانی می‌نمایند.

تعارض در منافع

بین نویسندگان هیچ گونه تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Agboola, F.F. (2006). Activities of thiosulfate and 3-mercaptopyruvate sulfurtransferases in poultrybirds and fruit bat. J Biol Sci, 6, 833-839.
2. Akinsiku, O.T., Agboola, F.K., Kuku, A., Afolayan, A. (2010). Physicochemical and kinetic characteristics of rhodanese from the liverof African catfish *Clarias gariepinus* Burchell in Asejire lake. Fish Physiol Biochem, 36 (3), 573-586.
3. Al-qarawi, A., Mousa, H.M., Ali, B.H. (2001). Tissue and intracellular distribution of rhodanese and mercaptopyruvate sulphotransferasesin ruminants and birds. Vet Res, 32, 63-70. https://doi.org/10.1051/vetres:2001110
4. Aminlari, M. (1995). Probing the active site of rhodanese with disulfide reagents. J Sci I R, Tehran, Iran 6, 1-7.
5. Aminlari, M., Gilanpour, H. (1991). Comparative studies on the distribution of rhodanese in different tissues of domestic animals. Comp Biochem Physiol B, 99, 673-677.
6. Aminlari, M., Shahbazi, M. (1994). Rhodanese (thiosulfate: cyanide sulfur transferase) distribution in the digestive tract of chicken. Poult Sci, 73, 1465-1469. https://doi.org/10.3382/ps.0731465
7. Aminlari, M., Vaseghi, T., Kargar, M. (1994). The cyanide-metabolizing enzyme rhodanese in different parts of the respiratory system sof sheep and dog. Toxicol Appl Pharmacol, 124, 67-71. https://doi.org/10.1006/taap.1994.1009
8. Aminlari, M., Gilanpour, H., Taghavianpour, H., Veseghi, T. (1989). Comparative studies on the distribution of rhodanese and betamercaptopyruvatesulfurtransferase in different organs of sheep (*Ovis aries*) and cattle (*Bos taurus*). Comp Biochem Physiol C, 92 (2), 259-262.
9. Aminlari, M., Malekhusseini, A., Akrami, F., Ebrahimnejad, H. (2007). Cyanide-metabolizing

enzyme rhodanese in human tissues:comparison with domestic animals. Comp Clin Pathol, 16, 47-51.
10. Baghshani, H., Aminlari, M. (2009). Comparison of rhodanese distributionin different tissues of Japanese quail, partridge, and pigeon. Comp Clin Pathol, 18, 217-220.
11. Baghshani, H., Aminlari, M. (2012). Tissue distribution of the enzyme rhodanesein four cyprinid fish species. Comp Clin Pathol, 21, 719-723.
12. Bonomi, F., Pagani, S., Cerletti, P., Canella, C. (1997). Rhodanese-mediatedsulfur transferase to succinate dehydrogenase. Eur J Biochem, 72, 17-24.
13. Cerletti, P. (1986). Seeking a better job for an underemployed enzyme: rhodanese. Trends Biochem Sci, 11, 369-372. https://doi.org/10.1016/0968-0004(86)90206-9
14. Chew, S.F., Ip, Y.K. (1992). Cyanide detoxification in the mudskipper, *Boleophthalmus boddaerti*. J Exp Zool, 261,1-8. https://doi.org/10.1002/jez.1402610102
15. Dahl, A.R., Hadley, W.M. (1991). Nasal cavity enzymes involved inxenobiotic metabolism: effects on the toxicity of inhalants. Crit Rev Toxicol, 21(5), 345-372. https://doi.org/10.3109/10408449109019571
16. Devlin, D.J., Mills, J.W., Smith, R.P. (1989). Histochemical localization of rhodanese activity in rat liver and skeletal muscle. Toxicol Appl Pharmacol, 97, 247-255. https://doi.org/10.1016/0041-008X(89)90329-3
17. Drawbaugh, R.B., Marrs, T.C. (1987). Interspecies differences inrhodanese (thiosulfate: cyanide sulfurtransferase, EC.2.8.1.1) activity in liver, kidney, and plasma. Comp Biochem Physiol B. 86, 307-310.
18. Dudeck, M., Frrendo, J., Koj, A. (1980). Subcellular compartmentation of rhodanese and β-mercaptopyruvate sulfurtransferase in the liverof some vertebrate species. Comp Biochem Physiol B, 65, 383-386. https://doi.org/10.1016/0305-0491(80)90031-0
19. Dzombak, D.A., Ghosh, R.S., Wong-Chong, G.M. (2005). Cyanide in water and soil: chemistry, risk, and management. Taylor and Francis/CRC Press, Boca Raton, USA. (1st ed.) Bioscience, Engineering & Technology. p. 616.
20. Egekeze, J.O., Oehme, F.W. (1980). Cyanides and their toxicity: a literature review. Vet Quart, 2, 104-114. https://doi.org/10.1080/01652176.1980.9693766
21. Eisler, R., Wiemeyer, S.N. (2004). Cyanide hazards to plants and animals from gold mining and related water issues. Rev Environ Contam Toxicol, 183, 21-54.
22. Eisler, R., Clarke, D.R., Wiemeyer, S.N., Henry, C.J. (1999). Sodium cyanide hazards to fish and other wildlife from gold mining operations. In: Environmental Impacts of Mining Activities, Azcue, J.M. (ed.). Springer, Berlin. p. 55-67.
23. Francis, G., Makkar, H.P.S., Becker, K. (2001). Antinutritional factorspresent in plant-derived alternate fish feed ingredients and theireffects in fish. Aquaculture, 199, 197-227. https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00526-9
24. Hanawa, M., Harris, L., Graham, M., Farrell, A.P., Bendell-Young, L.I. (1998). Effects of cyanide exposure on *Dascyllus aruanus*, atropical marine fish species: lethality, an aesthesia and physiological effects. Aquar Sci Conserv, 2, 21-34.
25. Heath, A.G. (1995). Water pollution and physiology. (2nd ed.) CRC Press, Boca Raton, FL. Virginia, USA. p. 359.
26. Himwich, W.A., Saunders, J.P. (1948). Enzymatic conversion of cyanideto thiocyanate. Am J Physiol, 153, 348-354. https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1948.153.2.348
27. Hossain, M.A., Jauncey, K. (1989). Nutritional evaluation of some Bagladeshi oilseed meals as partial substitutes for fishmeal inthe diet of common carp, *Cyprinus carpio* L. Aquac Res, 20, 255-268. https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.1989.tb00351.x
28. Koj, A., Frendo, J. (1962). The activity of cysteine desulphydrase and rhodanese in animal tissues. Biochem Pol, 9, 373-379.
29. Leduc, G. (1984). Cyanide in water: toxicological significance. In: Weber, L.J. (ed.). Aquatic

