DOI: http://dx.doi.org/10.22092/ijmapr.2012.3054

فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲۸، شمارهٔ ۲، صفحهٔ ۳۸۳-۳۷۰ (۱۳۹۱)

تأثیر دو گونه داروash (*Viscum album* L. و *Arceuthobium oxycedri* (D.C.) M. Bieb.) بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گونه‌های میزبان آلوده به داروash در منطقه چهارباغ گرگان

مه‌لقا قربانلی[1*]، آرین ساطعی[2] و حرمت کابلی قره‌تپه[3]

۱*- نویسنده مسئول، استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان، پست الکترونیک: mghorbanli@gorganiau.ir
۲- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان
۳- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۸۹ تاریخ اصلاح نهایی: فروردین ۱۳۹۰ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۰

چکیده

داروash یک گیاه همیشه سبز، پایا و انگلی است که همه آب و عناصر ضروری خود شامل نیتروژن و یک بخش کوچک از غذای خود را از درخت میزبان و توسط یک اندام ریشه مانند به نام هوستوریوم دریافت می‌کند. این گیاه از نظر پزشکی و دارویی بسیار اهمیت داشته و بسیاری از اثرهای آن در درمان بیماریها به اثبات رسیده‌است. دو گونه *Viscum album* L. (داروash حقیقی) و *Arceuthobium oxycedri* (D.C.) M. Bieb. (داروash کاذب) هر دو از خانواده Viscaceae و به‌عنوان اپی‌فیت هستند. میزبان غالب *V. album* در منطقه‌ای از جنگل گرگان با ارتفاع ۷۰۰ متر از سطح دریا، گونه انجیلی (*Parrotia persica* (D. C.) C. A. Mey.) و در منطقه‌ای با ارتفاع ۱۸۰۰ متر از سطح دریا، گونه ممرز (*Carpinus betulus* L.) است و میزبان *A. oxycedri* (D. C.) M. Bieb. در ارتفاع ۲۲۰۰ متر از سطح دریا، یک گونه ارس (*Juniperus polycarpus* L.) است. در این پژوهش، برگ و سرشاخه‌های گونه‌های انگل و میزبان از ارتفاعات ذکر شده جمع‌آوری شد. از هر گونه به صورت تصادفی ۳ درخت آلوده به داروash و در کنار هر یک درختی سالم با شرایط قطر و ارتفاع تقریباً یکسان به‌عنوان شاهد انتخاب شد و اثر آلودگی این انگل‌ها بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گونه‌های میزبان بررسی شد که شامل ۳ آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز بود. نتایج نشان داد که آلودگی داروash، گیاه میزبان را با نوعی تنش کم‌آبی مواجه می‌کند و به همین دلیل میزان فعالیت این آنزیم‌ها در میزبان آلوده افزایش می‌یابد. در مورد کاتالاز، درختان انجیلی و ممرز آلوده به داروash و غیرآلوده تفاوت معنی‌داری را در میزان فعالیت این آنزیم نشان ندادند؛ ولی در ارس نر آلوده و غیرآلوده و ارس ماده آلوده و غیرآلوده دارای تفاوت معنی‌داری بود. فعالیت آسکوربات پراکسیداز در همه پایه‌های مورد بررسی دارای تفاوت معنی‌داری بود. فعالیت پراکسیداز نیز در همه نمونه‌های آلوده به داروash در مقایسه با نمونه‌های غیرآلوده افزایش یافت و دارای تفاوت معنی‌داری بود. اما در هیچ یک از نمونه‌ها، فعالیت این ۳ آنزیم تحت تأثیر جنسیت نبوده‌است.

واژه‌های کلیدی: داروash (*Viscum album* L.)، داروash کاذب (*Arceuthobium oxycedri* (D.C.) M. Bieb.)، اپی‌فیت، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان.

مقدمه

داروا‌ش‌ها گیاهانی هستند نیمه‌انگل، همیشه سبز و فاقد ریشه حقیقی که بیشتر به شاخه‌ها و تاج زنده درختان و درختچه‌ها در جنگل‌ها و درخت‌زارها چسبیده و آب و مواد معدنی مورد نیاز جهت انجام فرایندهای سنتزی خود را از آنها بدست می‌آورند (کرتولی‌نژاد و همکاران، ۱۳۸٦).

با نگاهی به تاریخچه پزشکی این گیاه درمی‌یابیم که از گذشته‌های بسیار دور در درمان بسیاری از بیماریها مورد استفاده بوده‌است و بسیاری از اثرهای درمانی آن مانند ضدسرطانی (Zarkovic *et al*., 2001؛ Maier & Fiebig, 2002)، آنتی‌میکروبی و باکتریایی (Deliorman *et al*., 2001)، آنتی‌ویروسی (Karagöz *et al*., 2003)، القاءکنندگی آپوپتوز (Büssing & Schietzel, 1999) و محرک سیستم ایمنی (Jurin *et al*., 1993؛ Karataş-Dügenci *et al*., 2003) گزارش شده‌است. همچنین عصاره داروا‌ش می‌تواند رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید شده در طی رادیوتراپی و شیمی درمانی را سرکوب کند (Büssing *et al*., 1994؛ Kovacs, 2002).

این گیاهان انگل با حضور بر روی میزبان، به دو طریق به آن خسارت وارد می‌کنند. از یک طرف با جذب آب و تخلیه مواد غذایی گیاه را با تنش مواجه می‌کنند و از طرف دیگر بر اثر تحریکات انگل در گیاه میزبان به‌صورت تاولی شدن، جارویی و چند شاخه شدن، باعث بهم خوردن رشد و فرم طبیعی میزبان شده و در نهایت رشد طبیعی گیاه میزبان را با مشکل روبرو می‌کنند (Coder, 2008).

گونه *V. album* L. بر روی شاخه‌های گیاه میزبان به‌صورت کلنی‌های ٦۰-۵۰ سانتی‌متری دیده می‌شود، دوپایه است و برگ‌های کامل و چرمی دارد، در حالی‌که گونه *A. oxycedri* (D. C.) M. Bieb به‌صورت اختصاصی فقط گونه‌هایی از مخروطیان را آلوده می‌کند (Barney *et al*., 1998). قطر کلنی‌های ایجاد شده حداکثر ۱۵ سانتی‌متر و دارای برگ‌های فلسی است. گیاهی تک‌پایه است و پایه‌های نر و ماده به فواصل کم یا زیاد از هم بر روی شاخه‌های درخت میزبان حضور دارند.

