



ارتباط صفات آنتی اکسیدانی عصاره داینوفلاژله‌ی همزیست *Symbiodinium sp.* تحت عوامل فیزیوشیمیایی طی فصول مختلف در خلیج‌های فارس و عمان

سروناز بی غم سوستانی^۱، مرتضی یوسف زادی^{۲*}، بهروز زارعی دارکی^۳، محمد شریف رنجبر^۴

۱. گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

۲. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه قم، قم، ایران

۳. گروه زیست شناسی دریا، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

۴. پارک زیست فناوری خلیج فارس، جزیره قشم، ایران

چکیده

سفید شدن مرجان‌ها، از بین رفتن جلبک‌های همزیست داینوفلاژله *Symbiodinium sp.* و یا رنگدانه‌های ریز جلبک فتوسنتز کننده از میزبان مرجانی آن‌ها در چند دهه اخیر به دلیل افزایش دمای آب دریا و تغییرات فاکتورهای فیزیوشیمیایی به یک اتفاق عادی تبدیل شده است. بررسی حساسیت به سفید شدن در مرجان‌ها، فیزیولوژی جلبک همزیست و ظرفیت آن برای مقابله با استرس غیر زیستی امری ضروری است. استرس اکسیداتیو با توجه به اینکه می‌تواند از اختلال عملکرد فتوسنتزی ناشی از دما و سایر فاکتورهای فیزیوشیمیایی ناشی شود از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. هدف از این مطالعه مقایسه اثرات فاکتورهای فیزیوشیمیایی بر عملکرد فتوسنتزی داینوفلاژله *Symbiodinium sp.* همزیست با شقایق دریایی *Stichodactyla haddoni* در خلیج فارس و خلیج عمان است. برای تعیین اینکه آیا *Symbiodinium sp.* همزیست کشت شده دارای حساسیت‌های متفاوتی نسبت به استرس اکسیداتیو است یا خیر و آیا فصل زمستان و تابستان بر استرس اکسیداتیو و مقابله با آن نقش دارد از تست DPPH و روش احیای یون فریک (FRAP) استفاده شد و فاکتورهای فیزیوشیمیایی از طریق دستگاه پروتابل HQ40D اندازه‌گیری شد. همچنین داده‌های هوا (سرعت باد) از وب سایت www.irimo.ir دریافت شد. آنالیز آماری از طریق آنالیز واریانس یک طرفه در سطح ۰/۰۵ و تجزیه و تحلیل نقشه حرارتی انجام شد. نتایج نشان داد که بیشترین ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره *Symbiodinium sp.* در ساحل چابهار در فصل زمستان $135/768 \mu\text{gr/ml}$ (IC50) و کمترین ظرفیت آنتی اکسیدانی آن در ساحل چابهار در تابستان $5349/090 \mu\text{gr/ml}$ (IC50) است. احیا یون فریک عصاره‌های *Symbiodinium sp.* بیشترین مهار را در مقایسه با آسکوربیک اسید در غلظت 2 mg/ml (۰/۲۹۷) و کمترین مهار را در غلظت $0/063 \text{ mg/ml}$ (۰/۱۵) در ساحل چابهار در فصل زمستان نشان داد.

نوع مقاله

پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۲/۰۱

تاریخ چاپ الکترونیک: ۱۴۰۱/۱۱/۰۸

*نویسنده مسئول:

morteza110110@gmail.com

کلید واژه‌ها: آنتی اکسیدان، زیست فناوری، خلیج فارس، خلیج عمان، صخره‌های مرجانی، *Symbiodinium sp.*

مقدمه

علی‌رغم اهمیت و ماندگاری صخره‌های مرجانی در طول زمان‌های مختلف زمین‌شناسی یکی از آسیب‌پذیرترین اکوسیستم‌های دریایی صخره‌های مرجانی هستند، (Hoegh-Guldberg *et al.*, 1999). در سال‌های اخیر، کاهش شدید صخره‌های مرجانی رخ داده است، به طوری که تخمین زده می‌شود ۳۰ درصد از آن‌ها به شدت آسیب‌دیده باشند و تا سال ۲۰۳۰ تقریباً ۶۰ درصد از آن‌ها از بین بروند (Hughes *et al.* 2011., Robinson *et al.*, 2022, Donner., 2009, Hughes *et al.* 2012).

صخره‌های مرجانی اغلب توسط رویدادهای طبیعی مانند طوفان و رسوب‌گذاری در معرض تهدید قرار می‌گیرند، اما آن‌ها می‌توانند با این رویدادهای پراکنده مقابله و سازگار می‌شوند. یک عامل بسیار مهم‌تر، افزایش دخالت‌های انسانی در چند دهه اخیر است که این تأثیرات محلی شامل پساب، اتروفیکاسیون (Grigg., 1994) و صید بیش‌ازحد (Norström *et al.* 2009) است. در مقیاس جهانی، صخره‌های مرجانی با گرمایش جهانی (Hughes *et al.*, 2003, Hoegh-Guldberg *et al.*, 2007,) (Harrison *et al.*, 2011) و اسیدی شدن اقیانوس‌ها (Mair., 2022, Kleypas and Yates 2009, Crawley *et al.*, 2010) مواجه هستند که هر دو ناشی از افزایش سطوح گازهای گلخانه‌ای (به‌ویژه CO₂) در جو است (Baumann *et al.*, 2022). سفید شدگی مرجانی از بین رفتن داینوفلاژله‌های همزیست و یا رنگدانه‌های فتوسنتزی آن‌ها در پاسخ به استرس است. از این رو مرجان رنگ خود را از دست می‌دهد و در نهایت سبب مرگ مرجان می‌شود (Gates *et al.*, 1992, Douglas., 2003). سفید شدن مرجان‌ها می‌تواند به دلیل طیف وسیعی از تنش‌های محیطی مانند اشعه ماوراءبنفش، افزایش و یا کاهش شوری و عفونت میکروبی ایجاد شود (Berkelmans and Oliver 1999, Rosenberg and Falkovitz 2004) اما تنش اصلی که صخره‌های مرجانی را تحت تأثیر قرار می‌دهد شامل افزایش دمای آب دریا بالاتر از حد معمول به همراه افزایش نور است (Mair., 2022, Perez *et al.* 2001).

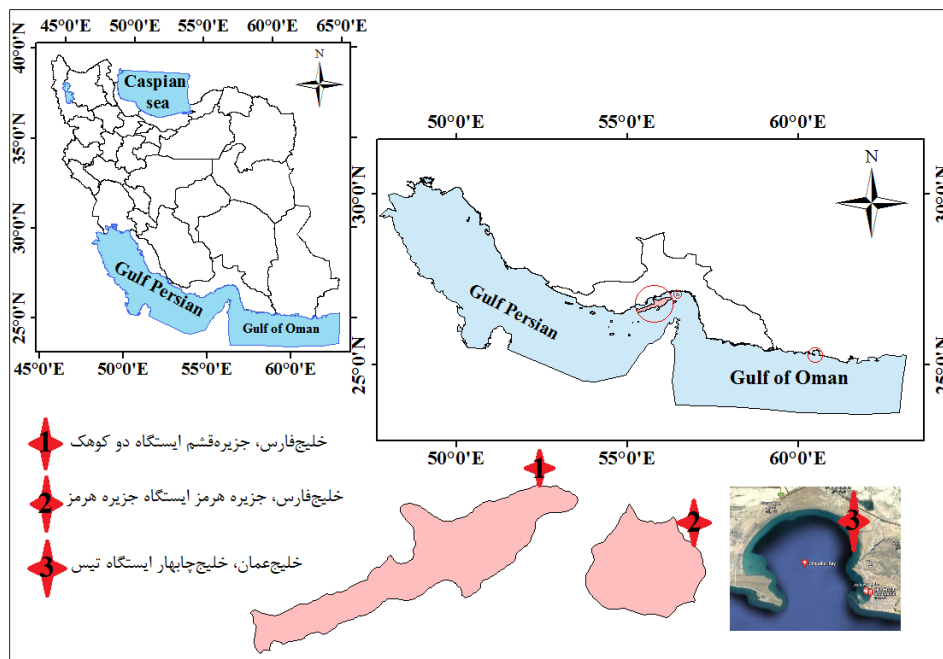
تغییرات در شیمی اقیانوس‌ها به‌ویژه تغییرات سریع مانند اسیدیته دارای اثرات مستقیم و غیرمستقیم بر روی این گونه‌ها و زیستگاه‌های آن‌ها است. افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن و اسیدی شدن اقیانوس‌ها از اثرات مستقیم محسوب می‌شود که قادر است کل مراحل چرخه زندگی موجودات را تحت تأثیر قرار دهد. اثرات غیرمستقیم شامل تأثیر بر تأمین مواد غذایی یا ترکیبات غذایی است. (Raven *et al.*, 2005; Marsh., 2008). سلامت مرجان *Porites compressa* در شمال مناطق ساحلی خلیج فارس توسط Kourandeh و همکاران (۲۰۱۳) مورد ارزیابی قرار گرفت و نتیجه گرفتند که دما یک عامل اثرگذار بر شاخص میتوزی است به‌صورت که بیشترین شاخص میتوزی را در فصل گرم برآورد کردند (Kourandeh *et al.*, 2013). همچنین ارزیابی تغییرات فصلی در تراکم zooxanthellae توسط Fagoonee و همکاران (۱۹۹۹) بررسی شد و تغییرات فصلی را به‌عنوان عامل اثرگذار در تراکم همزیست عنوان کردند. جوامع مرجانی خلیج فارس قادر به تحمل دما در بالاترین آستانه‌ی دمایی هستند، این در حالی است که در تابستان‌هایی که دما به‌طور غیرمعمول گرم می‌شود، دما به‌عنوان عامل از بین رفتن و یا خروج همزیست‌های مرجانی محسوب می‌شود که در نهایت به سفید شدن مرجان و از بین رفتن آن‌ها منجر می‌شود (Riegl *et al.*, 2011; Paparella *et al.*, 2019; Burt *et al.*, 2019). افزایش شوری یکی از عواملی است که می‌تواند مقاومت مرجان‌ها را نسبت به فشار حاصل از تنش‌های محیطی افزایش دهد این افزایش شوری در محدوده‌ی ppt ۳۵ تا ۴۰ گزارش شده است (Coles and Jokiel., 1978). اکوسیستم‌های بازمانند اقیانوس تا پایان قرن به دلیل تغییرات جوی حاصل از افزایش غلظت‌های pH و دی‌اکسیدکربن تغییر می‌یابند که در نهایت منجر به شکوفایی جلبک‌های مضر می‌شوند (Raven *et al.*, 2020). رنگدانه‌ها حاوی ترکیبات آلی هستند که آنها را قادر می‌سازد طول‌موج‌های خاصی از نور برای تولید رنگ‌های زیستی را جذب کنند. رایج‌ترین نوع رنگدانه کاروتنوئیدها هستند. رنگدانه‌ها دارای عملکردهای زیستی مختلف از جمله خواص آنتی‌اکسیدان، ضد سرطان، ضد درد، محافظت در برابر اشعه ماوراءبنفش، پاسخ ایمنی و مقاومت در برابر بیماری‌ها در حیوانات و انسان‌ها هستند (Lorenz and Cysewski., 2000). داینوفلاژله‌ها دارای رنگدانه‌های کلروفیل c، a، β کاروتن و