toxicology, vol 2. Raven, New York, USA. p. 153-224.

30. Lewis, J.L., Rhoad, C.E., Bice, D.E., Harkema, J.R., Hotchkiss, J.A., Sylvester, D.M., Dahl, A. (1992). Interspecies comparison and cellular localization of the cyanide metabolizing enzyme rhodanese within olfactory mucosa. Anat Rec, 232, 620-627. https://doi.org/10.1002/ar.1092320417
31. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.C., Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the Folinphenol reagent. J Biol Chem, 193, 265-275.
32. Mak, K.K.W., Yanase, H., Renneberg, R. (2005). Cyanide fishing and cyanide detection in coral reef fish using chemical tests and biosensors. Biosens Bioelectron, 20, 2581-2593. https://doi.org/10.1016/j.bios.2004.09.015
33. Nagahara, N., Ito, T., Minami, M. (1999). Mercaptopyruvate sulfurtransferaseas a defense against cyanide toxication: molecular properties and mode of detoxification. Histol Histopathol, 14, 1277-1286.
34. Nandi, D.L., Horowitz, P.M., Westley, J. (2000). Rhodanese as thioredoxin oxidase. Int J Biochem Cell Biol, 32, 465-473. https://doi.org/10.1016/S1357-2725(99)00035-7
35. Nazifi, S., Aminlari, M., Alaibakhsh, M.A. (2003). Distribution of rhodanese in tissues of goat (*Capra hircus*). Comp Biochem Physiol B, 134, 515-518. https://doi.org/10.1016/S1096-4959(03)00003-4
36. Ogata, K., Dai, X., Volini, M. (1989). Bovine liver rhodanese is a phosphoprotein. J Biol Chem, 254, 2718-2725.
37. Oh, S.Y., Jalaludin, S., Davis, R.H., Sykes, A.H. (1977). The activity of avian rhodanese. Br Poult Sci, 18, 385-389. https://doi.org/10.1080/00071667708416377
38. Picton, R., Eggo, M.C., Merrill, G.A., Langman, M.J.S., Singh, S. (2002). Mucosal protection against sulphide: importance of the enzyme rhodanese. Gut, 50, 201-205. http://dx.doi.org/10.1136/gut.50.2.201
39. Saidu, Y. (2004). Physicochemical features of rhodanese: a review. Af J Biotechnol, 3(4), 370-374. http://dx.doi.org/10.5897/AJB2004.000-2071
40. Shahbazkia, H.R., Aminlari, M., Tavana, M. (2009). Distribution of theenzyme rhodanese in tissues of the cat (*Felis catus*). J Feline Med-Surg, 11, 305-308. https://doi.org/10.1016/j.jfms.2008.07.006
41. Smith, J., Urbanska, K.M. (1986). Rhodanese activity in *Lotus corniculatus* sensu-lato. J Nat Hist, 20(6), 1467-1476.
42. Sorbo, B.H. (1953). Crystalline rhodanese. I. Purification and physiochemical examination. Acta Chem Scand, 7, 1129-1136. https://doi.org/10.3109/10715769109049142
43. Sylvester, D.M., Sander, C.C. (1990). Immuno histochemical localization of rhodanese. Histochem J, 22, 197-200.
44. Towill, L.E., Drury, J.S., Whitfield, B.L., Lewis, E.B., Galyan, E.L., Hammons, A.S. (1978). Reviews of the environmental effects of pollutants, V. Cyanide, U.S. Environ. Prot. Agency Rep. 600/1-78-027. p. 191.
45. Ufodike, E.B.C., Matty, A.J. (1983). Growth responses and nutrient digestibility in mirror carp (*Cyprinus carpio*) fed different levelsof cassava and rice. Aquaculture, 31, 41-50. https://doi.org/10.1016/0044-8486(83)90256-9
46. Way, J.L. (1984). Cyanide intoxication and its mechanism of antagonism. Ann Rev Pharmacol Toxicol, 24, 451-481. https://doi.org/10.1146/annurev.pa.24.040184.002315
47. Westley, J. (1973). Rhodanese. Adv Enzymol, 39, 327-368.