Bigler و همکاران (۲۰۰٦) نشان دادند که این گونه از داروا‌ش برای درخت تنش بی‌آبی ایجاد می‌کند و به این ترتیب باعث مرگ درخت می‌شود.

Fischer (۱۹۸۳) و Bannister و همکاران (۲۰۰۲) بیان نمودند که داروا‌ش باعث افزایش شرایط کم‌آبی و ایجاد استرس کم‌آبی در گیاه میزبان می‌شود. در این تحقیق به بررسی اثر دو گونه داروا‌ش بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گونه‌های انجیلی (*Parrotia persica* (D. C.) C. A. Mey.)، ممرز (*Carpinus betulus* L.) و ارس (*Juniperus polycarpus* L.) به‌منظور مقابله با تنش ایجاد شده پرداخته شده‌است.

مواد و روشها

نمونه‌ها در مرداد ماه از منطقه توسکستان (ارتفاع پایین) و چهار باغ (۲۰۰۰ متر به بالا) در گرگان جمع‌آوری گردید.

این منطقه در دامنه‌های شمالی البرز و در جنوب شهرستان گرگان قرار دارد و در عرض جغرافیایی ۲۷/۸۱ ۳٦ ۳٦ تا ۰۰/۸۱ ٤۱ ۳٦ و طول جغرافیایی ۱۹/۹۰ ۲۸ ٥٤ تا ۱۳/۷۸ ۳۵ ٥٤ بین دو استان گلستان و سمنان واقع شده است. در ارتفاع ۷۰۰ متر گونه *V. album* L. و میزبان آن درخت انجیلی نمونه‌گیری شدند. به این ترتیب که از

گونه انجیلی، نمونـه بـرگ از شـاخه هـای سـالم و آلـوده درختان آلوده، هر کدام در ۳ تکرار و نمونه برگ درختـان غیرآلوده نیز در ۳ تکرار به‌عنوان شـاهد و جهـت مقایسـه انتخاب شد.

در ارتفاع ۱۸۰۰ متر، گونـه *V. album* L. و میزبـان آن درخت ممرز بررسی شدند. به همان ترتیب درخت ممـرز غیرآلوده، شاخه آلوده و شاخه غیرآلوده از درخـت آلـوده در ۳ تکـرار انتخـاب شـدند. در ارتفـاع ۲۲۰۰ متـر گونـه *A. oxycedri* (D. C.) M. Bieb. گیاهی دوپایـه و میزبـان آن نیز که نـوعی ارس *Juniperus polycarpus* L. اسـت، گیاهی دو پایه می‌باشد. بنابراین بر روی هر پایه ارس نر یا ماده، کلنی‌هـای داروواش نـر و مـاده در ۳ تکـرار انتخـاب شدند.

سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدان

سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی بـرای ۳ آنـزیم کاتـالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسـیداز انجـام شـد. سـنجش کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در ٤ تکـرار و پراکسـیداز در ۳ تکرار انجام شد. برای سنجش فعالیت این آنـزیم‌هـا ابتدا عصـاره آنزیمـی تهیـه شـد (Takayoshi & Mikio, 1967). سپس طبـق ایـن روش ۱/۲ گـرم تـریس، ۲ گـرم اسید آسکوربیک، ۳/۸ گرم بوراکس، ۲ گرم $EDTANa_2$ و ۵۰ گرم پلی‌اتیلن گلیکول ۲۰۰۰ توسط ۱۰۰ میلی‌لیتـر آب مقطـر بـه حجـم رسـید. آنگـاه ۱ گـرم وزن تـر بـرگ بـا ٤ میلی‌لیتر از این عصاره به مدت نیم ساعت ساییده و بـه مدت ٢٤ ساعت در دمای ٤ درجه سـانتی‌گـراد نگهـداری شد. سـپس بـه مـدت نـیم سـاعت بـا سـرعت ٤۰۰ rpm سانتریفیوژ شد و از محلول فوقانی به‌عنوان عصاره آنزیمی استفاده شد.

سنجش فعالیت کاتالاز

برای سنجش فعالیـت ایـن آنـزیم از روش Chance و Maehly (۱۹۵۵) اسـتفاده شـد. طبـق ایـن روش، ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات (M ۰/۰۵) به ۰/۲ میلی‌لیتـر آب اکسیژنه ۳٪ در حمام یخ اضافه شد. سپس ۰/۲ میلی‌لیتر از عصاره آنزیمی تازه استخراج شده نمونه‌هـا بـه آن اضـافه شد و جذب نوری آن در طول موج ۲٤۰ نانومتر در مقابل شاهد مناسب خوانـده و فعالیـت ایـن آنـزیم بـر حسـب $ODmin^{-1}g^{-1}FW$ بیان شد. (در این رابطه وزن برگ معادل ۱ گرم وزن تر بوده که در رابطه مذکور تأثیری نداشته‌است و در واقع می‌توان فعالیت را فقط در واحد زمان نیز نشان داد و گرم وزن تر را از رابطه حذف نمود).

سنجش فعالیت پراکسیداز

طبق روش Koroi (۱۹۸۹)، ۲ میلی‌لیتر تامپون اسـتات (M ۰/۲، pH= ۵) با ۰/٤ میلی‌لیتر آب اکسـیژنه ۳٪ و ۰/۲ میلـی‌لیتـر بنزیـدین محلـول در الکـل ۵۰°C و M ۰/۰۲ مخلوط گردید. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از عصـاره آنزیمـی بـه مخلوط فوق اضافه شد و جذب نوری آن در طـول مـوج ۵۳۰ نانومتر در مقابل شاهد مناسب خوانده شد و فعالیـت این آنزیم بر حسب $ODmin^{-1}g^{-1}FW$ بیان شد.

سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیداز

طبق روش De Gara و همکـاران (۱۹۹۷)، ۲ میلـی‌لیتـر بافر فسفات (M ۰/۰۵) با ۰/۲ میلی‌لیتر آب اکسیژنه (۳٪) و ۰/۲ میلـی‌لیتـر آسـکوربات ۵۰μM در حمـام یـخ مخلـوط گردید و بلافاصله ۰/۱ میلی‌لیتـر از عصـاره آنزیمـی بـه آن اضافه شد. سپس تغییرات جذب در طول موج ۲٦۵ نانومتر در مقابل شاهد بر حسب $ODmin^{-1}g^{-1}FW$ خوانده شد.

تعیین درصد آب برگ گیاه

برای تعیین درصد آب برگ گیاه، برگ‌های هر یک از میزبان‌های آلوده و غیرآلوده در ۱۰ تکرار انتخاب شد و وزن تر آنها اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها در آون در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ ساعت خشک شدند و وزن خشک آنها نیز اندازه‌گیری شد. سپس با استفاده از فرمول زیر درصد آب اندام برگ تعیین گردید.

وزن خشک اندام – وزن تر اندام = جرم آب

۱۰۰ × جرم آب/وزن تر اندام = درصد آب اندام

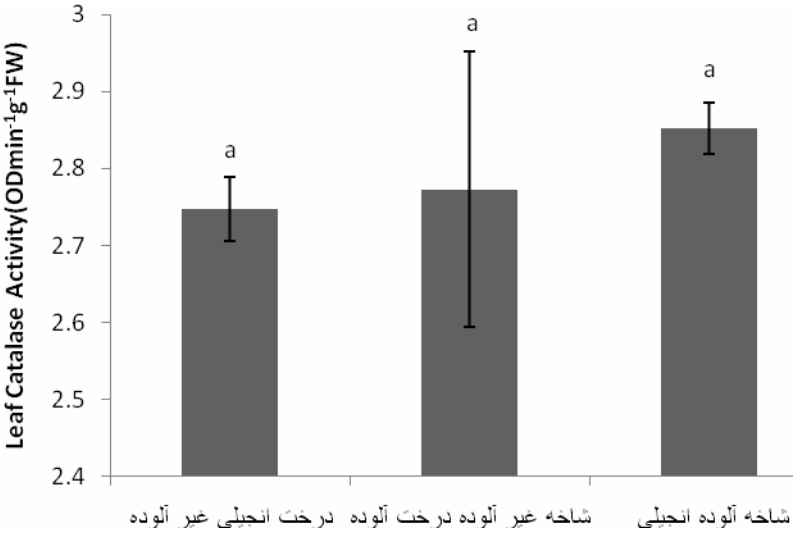
تجزیه و تحلیل آماری

داده‌ها با نرم‌افزار SPSS 16 تحلیل شد و اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ و میانگین ± انحراف معیار (SD) ارائه شد.

نتایج

مقایسه فعالیت کاتالاز در انجیلی آلوده و غیرآلوده در ارتفاع ۷۰۰ متر

میزان فعالیت کاتالاز در انجیلی آلوده، شاخه غیرآلوده انجیلی آلوده و درخت انجیلی غیرآلوده تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد (شکل ۱).



شکل ۱- مقایسه فعالیت کاتالاز در میزبان انجیلی با آزمون Duncan

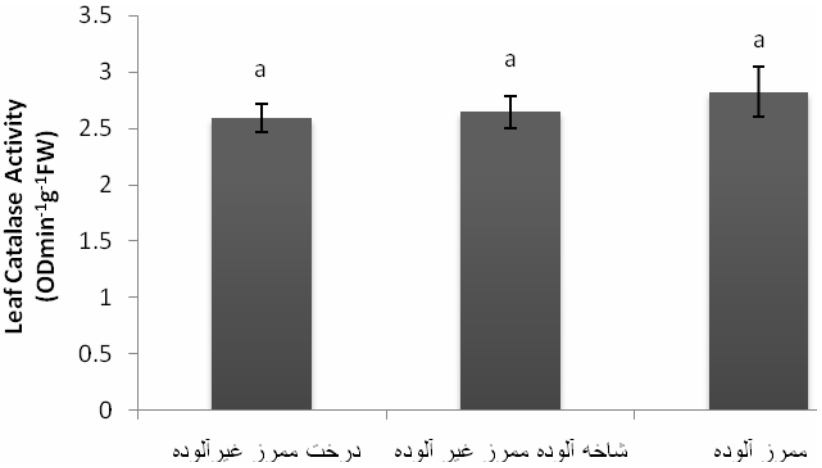
(نتایج در ٤ تکرار و میانگین± SD)

مقایسه میزان فعالیت کاتالاز در میزبان ممرز در ارتفاع ۱۸۰۰ متر

همان‌طور که در شکل ۲ ملاحظه می‌گردد، اختلاف معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم در ممرز آلوده، شاخه غیرآلوده و درخت غیرآلوده مشاهده نمی‌شود.

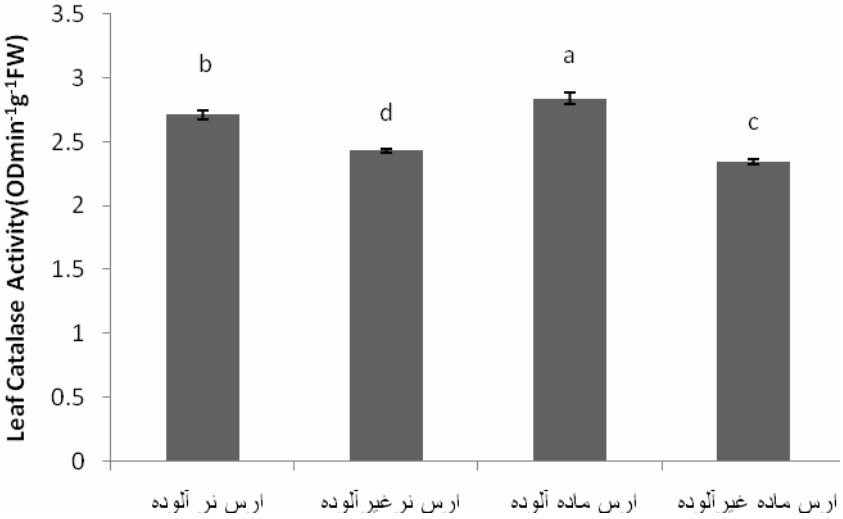
مقایسه میزان فعالیت کاتالاز در ارس نر و ماده آلوده و غیرآلوده میزبان *A. oxycedri* (D.C.) M. Bieb.