۷ کاروتن و ۷ نوع گزانتوفیل (عمدتاً پریدینین، فوکوگزانتین، دینوگزانتین) هستند (Zarei Darki and Krakhmalny, 2019). Benstein و همکاران (۲۰۱۴) کاروتنوئیدها را به عنوان رنگدانه‌های دارای خواص آنتی اکسیدانی معرفی کردند. هدف از این مطالعه بررسی تأثیرات فاکتورهای فیزیوشیمیایی بر فعالیت ضد اکسایشی داینوفلاژله *Symbiodinium sp.* همزیست با شقایق دریایی *Stichodactyla haddoni* در مناطق مطالعاتی است که در نتایج تأثیرگذارترین فاکتور مشخص شده است.

مواد و روش

نمونه برداری *Stichodactyla haddoni*

نمونه برداری شقایق دریایی *Stichodactyla haddoni* طی دو فصل تابستان و زمستان در سواحل شمالی خلیج فارس و خلیج عمان در سه منطقه انجام شد. مناطق نمونه برداری شامل: ۱. ایستگاه خلیج فارس، حاشیه جزیره قشم واقع در دو کوهک با مختصات (26°59'40.4"N 56°11'39.9"E) ۲. ایستگاه خلیج فارس، جزیره هرمز واقع در جزیره هرمز (27°04'50.1"N 56°29'25.9"E) ۳. ایستگاه خلیج عمان، خلیج چابهار، واقع در تیس (25°21'49.6"N 60°36'22.1"E) انتخاب شدند (شکل ۱). فاکتورهای فیزیوشیمیایی از طریق دستگاه پرتابل با قابلیت اندازه گیری فاکتورهای pH، EC، DO، Salinity، TDS، O₂، %O₂، مدل HQ40D با سه تکرار اندازه گیری شد.



شکل ۱. مکان‌های نمونه برداری در سه ایستگاه خلیج فارس و خلیج عمان

نحوه استخراج *Symbiodinium sp.* همزیست با شقایق دریایی *Stichodactyla haddoni*

ابتدا برای شستن مواد خارجی چسبیده به صفحه‌ی دهانی *Stichodactyla haddoni* با استفاده از آب دریای فیلتر شده پاکسازی انجام شد و در ادامه با استفاده از تیغ بیستوری قسمت‌هایی از صفحه دهانی برش داده شد و ورتکس با استفاده از

هموژنایزر دستی Thomas 3431E10EA به همراه ۵CC آب دریای فیلتر شده انجام شد. سوسپانسون یکدست ایجاد شده در فالکن ۵۰CC انتقال یافت و به مدت ۵ دقیقه با دور ۲۰۰۰ g و دمای ۴°C سانتریفیوژ (یخچال‌دار) شد. بافت و لیپیدهای شقایق دریایی که در مایع رویی قرار داشت را دور ریختیم و رسوب حاوی *Symbiodinium sp.* همزیست را مجدد با آب دریای فیلتر شده سانتریفیوژ (یخچال‌دار) شد. تمام مراحل ذکر شده در نور کم و دمای پایین (روی یخ) انجام گرفت (Jeffrey and Haxo., 1968). پس از حذف آلودگی به‌وسیله‌ی شستشو، درنهایت به هر نمونه ۱۰۰۰µl آنتی‌بیوتیک (یک ترکیب آنتی‌بیوتیکی کانامایسین (۵۰ میکروگرم در لیتر)، آمپی‌سیلین (۱۰۰ میکروگرم در لیتر) و استرپتومایسین (۵۰ میکروگرم در لیتر) (۱) اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴°C قرار گرفت (Polne-Fuller., 1991; Olivieri et al., 2014).

کشت *Symbiodinium sp.*

محیط کشت ASP-12 جهت کشت داینوفلاژله *Symbiodinium sp.* مورد استفاده قرار گرفت. یکی از رایج‌ترین محیط‌های مورد استفاده برای کشت داینوفلاژله‌ها محیط کشت ASP-12 است، حجم مورد نیاز از محیط کشت ASP-12 تهیه شد، در دستگاه اتوکلاو قرار داده و استریل شد. سپس محیط کشت مایع در دمای 1 ± 27 درجه سانتی‌گراد و دوره‌ی روشنی ۱۴ ساعت جهت رسیدن به فاز مورد نظر، بعد از ۳۰ روز نگهداری شدند (McLachlan., 1973; Benstein et al., 2014).

عصاره‌گیری از *Symbiodinium sp.*

نمونه‌های استفاده شده جهت عصاره‌گیری شامل نمونه‌ی کشت شده در شرایط آزمایشگاهی و نمونه‌ی استخراج شده *Symbiodinium sp.* از بافت *Stichodactyla haddoni* بود. ابتدا توسط فریز درایر ساخت کره مدل opr-fdu-7012 نمونه‌ها جهت عصاره‌گیری خشک شد. سپس یک گرم از پودر ریز جلبک در ۵۰ میلی‌لیتر متانول به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی قرار گرفت و سوپرناتانت را برداشته شد و روی رسوب مجدد ۵۰ میلی‌لیتر متانول ریخته شد و ۲۴ ساعت در تاریکی قرار گرفت. عصاره به‌دست آمده از مرحله دوم نیز با استفاده از کاغذ صافی فیلتر و به عصاره مرحله اول اضافه شد. درنهایت متانول توسط روتاری در دمای اتاق حذف و عصاره‌های خشک شده تا زمان استفاده در دمای ۱۸°C - نگهداری شدند (Yousefzadi et al., 2014).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی

روش DPPH^۱

یکی از رایج‌ترین روش‌های سنجش خاصیت آنتی‌اکسیدان تست DPPH است (Gulcin., 2020). رادیکال آزاد DPPH یک رادیکال آزاد پایدار با یک الکترون منفرد است که حداکثر جذب را در ۵۱۷ nm نشان می‌دهد، آنتی‌اکسیدان‌ها یک هیدروژن از دست می‌دهند و با الکترون منفرد رادیکال آزاد واکنش می‌دهند که موجب تشکیل یک طیف رنگی از صورتی تیره تا زرد می‌شوند. در واقع این طیف رنگی بر اساس الکترون‌های جذب شده طی واکنش در محیط ایجاد می‌شود که قابل اندازه‌گیری

^۱ . 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

است (Ganesan *et al.*, 2011; Jacob-Lopes *et al.*, 2020). در این مطالعه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به‌وسیله‌ی رابطه‌ی ۱ محاسبه شد (Widowati *et al.*, 2017).

ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

$$\% \text{of inhibition} = \frac{AC-AS}{AC} \times 100$$

در این رابطه Ac^2 میزان جذب نوری کنترل منفی است که در آن تمام مواد به‌استثنای عصاره‌ها وجود دارد، As^3 جذب نوری غلظت‌های مختلف عصاره‌های *Symbiodinium sp.* است و Af^4 درصد جذب نهایی هر عصاره در یک غلظت معین و بیانگر درصد مهارکنندگی آن بر روی رادیکال آزاد است. در نهایت غلظتی که در آن عصاره‌های *Symbiodinium sp.* دارای مهار ۵۰ درصد رادیکال‌های DPPH (IC_{50}) بودند محاسبه شد که در آن هرچه عدد کوچک‌تر باشد قدرت آنتی‌اکسیدانی یا مهار رادیکال‌های آزاد بیشتر است. در این آزمایش از BHT^۱ که یک آنتی‌اکسیدان نسبتاً قوی است به‌عنوان استاندارد استفاده شد. جهت انجام این تست پنج غلظت مختلف (میکروگرم ۴۰۰، ۲۴۰، ۱۴۰، ۸۰، ۴۰) از عصاره‌های ریز جلبک استفاده شد. به‌این‌ترتیب که غلظت‌های مختلف هر عصاره پس از انتقال به پلیت الایزا (۹۶ خانه) به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در معرض محلول DPPH قرار گرفت. سپس، به‌وسیله دستگاه الایزا ساخت آمریکا مدل Epoch2 در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانش شد. هر غلظت چهار تکرار داشت و برای هر نمونه و هر غلظت آن یک بلانک شامل کل مواد به‌جز عصاره با چهار تکرار در نظر گرفته شد.

روش FRAP^۲

این تست بر اساس توانایی احیای Fe^{3+} به Fe^{2+} است که موجب تبدیل $TPTZ-Fe^{3+}$ به کمپلکس $TPTZ-Fe^{2+}$ می‌شود و در طول موج ۷۰۰ nm توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Cecil BioQuest CE 2501 انگلستان) خوانش شد (Oyaizu., 1986). در این تست اگر جذب افزایش یابد یعنی قدرت احیاکنندگی نمونه بالا است. برای بلانک این تست، تمام مواد مورد استفاده جهت آزمایش به‌جز عصاره استفاده گردید و آسکوربیک اسید به‌عنوان استاندارد در نظر گرفته شد. جهت انجام این تست، غلظت‌های مختلف عصاره *Symbiodinium sp.* جداشده از شقایق، خالص‌سازی و کشت‌شده در آزمایشگاه (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ۰/۰۶۳، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲) استفاده شد که ۱/۲۵ ml بافر فسفات (مولار ۰/۱، pH = ۶/۶) و ۱/۲۵ میلی‌لیتر پتاسیم فری سیانید (۱w/v) به آن افزوده شد و به مدت ۲۰ دقیقه در بن‌ماری دمای $50 \pm 1^\circ C$ (MEMMERT WNB14 آلمان) قرار داده شد. سپس ۱/۹۲ ml از محلول برداشته شد و به لوله‌های جدید ریخته شد و در ادامه به نمونه‌ها یک میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید (Aa) و یک میلی‌لیتر آب مقطر و در نهایت ۰/۲ ml کلروفریک (۱w/v) اضافه و ورتکس شد و بلافاصله جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۰۰ nm به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر خوانش شد.

^۱ . Absorbance of control

^۲ . Absorbance of sample

^۳ . Final absorbance

^۴ . Butylated hydroxy toluene

^۵ . Ferric reducing ability of plasma

تجزیه و تحلیل داده‌های

بررسی رابطه بین افزایش غلظت و درصد جذب از رگرسیون خطی بین غلظت‌های مختلف هر عصاره و درصد جذب آن‌ها استفاده شد برای مقایسه پتانسیل آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها از شاخص IC50 برای هر عصاره با استفاده از معادله خط آن محاسبه و استفاده شد. برای هر تیمار حداقل سه تکرار و حداکثر چهار تکرار در نظر گرفته شد. میانگین‌ها و انحراف معیار با استفاده از حداقل چهار تکرار در هر غلظت محاسبه و برای مقایسه معنی‌داری آماری بین میانگین‌های مختلف از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA و آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار فیشر (LSD) و دانکن در نرم‌افزار SPSS (V20) استفاده گردید. سطح معنی‌داری آزمون‌ها ۵ درصد در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل خوشه سلسله مراتبی (HCA) نقشه حرارتی بر اساس همبستگی پیرسون در R رسم شد.

نتایج

صفات آنتی‌اکسیدانی عصاره داینوفلازله‌ی همزیست *Symbiodinium sp.* تحت عوامل فیزیکیوشیمیایی طی فصول مختلف در خلیج‌های فارس و عمان مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج حاصل از اندازه‌گیری فاکتورهای فیزیکیوشیمیایی طی دو فصل در خلیج فارس و خلیج عمان به شرح زیر آورده شده است (جدول ۱). به‌طور خلاصه دمای آب از تابستان به زمستان کاهش یافته است، این در حالی است که در خلیج عمان پایین‌ترین دما در فصل تابستان برآورد شد و میانگین حداکثر دما بین ایستگاه‌های مطالعاتی خلیج فارس و خلیج عمان ۳۴/۹۰ درجه سانتی‌گراد به جزیره هرمز و کمترین دما ۲۰/۶۰ ایستگاه جزیره قشم تعلق داشت و میانگین تغییرات شوری ppt ۳۸/۴۰ زمستان هرمز تا ۴۰/۷۱ تابستان هرمز ثبت شد و تغییرات pH بین ۷/۹۶ در زمستان هرمز تا ۸/۴۴ در تابستان هرمز بود و میانگین تغییرات اکسیژن محلول بین ۱۲/۹۰ میلی‌گرم در لیتر در زمستان چابهار و ۶/۹۰ میلی‌گرم در لیتر در تابستان هرمز بود.

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار به همراه مقایسه میانگین فاکتورهای فیزیکیوشیمیایی مناطق مورد مطالعه در خلیج‌های فارس و عمان و محیط کشت *Symbiodinium sp.* در شرایط آزمایشگاهی.

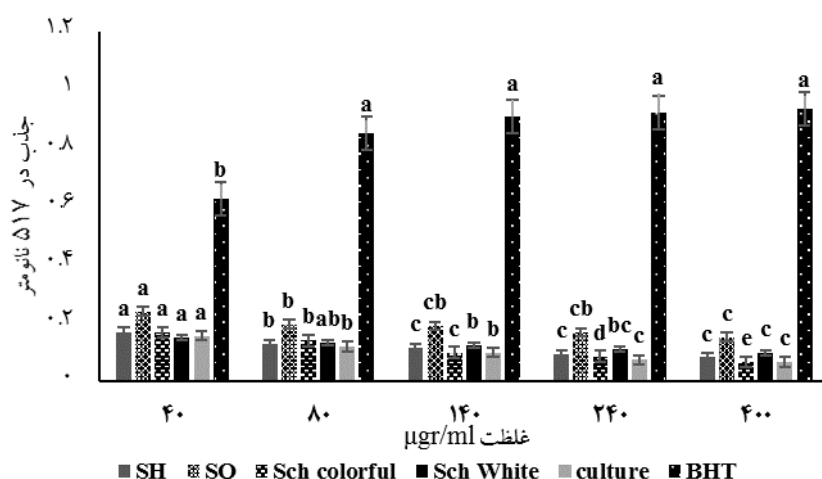
حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها بر اساس آزمون دانکن $P < 0.05$ است.

Culture	WCHX±SD	SCHC, X±SD	WQ, X±SD	SQ, X±SD	WH, X±SD	SH, X±SD	فاکتورهای فیزیکیوشیمیایی
۹/۰۲۳±۰/۰۱۵ ^d	۱۲/۹۰±۰/۰۱ ^f	۶/۹۵±۰/۰۱ ^a	۹/۹۱±۰/۰۱ ^e	۷/۳۹±۰/۰۱ ^b	۸/۲۴±۰/۰۱ ^c	۶/۹۰±۰/۰۱ ^a	(DO) اکسیژن محلول mg/liter
۸/۸۱±۰/۰۱۵ ^e	۸/۴۱±۰/۰۱ ^{cd}	۸/۲۵±۰/۰۰۵ ^b	۸/۲۰±۰/۰۱ ^b	۸/۳۵±۰/۰۱ ^c	۷/۹۶±۰/۰۱ ^a	۸/۴۴±۰/۰۱ ^d	pH
۳۸/۶۳±۰/۰۵ ^b	۳۹/۱۰±۰/۰۱ ^e	۳۹/۷۰±۰/۰۱ ^e	۳۹/۶۰±۰/۰۱ ^e	۳۹/۴۰±۰/۰۱ ^d	۳۸/۴۰±۰/۰۱ ^a	۴۰/۷۱±۰/۰۱ ^f	شوری ppt