Comparison of Tissue Distribution of Rhodanese Enzyme in Native Species of Karoun River

Takavar Mohammadian[1], **Mohammad Reza Tabande**[1], **Hossein Khaj**[2]

[1]*Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran*

[2]*Animal Sciences Research Department, Bushehr Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Boushehr, Iran*

(Received 13 November 2018, Accepted 16 January 2019)

Abstract:

BACKGROUND: Free cyanide is a potent toxic agent in the aquatic environment. Freshwater fish are the most cyanide-sensitive group with high mortality at free cyanide concentrations above 20 µg/L. Exposure to cyanide ions can cause stress, increased mortality and place an appreciable metabolic load on fishes. Rhodanese is a ubiquitous mitochondrial enzyme in both prokaryotes and eukaryotes that detoxifies cyanide (CN-) by converting it to thiocyanate (SCN).

OBJECTIVES: The purpose of this investigation was to determine and compare the pattern of tissue distribution of Rhodanese in different tissues of four native Barbus fish including *Mesopotamichthys sharpey*, *Tor grypus*, *Luciobarbus xanthopterus* and *Luciobarbus barbulus*.

METHODS: Fishes (10 from each species) with length of 32.5 ± 6.5 and weight of 440 ± 110 were collected from five major fishing reservoirs of Karoun River including Gotvand, Shushtar, Molasani, Darkhoine and Ahvaz. Rhodanese activity was assayed by the method of Sorbo in the liver, kidney, gill and intestine. The unit of enzyme activity was defined as micromoles thiocyanate formed per minute at 37 °C and pH 9.2 and enzyme activity was expressed as U/mg protein.

RESULTS: Rhodanese activity was detected in all tissues studied, albeit in different amounts. Specific activities of Rhodanese (U/mg protein) in different tissues ranged from 0.135 to 0.337 in the liver, 0.113 to 0.262 in the kidney, 0.121 to 0.157 in the gill, and 0.094 to 0.162 in the intestine, respectively.

CONCLUSIONS: The highest activity of Rhodanese in all four species was observed in the liver and kidney, followed by the gill and intestine. Our results suggest that Rhodanese may be functional in many physiological activities in these species which needs to be clarified in detailed.

Keyword:

Rhodanese, Gill, Intestine, Liver, Tissue distribution, Native fish

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Comparison of mean ± standard deviation of Rhodnase enzyme activity in different tissues of *Tor grypus*.

Graph 1. Comparison of mean ± standard deviation of Rhodnase enzyme activity in different tissues of *Tor grypus* (n = 10). The characters on the graphs show a significant statistical difference at the level of (P<0.05).

Graph 2. Comparison of mean ± standard deviation of Rhodnase enzyme activity in different tissues of *Mesopotamichthys sharpey* (n = 10). The characters on the graphs show a significant statistical difference at the level of (P<0.05).

Graph 3. Comparison of mean ± standard deviation of Rhodnase enzyme activity in different tissues of *Luciobarbus barbulus* (n = 10). The characters on the graphs show a significant statistical difference at the level of (P<0.05).

Graph 4. Comparison of mean ± standard deviation of Rhodnase activity in different *Luciobarbus xanthopterus* decay tissues (n = 10). The characters on the graphs show a significant statistical difference at the level of (P<0.05).

***Corresponding author's email: t.mohammadian@scu.ac.ir, Tel: 061-33330073, Fax: 061-33360807**