در میزان فعالیت کاتالاز مربوط به ارس نر غیرآلوده و ارس نر آلوده به داروش کاذب تفاوت معنی‌داری وجود دارد، همچنین در ارس ماده غیرآلوده و آلوده تفاوت معنی‌داری مشاهده می‌شود (شکل ۳).



شکل ۲- مقایسه میزان فعالیت کاتالاز در میزبان ممرز در ارتفاع ۱۸۰۰ متر با آزمون Duncan

(نتایج در ٤ تکرار و میانگین± SD)

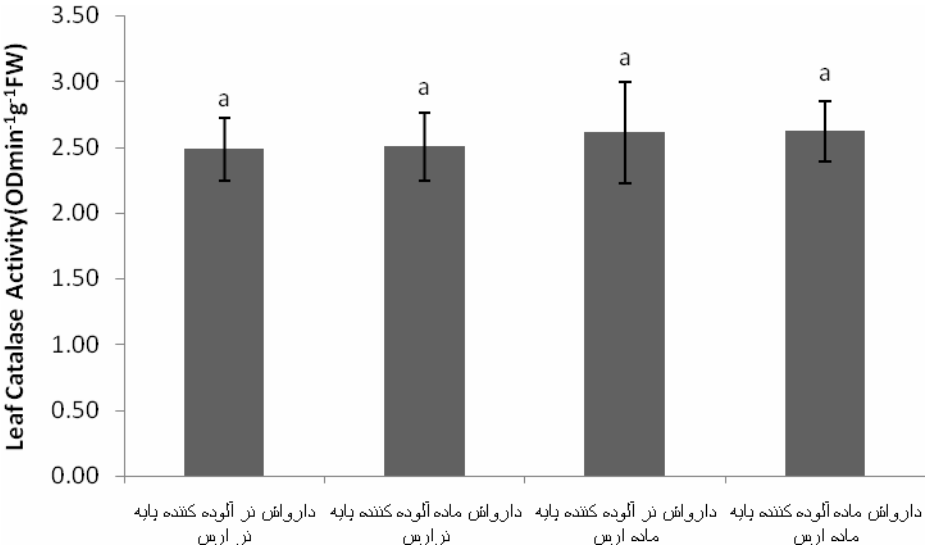


شکل ۳- مقایسه میزان فعالیت کاتالاز در ارس نر و ماده آلوده و غیرآلوده با آزمون Duncan

(نتایج در ٤ تکرار و میانگین± SD)

مقایسه میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در داروواش کاذب نر و ماده آلوده کننده ارس نر و ماده

همان‌طور که در شکل ٤ ملاحظه می‌شود، تفاوت معنی‌داری بین داروواش‌های نر و ماده آلوده‌کننده پایه‌های نر و ماده ارس مشاهده نمی‌شود.

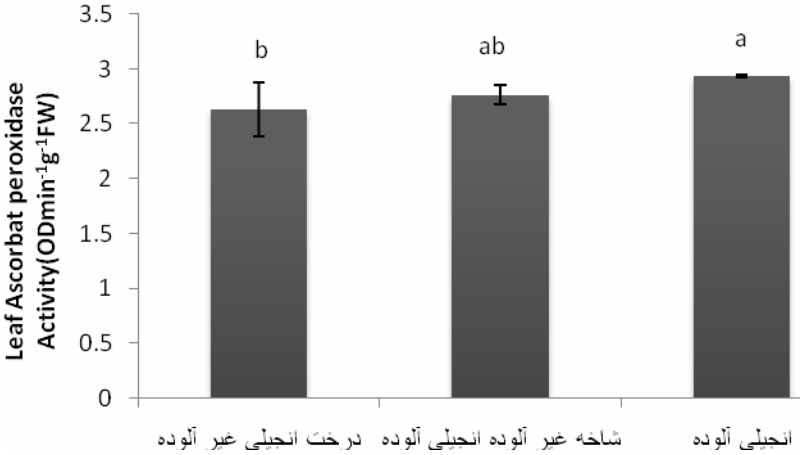


شکل ٤- مقایسه میزان فعالیت کاتالاز در داروش نر و ماده (*A. oxycedri* (D.C.) M. Bieb.) آلوده‌کننده ارس نر و ماده با آزمون Duncan

(نتایج در ٤ تکرار و میانگین± SD)

مقایسه میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز در انجیلی آلوده و غیرآلوده در ارتفاع ۷۰۰ متر

میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز در انجیلی آلوده و غیرآلوده به *V. album* دارای تفاوت معنی‌داری بود، ولی در شاخه غیرآلوده انجیلی آلوده تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌شود (شکل ۵).

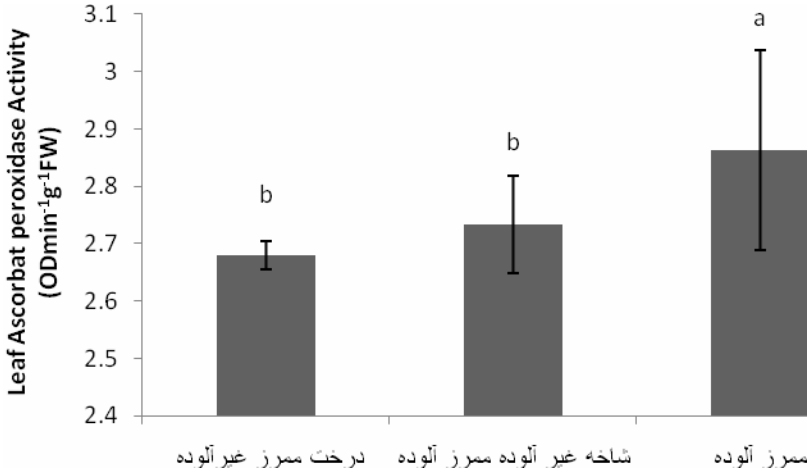


شکل ۵- مقایسه میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز در انجیلی آلوده و غیرآلوده در ارتفاع ۷۰۰ متر با آزمون Duncan

(نتایج در ٤ تکرار و میانگین± SD)

مقایسه میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز در ممرز آلوده و غیرآلوده در ارتفاع ۱۸۰۰ متر

میزان فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز در ممرز غیرآلوده و آلوده به داروواش دارای تفاوت معنی‌داری است، اما در مقایسه با شاخه غیرآلوده تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد (شکل ٦).