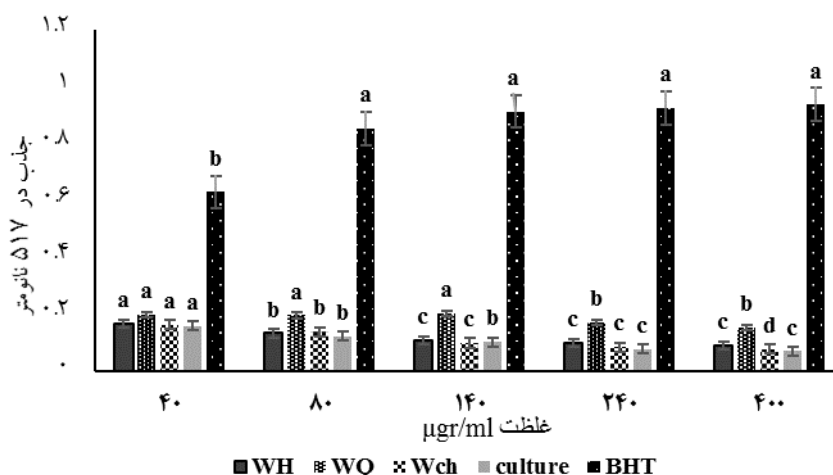
Culture	WCHX±SD	SCHC, X±SD	WQ, X±SD	SQ, X±SD	WH, X±SD	SH, X±SD	فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی
	۱۶۶±۰/۰۵۷ ^c	۲۵/۵۰±۰/۱۰ ^d	۲۴/۶۰±۰/۱۰ ^c	۲۰/۶۰±۰/۱۰ ^a	۳۳/۰۳±۰/۶ ^f	۱۱۰±۰/۱۰ ^b	دمای °C
	۲۶					۲۲	
	۱/۴۳±۰/۰۵ ^b	۱/۲۰±۰/۱۰ ^e	۱/۶۰±۰/۱۰ ^b	۱۰۷/۹۰±۰/۱۰ ^c	۱۰۹/۳۰±۰/۱۰ ^d	۹۳/۳۳±۰/۵۷ ^a	اکسیژن %
	۱۰۲	۱۵۸	۱۰۲				
	-	۱۰/۸ ^a	۱۸ ^c	۲۸/۸ ^d	۱۴/۴ ^b	۱۴/۴ ^b	سرعت باد
اختصار	مناطق، رنگ	فصل	نمونه	اختصار	مناطق، رنگ	فصل	نمونه
WQ	قشم، بنفش، سبز	زمستان	۶	SH	هرمز، بنفش، سبز	تابستان	۱
SCh colo	چابهار، قهوه‌ای	تابستان	۷	WH	هرمز، بنفش، سبز	زمستان	۲
WCh	چابهار، قهوه‌ای	زمستان	۸	SQ	قشم، بنفش، سبز	تابستان	۳
SCHW	چابهار، سفید	تابستان	۹	Culture	آزمایشگاه	عصاره <i>Symbiodinium m</i> خالص و کشت شده	۴

نتایج فعالیت ضد اکسایشی به وسیله DPPH

فعالیت آنتی اکسیدانی کل غلظت‌های مختلف عصاره *Symbiodinium sp.* جدا شده از شقایق در فصل‌های تابستان و زمستان و خالص‌سازی و کشت شده در آزمایشگاه در شکل‌های ۲ و ۳ نشان داده شده است. بیشترین فعالیت در ۱۳۵/۷۶۸ IC50 در مقایسه با BHT در عصاره زمستان چابهار بود و کمترین فعالیت در عصاره *Symbiodinium sp.* جدا شده در تابستان چابهار با ۳۴۹/۰۹۰ IC50 مشاهده شد.



شکل ۲. فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH) عصاره *Symbiodinium* sp. در فصل تابستان بر اساس درصد بازدارندگی در مقایسه با BHT به‌عنوان استاندارد (در نمودار رقت ۱/۱۰۰ در نظر گرفته شده) در غلظت‌های مختلف. حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) است (آزمون دانکن).



شکل ۳. فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH) عصاره *Symbiodinium* sp. در فصل زمستان بر اساس درصد بازدارندگی در مقایسه با BHT به‌عنوان استاندارد (در نمودار رقت ۱/۱۰۰ در نظر گرفته شده) در غلظت‌های مختلف. حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) است (آزمون دانکن).

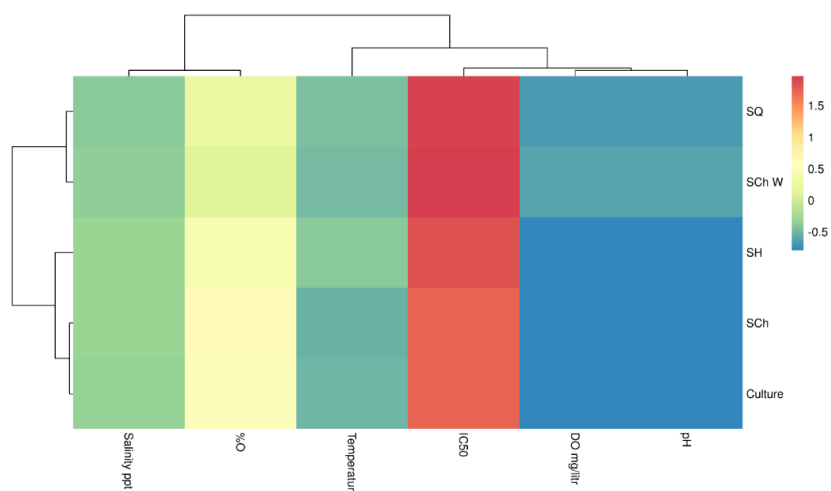
محاسبه‌ی نتایج مقایسه میانگین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی *Symbiodinium* sp. نمونه‌ها بیشترین مقدار مربوط به تابستان قشم در غلظت ۴۰ μg/ml و کمترین مقدار مربوط به نمونه خالص‌سازی شده و کشت‌شده در شرایط آزمایشگاهی در غلظت ۴۰۰ μg/ml مشاهده شد (جدول ۲).

بررسی تأثیر فاکتورهای فیزیکوشیمیایی ایستگاه‌های نمونه‌برداری در فصول زمستان و تابستان در خلیج‌های فارس و خلیج عمان و تأثیر فاکتورهای فیزیکوشیمیایی محیط کشت بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH) عصاره‌های متانولی *Symbiodinium* sp. خالص و کشت‌شده در شرایط آزمایشگاهی از طریق نقشه حرارتی مشخص شد خوشه‌بندی داده‌های چند متغیره برای تولید نقشه حرارتی استفاده شد تا اطلاعات خوبی از داده‌های تجزیه و تحلیل شده ارائه شود. نتایج شکل ۴ نشان داد که عصاره‌های متانولی *Symbiodinium* sp. خالص‌شده از شقایق در فصل تابستان چاهار (نمونه رنگی) با عصاره‌های متانولی

Symbiodinium sp. خالص‌سازی و کشت‌شده در شرایط آزمایشگاهی از نظر IC50 در یک گروه قرار گرفتند و بیشترین مهار را به خود اختصاص دادند همچنین عصاره‌های متانولی *Symbiodinium* sp. خالص‌شده از شقایق در تابستان قشم و تابستان چابهار (نمونه سفید) از لحاظ IC50 در یک گروه قرار گرفته‌اند که نشان‌دهنده شباهت قدرت مهاری این دو مکان نسبت به یکدیگر است و کمترین قدرت مهاری بین تمام نمونه‌ها به تابستان قشم اختصاص یافت و تمام نمونه‌ها با شوری و دما ارتباط معکوس نشان دادند و با درصد اکسیژن محلول رابطه مستقیم نشان دادند و pH و DO همبستگی منفی را نشان دادند (شکل ۴).

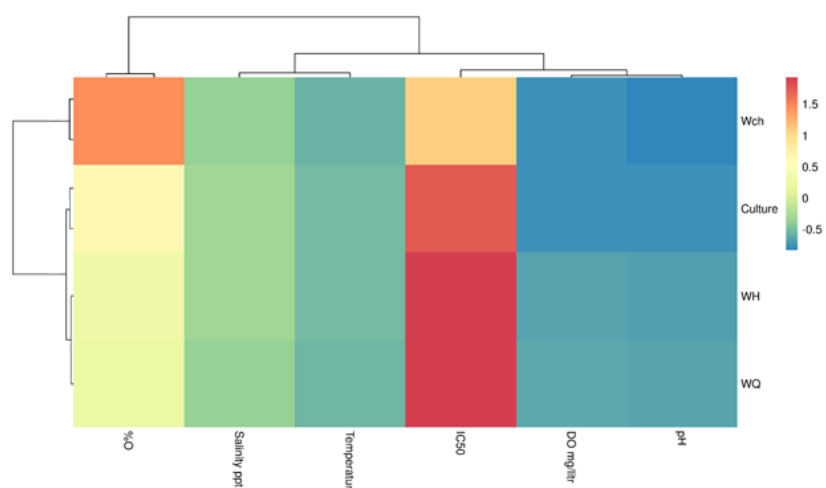
جدول ۲. مقایسه میانگین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH) عصاره‌های متانولی *Symbiodinium* sp. خالص و کشت‌شده در شرایط آزمایشگاهی و جداشده از *S. haddoni* در غلظت‌های مختلف ($\mu\text{gr/ml}$)

عصاره <i>Symbiodinium</i> sp.	۴۰۰ $\mu\text{gr/ml}$	۲۴۰ $\mu\text{gr/ml}$	۱۴۰ $\mu\text{gr/ml}$	۸۰ $\mu\text{gr/ml}$	۴۰ $\mu\text{gr/ml}$
SH	۰/۰۸۳±۰/۰۱۸	۰/۰۹۳±۰/۰۰۹	۰/۱۱۵±۰/۰۱۳	۰/۱۲۹±۰/۰۱۳	۰/۱۷۱±۰/۰۱۱
WH	۰/۰۸۸±۰/۰۰۹	۰/۰۹۹±۰/۰۱۵	۰/۱۰۶±۰/۰۱۵	۰/۱۳۱±۰/۰۰۴	۰/۱۶۵±۰/۰۰۹
SQ	۰/۱۵۲±۰/۰۱۶	۰/۱۶۹±۰/۰۳۳	۰/۱۹۱±۰/۰۱۲	۰/۱۹۷±۰/۰۰۶	۰/۲۴۱±۰/۰۳۹
WQ	۰/۱۵۳±۰/۰۱۸	۰/۱۶۹±۰/۰۲۷	۰/۲۰۱±۰/۰۰۴	۰/۱۹۴±۰/۰۰۴	۰/۱۹۶±۰/۰۰۴
SCH	۰/۰۶۸۷±۰/۰۱۰	۰/۰۸۷±۰/۰۱۰	۰/۱۰۱±۰/۰۰۴	۰/۱۴۱±۰/۰۰۵	۰/۱۷±۰/۰۰۸
WCH	۰/۰۷۵±۰/۰۰۸	۰/۰۸۲±۰/۰۱۵	۰/۰۹۷±۰/۰۲۰	۰/۱۳۶±۰/۰۱۲	۰/۱۶۱±۰/۰۳۰
SCHW	۰/۰۹۸±۰/۰۰۹	۰/۱۱۲±۰/۰۰۸	۰/۱۲۵±۰/۰۱۲	۰/۱۳۳±۰/۰۱۹	۰/۱۵۳±۰/۰۱۵
Culture	۰/۰۶۸۰±۰/۰۰۴	۰/۰۷۵±۰/۰۰۵	۰/۱۰۱±۰/۰۱۸	۰/۱۲۱±۰/۰۱۳	۰/۱۵۷±۰/۰۲۷



شکل ۴. نقشه حرارتی مهار IC50 عصاره‌های *Symbiodinium sp.* در فصل تابستان و نمونه خالص‌سازی و کشت‌شده در شرایط آزمایشگاهی نقشه حرارتی از طریق R رسم شده است که خوشه‌بندی مقادیر داده‌های چند متغیره بر اساس همبستگی پیرسون است و هر دو ردیف و ستون با استفاده از فاصله همبستگی و پیوند متوسط خوشه‌بندی شدند. ۵ ردیف، ۶ ستون

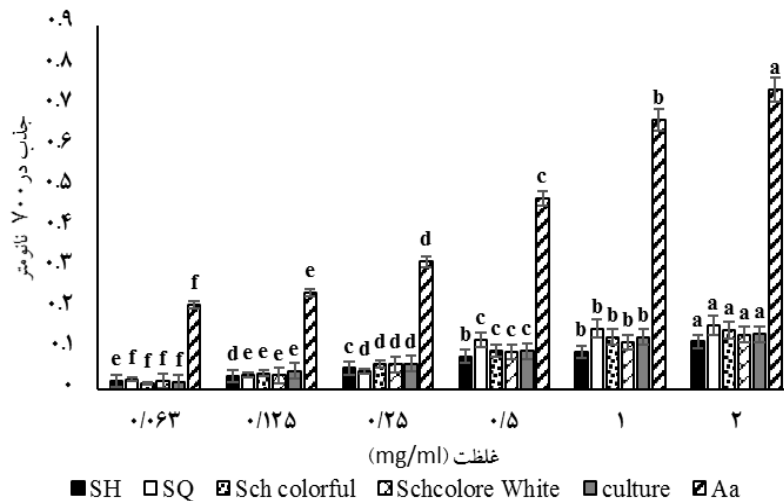
نتایج شکل ۵ نشان داد که عصاره‌های متانولی *Symbiodinium sp.* خالص‌شده از شقایق در فصل زمستان چابهار یک گروه جداگانه تشکیل داده است و نشان‌دهنده قدرت مهارى بیشتر عصاره‌ی متانولی *Symbiodinium sp.* این منطقه نسبت به سایر مناطق است همچنین نمونه‌های زمستان چابهار و خالص‌سازی و کشت‌شده در شرایط آزمایشگاهی کمترین IC50 و بیشترین مهار رادیکال‌های DPPH را به خود اختصاص دادند. عصاره‌های متانولی *Symbiodinium sp.* زمستان چابهار و *Symbiodinium sp.* خالص و کشت‌شده در شرایط آزمایشگاهی، به ترتیب بیشترین همبستگی مثبت با اکسیژن و همبستگی منفی با دما را نشان دادند، پس از نمونه زمستان چابهار، *Symbiodinium sp.* خالص و کشت‌شده در شرایط آزمایشگاهی، بالاترین مهار رادیکال DPPH را نشان داد. زمستان نمونه چابهار با درصد اکسیژن محلول و شوری همبستگی کمی دارد و همچنین زمستان نمونه چابهار با دما همبستگی منفی داشت. همبستگی منفی بین pH، DO و IC50 یافت مشاهده می‌شود (شکل ۵).



شکل ۵. نقشه حرارتی مهار IC50 عصاره‌های *Symbiodinium sp.* در فصل زمستان و نمونه خالص‌سازی و کشت‌شده در شرایط آزمایشگاهی نقشه حرارتی از طریق R رسم شده است که خوشه‌بندی مقادیر داده‌های چند متغیره بر اساس همبستگی پیرسون است و هر دو ردیف و ستون با استفاده از فاصله همبستگی و پیوند متوسط خوشه‌بندی شدند. ۵ ردیف، ۶ ستون

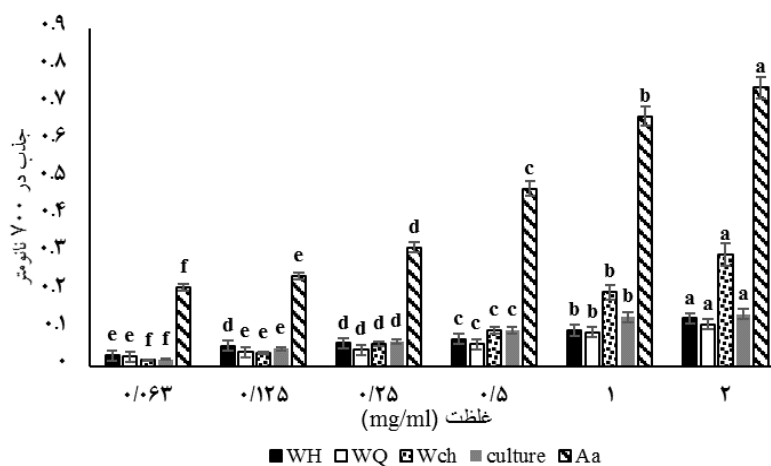
خواص آنتی‌اکسیدانی به روش احیاء یون فریک (FRAP)

با توجه به شکل ۶ حداکثر فعالیت ضداکسیدانی در مقایسه با اسید آسکوربیک در غلظت ۲mg/ml در تابستان قشم (mg/ml) 0.16 ± 0.01 و حداقل فعالیت در غلظت ۰/۰۶۳ mg/ml تابستان چابهار (mg/ml) 0.17 ± 0.07 مشاهده شد (۳).



شکل ۶. قدرت احیایی یون فریک عصاره‌های *Symbiodinium* sp. مورد مطالعه در فصل تابستان، در مقایسه با آسکوربیک اسید به‌عنوان استاندارد، همچنین حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) است (آزمون دانکن).

با توجه به شکل ۷ بیشترین فعالیت ضداکسیدانی در مقایسه با اسید آسکوربیک در غلظت ۲mg/ml در زمستان چابهار (mg/ml) 0.297 ± 0.04 و کمترین فعالیت در غلظت ۰/۰۶۳ mg/ml در زمستان چابهار (mg/ml) 0.15 ± 0.04 مشاهده شد (جدول ۳).