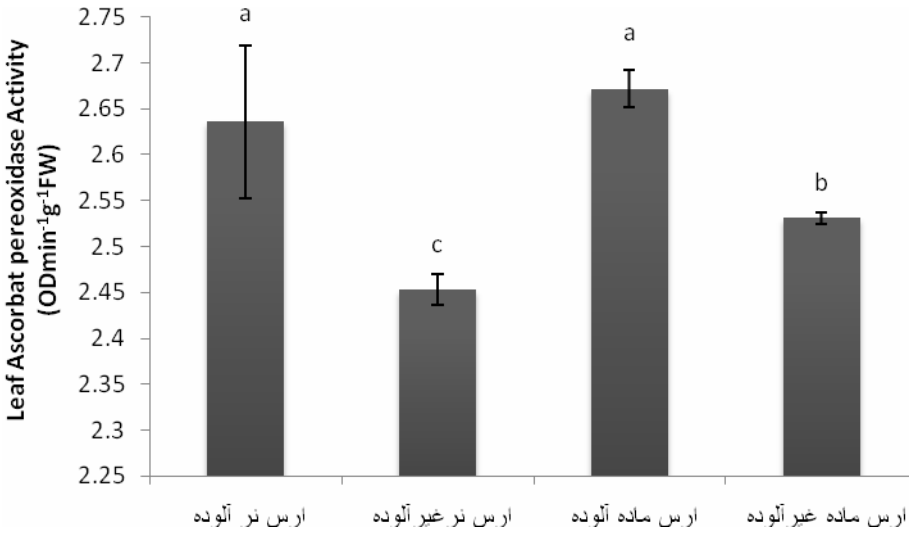


شکل ٦- مقایسه میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز در ممرزآلوده و غیرآلوده در ارتفاع ۱۸۰۰ متر با آزمون Duncan

(نتایج در ٤ تکرار و میانگین± SD)

مقایسه میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز در ارس نر و ماده آلوده و غیرآلوده میزبان *A. oxycedri* (D.C.) M. Bieb

میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز در ارس نر و ماده آلوده و غیرآلوده تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد (شکل ۷).

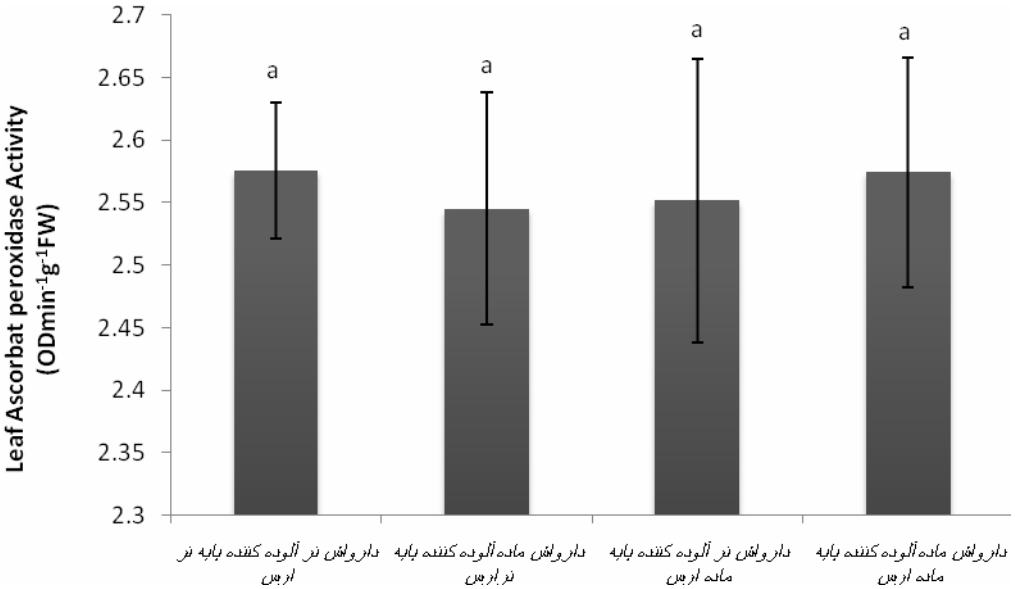


شکل ۷- مقایسه میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز در پایه ارس نر و ماده آلوده و غیرآلوده با آزمون Duncan

(نتایج در ٤ تکرار و میانگین± SD)

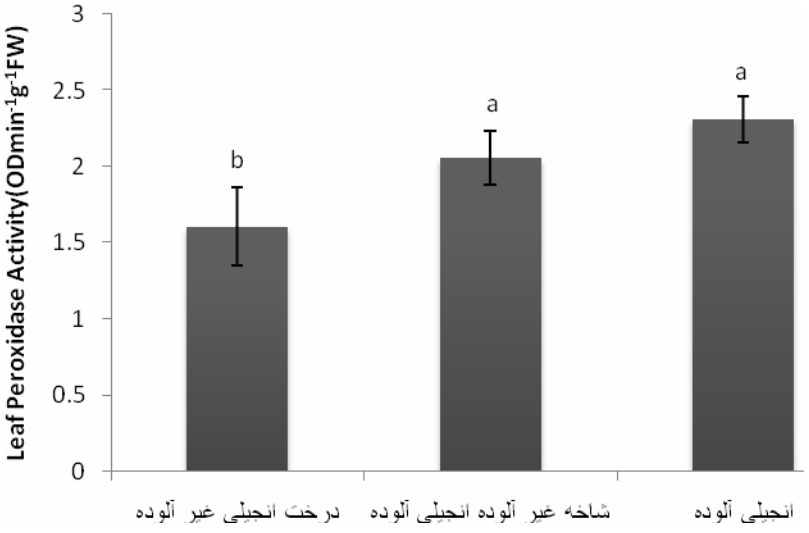
مقایسه میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز در داروش نر و ماده آلوده‌کننده پایه نر و ماده ارس

طبق شکل ۸، میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در داروش نر و ماده آلوده‌کننده ارس نر و ماده تفاوت معنی‌دار مشاهده نمی‌شود.



شکل ۸- مقایسه میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در داروش نر و ماده آلوده‌کننده ارس نر و ماده با آزمون Duncan

(نتایج در ٤ تکرار و میانگین± SD)



شکل ۹- مقایسه میزان فعالیت پراکسیداز در انجیلی آلوده و غیرآلوده در ارتفاع ۷۰۰ متر با آزمون Duncan

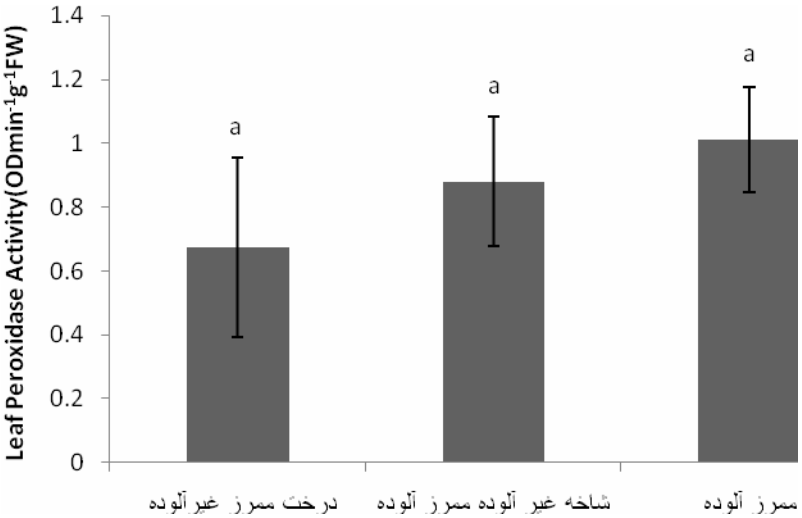
(نتایج در ۳ تکرار و میانگین به صورت± SD)

مقایسه میزان فعالیت پراکسیداز در انجیلی آلوده و غیرآلوده در ارتفاع ۷۰۰ متر

همان‌طور که در شکل ۹ مشاهده می‌گردد، تفاوت معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز انجیلی آلوده به دراواش و انجیلی غیرآلوده وجود دارد، اما در مقایسه با شاخه غیرآلوده انجیلی آلوده تفاوتی وجود ندارد.

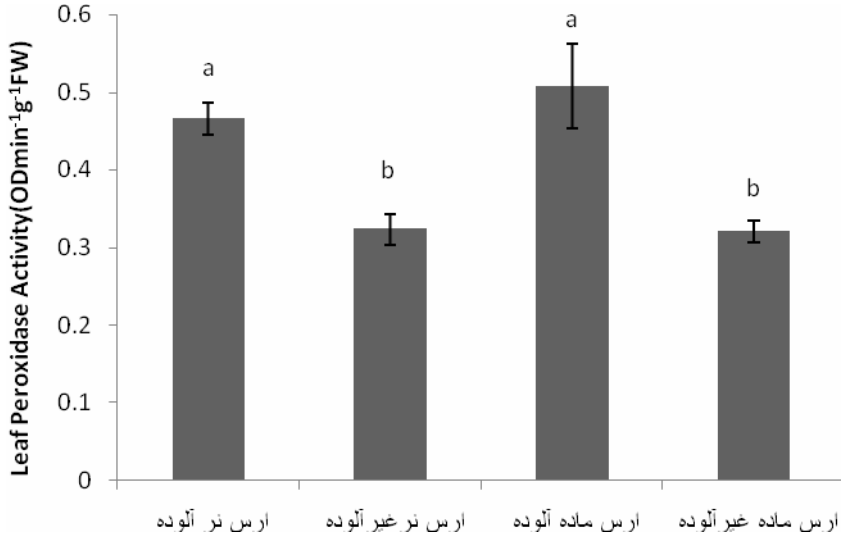
مقایسه میزان فعالیت پراکسیداز در ممرز آلوده و غیرآلوده در ارتفاع ۱۸۰۰ متر

مقایسه میزان فعالیت پراکسیداز در ممرز آلوده و غیرآلوده تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد (شکل ۱۰).



شکل ۱۰- مقایسه میزان فعالیت پراکسیداز در ممرز آلوده و غیرآلوده در ارتفاع ۱۸۰۰ متر با آزمون Duncan

(نتایج در ۳ تکرار و میانگین به‌صورت± SD)



شکل ۱۱- مقایسه میزان فعالیت پراکسیداز در پایه ارس نر و ماده آلوده و غیرآلوده با آزمون Duncan

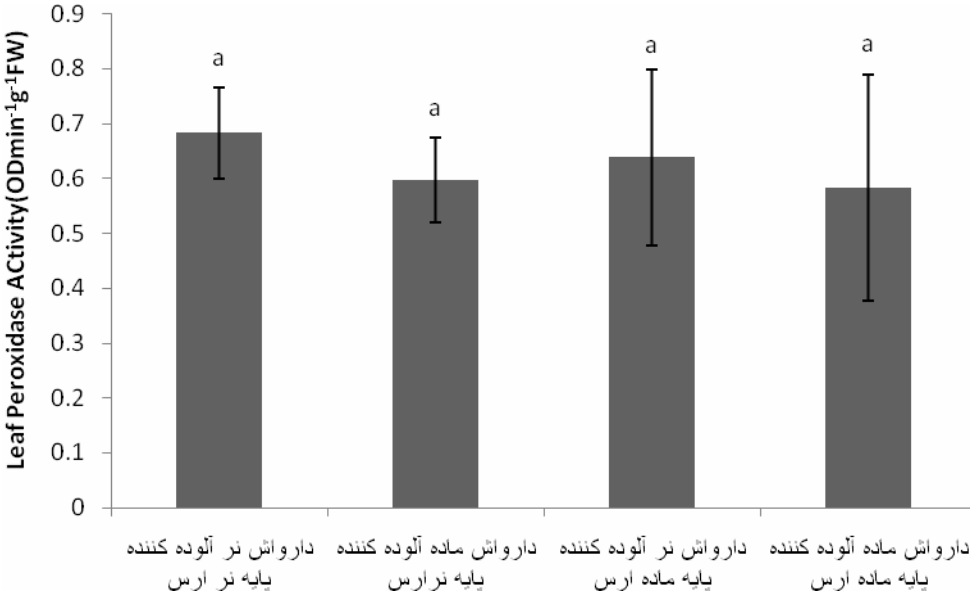
(نتایج در ٤ تکرار و میانگین± SD)

مقایسه میزان فعالیت پراکسیداز در ارس نر و ماده آلوده و غیرآلوده

ارس نر و ماده آلوده و غیرآلوده تفاوت معنی‌داری را در میزان فعالیت پراکسیداز نشان می‌دهند (شکل ۱۱).