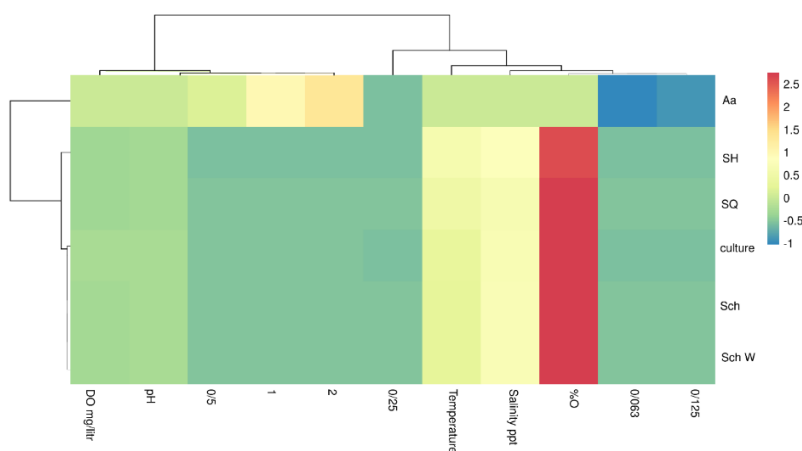


شکل ۷. قدرت احیایی یون فریک عصاره‌های *Symbiodinium* sp. مورد مطالعه در فصل زمستان، در مقایسه با آسکوربیک اسید به‌عنوان استاندارد، همچنین حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) است (آزمون دانکن).

نتایج شکل ۸ نشان داد که تمام عصاره‌های متانولی *Symbiodinium sp.* خالص‌شده از شقایق دریایی در فصل تابستان و عصاره‌های متانولی *Symbiodinium sp.* کشت‌شده در شرایط آزمایشگاهی در یک گروه قرار گرفته‌اند و بیشترین شباهت را به یکدیگر از نظر احیای یون فریک نشان دادند. در حالی که آسکوربیک اسید که بیشترین قدرت احیایی یون فریک را داشت در گروه جداگانه قرار گرفت. pH و DO بیشترین ارتباط را با یکدیگر نشان دادند و هیچ همبستگی آماری با احیای یون فریک نشان ندادند. همچنین دما، شوری و درصد اکسیژن در یک گروه قرار گرفتند که در این میان بیشترین همبستگی آماری با احیای یون فریک به درصد اکسیژن سپس به شوری و دما اختصاص یافت و بیشترین همبستگی آماری دما با قدرت مهارکنندگی یون فریک در عصاره‌های تابستان هرمز و قشم مشاهده شد (شکل ۸)

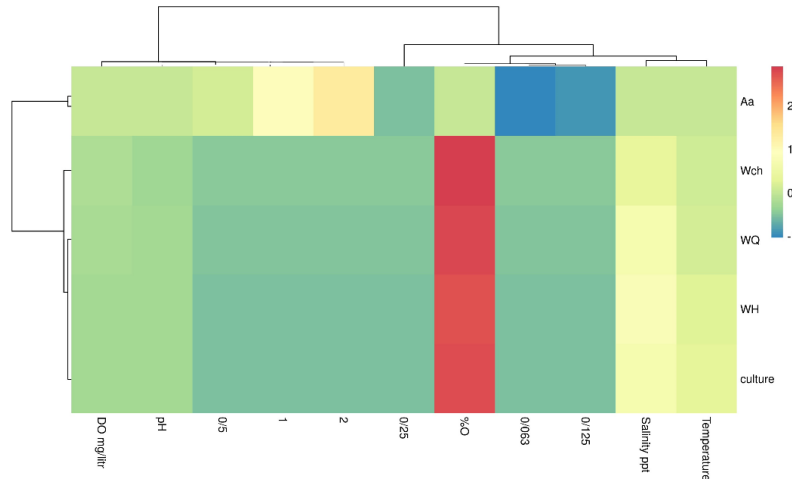
جدول ۳. نتایج مقایسه میانگین قدرت احیایی یون فریک عصاره‌های متانولی *Symbiodinium sp.* در غلظت‌های مختلف

عصاره <i>Symbiodinium sp.</i>	۰/۰۶۳ mg/ml	۰/۱۲۵ mg/ml	۰/۲۵ mg/ml	۰/۵ mg/ml	۱ mg/ml	۲ mg/ml
SH	۰/۰۲۱±۰/۰۰۲	۰/۰۳۴±۰/۰۰۴	۰/۰۵۲±۰/۰۰۳	۰/۰۸۳±۰/۰۰۱	۰/۰۹۴±۰/۰۰۳	۰/۱۱۹±۰/۰۱۵
WH	۰/۰۲۸±۰/۰۰۶	۰/۰۵۴±۰/۰۰۲	۰/۰۶۰±۰/۰۰۵	۰/۰۷۱±۰/۰۰۱	۰/۰۹۵±۰/۰۰۲	۰/۱۲۷±۰/۰۰۵
SQ	۰/۰۲۵±۰/۰۰۳	۰/۰۳۶±۰/۰۰۱	۰/۰۴۶±۰/۰۰۶	۰/۰۷۳±۰/۰۰۴	۰/۱۵۱±۰/۰۰۲	۰/۱۶±۰/۰۰۱
WQ	۰/۰۲۵±۰/۰۰۴	۰/۰۳۷±۰/۰۰۲	۰/۰۴۳±۰/۰۰۳	۰/۰۵۸±۰/۰۰۶	۰/۰۹±۰/۰۰۵	۰/۱۱۱±۰/۰۰۱
SCH	۰/۰۱۷±۰/۰۰۷	۰/۰۴۱±۰/۰۰۸	۰/۰۶۳±۰/۰۰۰۵	۰/۰۹۶±۰/۰۰۲	۰/۱۳۰±۰/۰۰۱	۰/۱۴۷±۰/۰۰۲
WCH	۰/۰۱۵±۰/۰۰۴	۰/۰۳۴±۰/۰۰۳	۰/۰۵۹±۰/۰۰۶	۰/۰۹۴±۰/۰۰۳	۰/۱۹۷±۰/۰۰۲	۰/۲۹۷±۰/۰۰۴
SCHW	۰/۰۲۲±۰/۰۰۱	۰/۰۳۵±۰/۰۰۳	۰/۰۶۳±۰/۰۱۳	۰/۰۹۴±۰/۰۰۲	۰/۱۱۷±۰/۰۰۴	۰/۱۳۶±۰/۰۰۳
Culture	۰/۰۱۸±۰/۰۰۴	۰/۰۴۶±۰/۰۰۴	۰/۰۶۴±۰/۰۰۲	۰/۰۹۶±۰/۰۰۳	۰/۱۳۰±۰/۰۰۱	۰/۱۳۸±۰/۰۰۳



شکل ۸. نقشه حرارتی احیایی یون فریک عصاره‌های *Symbiodinium sp.* در فصل تابستان و نمونه خالص‌سازی و کشت‌شده در شرایط آزمایشگاهی که از طریق R رسم شده است که خوشه‌بندی مقادیر داده‌های چند متغیره بر اساس همبستگی پیرسون و دارای ۶ ردیف، ۱۱ ستون است.

نتایج شکل ۹ نشان داد که آسکوربیک اسید بیشترین قدرت احیا یون فریک را دارد و در مقایسه با عصاره‌ها در گروه جداگانه قرار گرفت. همچنین تمام عصاره‌ها از نظر مهار یون فریک و همبستگی پیرسون در یک گروه قرار گرفتند که در بین آن‌ها نمونه خالص‌سازی و کشت‌شده در شرایط آزمایشگاهی و زمستان هرمز با اختلاف بسیار ناچیز و شباهت کم یک زیرگروه تشکیل داده‌اند. بیشترین همبستگی قدرت آنتی‌اکسیدانی قدرت احیا یون فریک به ترتیب به اکسیژن محلول، شوری و دما تعلق گرفت؛ pH و DO هیچ همبستگی آماری با قدرت آنتی‌اکسیدانی یون فریک نشان ندادند (شکل ۹).



شکل ۹. نقشه حرارتی احیایی یون فریک عصاره‌های *Symbiodinium* sp. در فصل زمستان و نمونه خالص‌سازی و کشت‌شده در شرایط آزمایشگاهی که از طریق R رسم شده است که خوشه‌بندی مقادیر داده‌های چند متغیره بر اساس همبستگی پیرسون و دارای ۵ ردیف، ۱۱ ستون است.