مقایسه میزان فعالیت پراکسیداز در داروش کاذب نر و ماده آلوده‌کننده پایه نر و ماده ارس

فعالیت این آنزیم در داروش نر و ماده آلوده‌کننده ارس نر و ماده تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (شکل ۱۲).



شکل ۱۲- مقایسه میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در داروش نر و ماده آلوده‌کننده ارس نر و ماده با آزمون Duncan

(نتایج در ۳ تکرار و به صورت میانگین± SD)

بررسی درصد آب اندام گیاه در میزبان آلوده و غیرآلوده

طبق جدول ۱، نتایج نشان داد که درصد آب در برگ گیاه آلوده به داروش کمتر از گیاه غیرآلوده است، که در مورد انجیلی، ممرز و ارس نر تفاوت معنی‌داری را نشان داد ولی در مورد ارس ماده تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

جدول ۱- درصد آب اندام گیاه (برگ) در میزبان آلوده و غیرآلوده

درخت میزبان	آلوده	غیرآلوده
انجیلی	٤٧/٩٥٩ ± ٣/٧٣ b	٦٩/٣٧٩ ± ٧/١٥ a
ممرز	٤٧/٢١١ ± ٦/٩١ b	٥٢/٥٩٥ ± ٥/٨٧ a
ارس نر	٤٣/٤٥٨ ± ٢/٣٢ b	٤٦/٨٨٢٦ ± ٢/٠٢ a
ارس ماده	٤٥/٥٥٧ ± ٥/٩١ a	٤٨/١١ ± ٣/٤٣ a

حروف لاتین مشابه نشانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ با آزمون دانکن (اعداد نشانگر X ± SD)

بحث

همان‌طور که اشاره شد، داروَاش گیاهی نیمه‌انگلی است و برای تأمین آب و عناصر معدنی مورد نیاز وابسته به میزبان است (Jorgensen, 2004؛ Briggs, 2003؛ Watson, 2001).

فرضیه این تحقیق، نشان دادن اثر آلودگی دو گونه داروَاش بر افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی جهت مقابله با تنش ایجاد شده توسط انگل در گیاه میزبان بوده‌است. با توجه به نتایج بدست‌آمده، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در هر ۳ آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات‌پراکسیداز، در شاخه آلوده به داروَاش بیشتر از شاخه غیرآلوده و نیز درخت سالم بوده‌است. به‌طور دقیق‌تر، فعالیت کاتالاز در انجیلی و ممرز آلوده و غیرآلوده و نیز پراکسیداز در ممرز آلوده و غیرآلوده تفاوت را نشان داد، ولی این تفاوت معنی‌دار نبود. نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج بدست‌آمده از آزمایش تعیین درصد آب اندام در گیاه آلوده و غیرآلوده مطابقت می‌کند. همان‌طور که مشاهده شد، درصد آب برگ در میزبان آلوده کمتر از برگ درخت غیرآلوده بود.

سازگاری گیاهان با تنش خشکی اغلب با سطوح افزایش‌یافته گونه‌های فعال اکسیژن مانند آنیون سوپراکسید، پراکسید هیدروژن، رادیکال هیدروکسیل و اکسیژن یکتایی که برای سلول‌ها سمّی هستند، مرتبط است (Chaves *et al.*, 2003؛ Smirnoff, 1993). از طرفی تولید و انباشتگی این گونه‌های فعال اکسیژن پاسخ دفاعی چندگانه‌ای را فعال می‌کند، ازجمله فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) می‌باشد که تبدیل سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن کاتالیز می‌کند. همچنین شامل کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز است که برای از بین بردن H_2O_2 تولید شده، عمل می‌نمایند (Chaves *et al.*, 2003؛ Horemans *et al.*, 2000). افزایش کاتالاز در گیاهان یک خصوصیت سازشی محسوب می‌شود که با کاهش دادن میزان هیدروژن پراکسید حاصل از متابولیسم سلولی، از آسیب رسیدن به بافت جلوگیری می‌کند (Jagtap & Bhargava, 1995).

Bigler و همکاران (۲۰۰۶) اثر داروَاش را بر مرگ ناشی از تنش خشکی ایجاد شده در درخت میزبان نشان دادند. Rigling و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که داروَاش کاذب مرگ ناشی از خشکی را در میزبان خود افزایش می‌دهد. Galiano و همکاران (۲۰۱۰) نیز با مطالعه‌ای که روی مرگ کاج اسکاتلندی داشتند اثر منفی داروَاش را بر این پدیده ثابت کردند و نشان دادند که آسیب‌پذیری درخت آلوده به داروَاش کاذب با ایجاد استرس خشکی افزایش یافته و منجر به مرگ درخت می‌شود (Williams & Liebhold, 2002؛ Breshears *et al.*, 2005؛ Dobbertin *et al.*, 2007؛ Negron *et al.*, 2009). همچنین Zhang و Kirkham (۱۹۹٤) گزارش کردند که با ایجاد تنش خشکی بر ۳ گونه گندم میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز افزایش یافت و نتایج بدست‌آمده در این تحقیق، نتایج این محققان را تأیید می‌کند. همچنین Mittler و Zilinskas (۱۹۹٤) نشان دادند که با اعمال تنش خشکی بر گیاه نخود، سطوح آنزیم‌های سیتوزولی آسکوربات‌پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز افزایش یافت. Pokrovskaia (۱۹۵۷) گزارش کردند که فعالیت آنزیم کاتالاز در همه گیاهان در نتیجه ایجاد تنش افزایش می‌یابد.