بحث

جلیک‌های داینوفلاژله و مخصوصاً گونه‌ی *Symbiodinium* sp. دارای رنگدانه‌های متفاوت از جمله کلروفیل a، c و کاروتنوئیدهای مانند بتاکاروتن، p-457، پریدینین، دیاتوزانتین، دیادینوزانتین هستند (Johansen *et al.*, 1974). در میان این رنگ‌دانه‌ها پریدینین یکی از مشتقات کاروتنوئید است که خواص آنتی‌اکسیدانی قوی دارد و موجب مهار تومور زایی در بدن می‌شود همچنین به‌عنوان ضد سرطان کاربرد دارد (Olpp *et al.*, 2006; Ishikawa *et al.*, 2016). کاروتنوئیدها به‌عنوان قوی‌ترین آنتی‌اکسیدان‌ها شناخته شده‌اند؛ که قادرند اکسیژن منفرد رادیکال‌های آزاد را مهار و غیرفعال کنند و به واسطه‌ی تحریک ارتباط سلولی (gap junctions) پاسخ‌های ایمنی را افزایش دهند (Olson, 1999). با توجه به نتایج سنجش آنتی‌اکسیدانی DPPH در این پژوهش کمترین IC50 و بیشترین مهار DPPH بعد از BHT به عصاره زمستان چابهار اختصاص یافت. بیشترین IC50 و کمترین مهار DPPH به تابستان چابهار اختصاص یافت، این یافته‌ها با نتایج Shah و همکاران (۲۰۱۸) مطابقت داشت با این تفاوت که در آن مقاله از روش طیف‌سنجی ESR استفاده شده که دقیق‌تر است. این مسئله به این دلیل که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی حاصل از منابع دریایی نقش مهمی در از بین بردن مولکول‌های واکنش‌پذیر دارند. اندازه‌گیری‌های طیف‌سنجی ESR می‌تواند فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد را کنترل کند زیرا با رنگ عصاره‌های حاصل از حلال‌های آلی مختلف تداخل نمی‌کند (Shah *et al.*, 2018)؛ اما در روشی که در این مقاله استفاده شده است احتمال همپوشانی طیف‌های مشاهده‌شده با ترکیبات جاذب نور مانند کاروتنوئیدهای موجود در عصاره‌ی *Symbiodinium* sp. وجود دارد. Jacob-Lopes و همکاران (۲۰۲۰) گزارش دادند که به دلیل همپوشانی طیف‌های مشاهده‌شده بین محلول DPPH و برخی ترکیبات در طول موج‌های نزدیک ۵۰۰ نانومتر مانند آنتوسیانین‌ها و برخی کاروتنوئیدها نمی‌توان از روش DPPH استفاده کرد (Jacob-Lopes *et al.*, 2020). نتایج قدرت مهار یون فریک در مقایسه با آسکوربیک اسید نشان داد که بیشترین قدرت مهارکنندگی در غلظت ۲ mg/ml مربوط به زمستان چابهار بود که در مقایسه با روش DPPH تفاوت چندانی در قدرت مهار مشاهده نشد.

در رابطه با تأثیر عوامل محیطی بر خواص آنتی‌اکسیدانی *Symbiodinium* sp. پژوهشی توسط Roberty و همکاران (۲۰۱۶) انجام شده که نشان دادند کلاد معتدل نسبت به کلاد گرمسیری *S. kawagutii* تحمل بیشتری نسبت به استرس اکسیداتیو دارد و این اختلافات به احتمال زیاد نتیجه سازگاری با محیط طبیعی آن‌ها است که نسبت به گونه‌های معتدل شرایط دما و تابش بسیار متغیر و شدیدتر است (Roberty et al., 2016). در رابطه با تحقیقات دیگری که ممکن است روی جنس‌های *Symbiodinium* انجام شده باشد و یا در آینده انجام شود و ظرفیت بالاتری برای مقابله با استرس اکسیداتیو نسبت به موارد مطالعاتی این پژوهش نشان دهد باید توجه داشت که تعمیم در مورد صفات عملکردی بین گونه‌ها یا زیرگونه‌های *Symbiodinium* باید با احتیاط انجام شود و اختلافات مشاهده شده در این مطالعه نیز احتمالاً مربوط به محیط طبیعی است که گونه‌های مختلف در مکان‌های جغرافیایی متفاوت از آنجا نشاءت گرفته‌اند (Wietheger et al. 2015). توجه به این نکته مهم است که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول‌های *Symbiodinium* تنها به فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاروتنوئیدها متکی نیست و ممکن است در جنس *Symbiodinium* به طیف گسترده‌ای از دیگر مولکول‌ها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان که غلظت یا تنظیم اولیه آن‌ها متفاوت باشد، مرتبط باشد (Krueger et al., 2014; Roberty et al., 2016). تنوع در کیفیت و کمیت تولید رادیکال‌های آزاد و پیامدهای آن در جنس *Symbiodinium* نشان داد که مکانیسم‌های مختلف استرس در تولید آنتی‌اکسیدان نقش دارند (Roberty et al., 2016). در حالی که آزمایشات ما تحت شرایط آزمایشگاهی انجام شده است که لزوماً اثرات محیطی را از نظر اکولوژیکی منعکس نمی‌کند. با توجه به تحقیق Roberty و همکاران (۲۰۱۶) پریدینین و دیاتوگزانتین علاوه بر سهم آن‌ها در برداشت نور یا فرآیندهای خنثی‌سازی غیر فتوشیمیایی، همچنین می‌توانند عملکرد آنتی‌اکسیدانی داشته باشند و منجر به تثبیت غشاها شوند، همچنان باید نقش آنتی‌اکسیدانی *Symbiodinium*، اهمیت نسبی و انواع ROS که ترجیحاً توسط پریدینین و دیاتوگزانتین خنثی می‌شوند نیز مورد بررسی جامع قرار گیرند که از این داینوفلاژله به‌عنوان یک نمونه با پتانسیل درمانی و دارویی (Shah et al., 2018) و یک نمونه مقاوم به تغییرات محیطی معرفی شود که از نظر بیوتکنولوژی و اکولوژی جهت بقای صخره‌های مرجانی مورداستفاده قرار گیرد.

منابع

- Baumann, J.H., Zhao, L.Z., Stier, A.C. and Bruno, J.F. 2022. Remoteness does not enhance coral reef resilience. *Global Change Biology*, 28(2), pp.417-428.
- Benstein, R. M., Çebi, Z., Podola, B., & Melkonian, M. 2014. Immobilized growth of the peridinin-producing marine dinoflagellate *Symbiodinium* in a simple biofilm photobioreactor. *Marine biotechnology*, 16(6), 621-628.
- Berkelmans, R. and Oliver, J.K. 1999. Large-scale bleaching of corals on the Great Barrier Reef. *Coral reefs*, 18(1), pp.55-60.
- Burt, J.A., Paparella, F., Al-Mansoori, N., Al-Mansoori, A. and Al-Jailani, H. 2019. Causes and consequences of the 2017 coral bleaching event in the southern Persian Gulf. *Coral Reefs*, 38(4), pp.567-589.
- Coles, S.L. and Jokiel, P.L. 1978. Synergistic effects of temperature, salinity and light on the hermatypic coral *Montipora verrucosa*. *Marine Biology*, 49(3), pp.187-195.
- Crawley, A., Kline, D.I., Dunn, S., Anthony, K.E.N. and Dove, S. 2010. The effect of ocean acidification on symbiont photorespiration and productivity in *Acropora formosa*. *Global Change Biology*, 16(2), pp.851-863.
- Donner, S.D. 2009. Coping with commitment: projected thermal stress on coral reefs under different future scenarios. *PLoS One*, 4(6), p.e5712.

- Douglas, A.E. 2003. Coral bleaching—how and why?. *Marine pollution bulletin*, 46(4), pp.385-392.
- Fagoonee, I., Wilson, H.B., Hassell, M.P. and Turner, J.R. 1999. The dynamics of zooxanthellae populations: a long-term study in the field. *Science*, 283(5403), pp.843-845.
- Ganesan, K., Kumar, K.S. and Rao, P.S. 2011. Comparative assessment of antioxidant activity in three edible species of green seaweed, *Enteromorpha* from Okha, Northwest coast of India. *Innovative food science & emerging technologies*, 12(1), pp.73-78.
- Gates, R.D., Baghdasarian, G. and Muscatine, L. 1992. Temperature stress causes host cell detachment in symbiotic cnidarians: implications for coral bleaching. *The Biological Bulletin*, 182(3), pp.324-332.
- Grigg, R.W. 1994. The International Coral Reef Initiative: conservation and effective management of marine resources. *Coral Reefs* 13, 197–198.
- Gulcin, İ. 2020. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of toxicology*, pp.1-65.
- Harrison, P.L., Dalton, S.J. and Carroll, A.G. 2011. Extensive coral bleaching on the world's southernmost coral reef at Lord Howe Island, Australia. *Coral Reefs*, 30(3), pp.775-775.
- Hoegh-Guldberg, O. 1999. Climate change, coral bleaching and the future of the world's coral reefs. *Marine and freshwater research*, 50(8), pp.839-866.
- Hughes, T.P., Baird, A.H., Bellwood, D.R., Card, M., Connolly, S.R., Folke, C., Grosberg, R., Hoegh-Guldberg, O., Jackson, J.B., Kleypas, J. and Lough, J.M. 2003. Climate change, human impacts, and the resilience of coral reefs. *science*, 301(5635), pp.929-933.
- Hughes, T.P., Baird, A.H., Dinsdale, E.A., Moltschanowskyj, N.A., Pratchett, M.S., Tanner, J.E. and Willis, B.L. 2012. Assembly rules of reef corals are flexible along a steep climatic gradient. *Current Biology*, 22(8), pp.736-741.
- Hughes, T.P., Bellwood, D.R., Baird, A.H., Brodie, J., Bruno, J.F. and Pandolfi, J.M. 2011. Shifting base-lines, declining coral cover, and the erosion of reef resilience: comment on Sweatman et al. (2011). *Coral Reefs*, 30(3), pp.653-660.
- Ishikawa, C., Jomori, T., Tanaka, J., Senba, M. and Mori, N. 2016. Peridinin, a carotenoid, inhibits proliferation and survival of HTLV-1-infected T-cell lines. *International journal of oncology*, 49(4), pp.1713-1721.
- Jacob-Lopes, E., Queiroz, M.I. and Zepka, L.Q. 2020. *Pigments from Microalgae Handbook*. p. 653. ISBN 978-3-030-50971-2
- Jeffrey, S.W. and Haxo, F.T. 1968. Photosynthetic pigments of symbiotic dinoflagellates (zooxanthellae) from corals and clams. *The Biological Bulletin*, 135(1), pp.149-165.
- Johansen, J.E., Svec, W.A., Liaaen-Jensen, S. and Haxo, F.T. 1974. Carotenoids of the Dinophyceae. *Phytochemistry*, 13(10), pp.2261-2271.
- Kleypas, J.A. and Yates, K.K. 2009. Coral reefs and ocean acidification. *Oceanography*, 22(4), pp.108-117.
- Kourandeh, M.B., Nabavi, S.M.B. and Sinaei, M. 2013. Assessment of coral health in the coastal areas of the Persian Gulf. *Ocean Science Journal*, 48(3), pp.251-258.
- Krueger, T., Becker, S., Pontasch, S., Dove, S., Hoegh-Guldberg, O., Leggat, W., Fisher, P.L. and Davy, S.K. 2014. Antioxidant plasticity and thermal sensitivity in four types of *Symbiodinium* sp. *Journal of phycology*, 50(6), pp.1035-1047.
- Lorenz, R.T. and Cysewski, G.R. 2000. Commercial potential for *Haematococcus* microalgae as a natural source of astaxanthin. *Trends in biotechnology*, 18(4), pp.160-167.

- Mair, J. 2022. Events and climate change. In A Research Agenda for Event Impacts. Edward Elgar Publishing.
- Marsh, G.E. 2008. Seawater pH and anthropogenic carbon dioxide. arXiv preprint arXiv:0810.3596.
- McLachlan, J. 1973. "Chapter 1-2: Growth media-marine. Handbook of Phycological Methods. Culture Methods and Growth Measurements, ed. by JR STEIN." :25-5. ISBN-13: 978-0521297479
- Norström, A.V., Nyström, M., Lokrantz, J. and Folke, C. 2009. Alternative states on coral reefs: beyond coral-macroalgal phase shifts. *Marine ecology progress series*, 376, pp.295-306.
- Olivieri, G., Salatino, P. and Marzocchella, A. 2014. Advances in photobioreactors for intensive microalgal production: configurations, operating strategies and applications. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 89(2), pp.178-195.
- Olpp, T. and Brückner, R. 2006. Total Synthesis of the Light-Harvesting Carotenoid Peridinin. *Angewandte Chemie International Edition*, 45(24), pp.4023-4027.
- Olson, J.A. 1999. Carotenoids and human health. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 49(3 Suppl 1), pp.7S-11S.
- Oyaizu, M., 1986. Studies on products of browning reaction. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44(6), pp.307-315.
- Paparella, F., Xu, C., Vaughan, G.O. and Burt, J.A., 2019. Coral bleaching in the Persian Gulf is modulated by summer winds. *Frontiers in Marine Science*, 6, p.205.
- Perez, S.F., Cook, C.B. and Brooks, W.R. 2001. The role of symbiotic dinoflagellates in the temperature-induced bleaching response of the subtropical sea anemone *Aiptasia pallida*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 256(1), pp.1-14.
- Polne-Fuller, M. 1991. A novel technique for preparation of axenic cultures of Symbiodinium (Pyrrophyta) through selective digestion by amoebae 1. *Journal of Phycology*, 27(4), pp.552-554.
- Raven, J., Caldeira, K., Elderfield, H., Hoegh-Guldberg, O., Liss, P., Riebesell, U., Shepherd, J., Turley, C. and Watson, A. 2005. Ocean acidification due to increasing atmospheric carbon dioxide. *The Royal Society*. pp.1-51
- Raven, J.A., Gobler, C.J. and Hansen, P.J. 2020. Dynamic CO₂ and pH levels in coastal, estuarine, and inland waters: Theoretical and observed effects on harmful algal blooms. *Harmful algae*, 91, p.101594.
- Riegl, B.M., Purkis, S.J., Al-Cibahy, A.S., Abdel-Moati, M.A. and Hoegh-Guldberg, O. 2011. Present limits to heat-adaptability in corals and population-level responses to climate extremes. *PloS one*, 6(9), p.e24802.
- Roberty, S., Furla, P. and Plumier, J.C., 2016. Differential antioxidant response between two *Symbiodinium* species from contrasting environments. *Plant, cell & environment*, 39(12), pp.2713-2724.
- Robinson, P.J., van Beukering, P., Brander, L., Brouwer, R., Haider, W., Taylor, M. and Mau, P. 2022. Understanding the determinants of biodiversity non-use values in the context of climate change: Stated preferences for the Hawaiian coral reefs. *Ecosystem Services*, 53, p.101393.
- Rosenberg, E. and Falkovitz, L. 2004. The *Vibrio shiloi*/*Oculina patagonica* model system of coral bleaching. *Annu. Rev. Microbiol.*, 58, pp.143-159.
- Shah, M.M.R., Samarakoon, K.W., An, S., Jeon, Y. and Lee, J. 2018. Growth characteristics of three benthic dinoflagellates in mass culture and their antioxidant properties.
- Widowati, I., Zainuri, M., Kusumaningrum, H.P., Susilowati, R., Hardivillier, Y., Leignel, V., Bourgougnon, N. and Mouget, J.L. 2017, February. Antioxidant activity of three microalgae *Dunaliella salina*, *Tetraselmis chuii* and *Isochrysis galbana* clone Tahiti. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science Vol. 55, No. 1*, p.

- Wietheger, A., Fisher, P.L., Gould, K.S. and Davy, S.K. 2015. Sensitivity to oxidative stress is not a definite predictor of thermal sensitivity in symbiotic dinoflagellates. *Marine biology*, 162(10), pp.2067-2077.
- Yousefzadi, M., Riahi-Madvar, A., Hadian, J., Rezaee, F., Rafiee, R. and Biniiaz, M. 2014. Toxicity of essential oil of *Satureja khuzistanica*: In vitro cytotoxicity and anti-microbial activity. *Journal of immunotoxicology*, 11(1), pp.50-55.
- Zarei Darki, B., Krakhmalny, A. 2019. Biotic and Abiotic Factors Affecting the Population Dynamics of *Ceratium hirundinella*, *Peridinium cinctum*, and *Peridiniopsis elpatiewskyi*. *DIVERSITY-BASEL*. 11(8).1-13.



Relationship between antioxidant traits of *Symbiodinium* sp. symbiotic dinoflagellate extract under physicochemical factors during different seasons in Persian Gulf and Gulf of Oman

Sarvenaz Bigham Soostani¹, Morteza Yousefzadi^{1,2*}, Behrouz Zarei Darki³, Mohammad Sharif Ranjbar^{1,4}

1. Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran
2. Department of Biology, Faculty of Science, University of Qom, Qom, Iran
3. Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Tarbiat Modares University, Noor, Iran
4. Assistant Professor in Persian Gulf Biotechnology Park, Qeshm Island, Iran

Abstract

Coral bleaching, loss of symbiotic algae of *Symbiodinium* sp. or photosynthetic microalgae pigments from their coral host have become commonplace in recent decades due to the rising of sea temperatures and changes in physicochemical factors. It is essential to study the susceptibility of corals to bleaching, the physiology of its symbiotic algae, and its capacity to cope with abiotic stress. Oxidative stress is of particular importance due to the fact that it can be caused by photosynthetic dysfunction driven by temperature and other physicochemical factors. The aim of this study was to compare the effects of physicochemical factors on the photosynthetic performance of *Symbiodinium* sp. symbiosis with *Stichodactyla haddoni* in the Persian Gulf and the Gulf of Oman. To determine whether the cultured *Symbiodinium* sp. has different sensitivities to oxidative stress and whether winter and summer play a role in oxidative stress and coping with it, DPPH test and Freaq ion reduction method (FRAP) were used and Physicochemical factors were measured through the HQ40D prototype device. Moreover, air data (wind speed) was obtained from the website www.irimo.ir. Statistical analysis was performed through one-way analysis of variance at the level of 0.05 and heatmap analysis. The results showed that the highest antioxidant capacity was assigned to *Symbiodinium* sp. extract in Chabahar in winter (IC50:135.768 µgr/ml) and the lowest antioxidant capacity was allocated to Chabahar in summer (IC50:349.090 µgr/ml). Ferric ion reduction of *Symbiodinium* sp. extracts showed the highest inhibition compared to ascorbic acid at a concentration of 2 mg/ml (0.297) and the lowest inhibition at a concentration of 0.063 mg/ml (0.015) in Chabahar in winter.

ARTICLE TYPE Research

Received: 12 February 2022
Accepted: 21 April 2022
ePublished: 28 January 2023

* Corresponding Author:
morteza110110@gmail.com

Keywords: Antioxidants, Biotechnology, Persian Gulf, Gulf of Oman, Coral Reefs, *Symbiodinium* sp.