طبق نتایج بدست‌آمده، در بیشتر موارد میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه آلوده به داروَاش نسبت به

گیاه غیرآلوده افزایش یافت. در مورد جنسیت، در داروا‌ش نر و ماده‌ای که ارس نر را آلوده می‌کنند و نیز در داروا‌ش نر و ماده‌ای که ارس ماده را آلوده کرده‌اند، هیچ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشده‌است، بنابراین جنسیت در میزان فعالیت آنزیم تأثیری نداشته‌است؛ ولی با تعیین درصد آب موجود در برگ درخت میزبان آلوده دیده شد که در مقایسه با برگ درخت غیرآلوده دارای درصد آب کمتری است. بنابراین حضور داروش بر روی درخت میزبان و استفاده از منابع آبی میزبان، باعث ایجاد تنش کم‌آبی شده و در نتیجه آن گیاه با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با این تنش مقابله می‌کند.

منابع مورد استفاده

- کرتولی‌نژاد، د.، حسینی، س.م.، میرنیا، س. و شایان‌مهر، ف.، ۱۳۸٦. اثر داروا‌ش بر ٤ عنصر غذایی Mg، Mn، Na و Zn و سطح و وزن برگ درختان میزبان در جنگلهای هیرکانی. پژوهش و سازندگی (در منابع طبیعی)، ۲۰(٤): ۵۲-٤۵.
- Bannister, P., King, W.M. and Strong, G.L., 1999. Aspects of water relations of *Ileostylus microanthus* (Hook. F.) tieghem, a New Zealand mistletoe. Annals of Botany, 84: 79-86.
- Barney, C.W., Hawksworth, F.G. and Geils, B.W., 1998. Hosts of *Viscum album*. European Journal of Forest Pathology, 28(3): 187-208.
- Bigler, C., Bräker, O.U., Bugmann, H., Dobbertin, M. and Rigling, A., 2006. Drought as an inciting mortality factor in Scots pine stands of the Valais, Switzerland. Ecosystems, 9: 330-343.
- Breshears, D.D., Cobb, N.S., Rich, P.M., Price, K.P., Allen, C.D., Balice, R.G., Romme, W.H., Kastens, J.H., Floyd, M.L., Belnap, J., Anderson, J.J., Myers, O.B. and Meyer, C.W., 2005. Regional vegetation die-off in response to global-change-type drought. Proceedings of the National Academy of Science of the United State of America, 102(42): 15144-15148.
- Briggs, J., 2003. Christmas curiosity or medical marvel? A Seasonal Review of Mistletoe. Biologist, 50(6): 249-254.
- Büssing, A. and Schietzel, M., 1999. Apoptosis-inducing properties of *Viscum album* L. extracts from different host trees, correlate with their content of toxic mistletoe lectins. Anticancer Research, 19: 23-28.
- Büssing, A., Azhari, T., Ostendorp, H., Lehnert, A. and Schweizer, K., 1994. *Viscum album* L. extracts reduce sister chromatid exchanges in cultured peripheral blood mononuclear cells. European Journal of Cancer, 30(12): 1836-1841.
- Chance, B. and Maehly, A.C., 1995. Assay of catalase and peroxidase. Methods in Enzymology, 2: 764-775.
- Chaves, M.M., Maroco, J.P. and Presia, J.S. 2003. Understanding plant responses to drought-from genes to the whole plant. Functional Plant Biology, 30: 239-264.
- Coder, K.D., 2008. American Mistletoe (*Phoradeneron seratinum* var *seratinum*) Infection in Trees. Warnell School Publisher, university of Georgia, 37p.
- De Gara, L., de Pinto, M.C. and Arrigoni, O., 1997. Ascorbate synthesis and ascorbate peroxidase activity during the early stage of wheat germination. Physiologia Plantarum, 100: 894-900.
- Deliorman, D., Ergun, F., Şener, B. and Palittapongarnpim, P., 2001. Evaluation of antimycobacterial activity of *Viscum album* subspecies. Pharmaceutical biology, 39: 381-383.
- Dobbertin, M., Wermelinger, B., Bigler ,C., Bu rgi, M., Carron, M., Forster,B., Gimmi ,U. and Rigling, A., 2007. Linking increasing drought stress to Scots Pine mortality and bark beetle infestations. The ScientificWorld Journal, 7(S1): 231-239.
- Fischer, J.T., 1983. Water relations of mistletoes and their hosts: 161-184. In: Calder, M. and Bernhard, T., (Eds.). The Biology of Mistletoes. Academic Press, Sydney, 348p.
- Galiano, L,. Martinez-Vilata, J. and Lloret, F., 2010. Drought-Induced Multifactor Decline of Scots Pine in the Pyrenees and Potential Vegetation Change by the Expansion of Co-occurring Oak Species. Ecosystems, 13(7): 978-991.
- Horemans, N., Foyer, C.H. and Asard, H., 2000. Transport and action of ascorbate at the plant plasma membrane. Trends in Plant Science, 5(6): 263-267.
- Jagtap, V. and Bhargava, S., 1995. Variation in the antioxidant metabolism of drought tolerant and drought susceptible varieties of *Sorghum bicolor* L. exposed to high light, low water and high temperature stress. Journal of Plant Physiology, 145(1-2): 195-197.
- Jorgensen, H.S., 2004. About *Viscum*, a Mistletoe, *Viscum* dk (http://www.Viscum. dk/eng-sider/aboutViscum.htm).
- Jurin, M., Zarkovic, N., Hrzenjak, M. and Ilic, Z., 1993. Antitumour and immunomodulatory effects of the *Viscum album* L. Preparation Isorel Oncology, 50(6): 393-398.

A. Maksimova, sobornik statei, Moskva, Akad, Nauk., USSR, pp. 268-274. In Russian. Cited by Mozafar, 1969.
- Rigling, A., Eilmann, B., Koechli, R. and Dobbertin, M., 2010. Mistletoe-induced crown degradation in scots pine in a xeric environment. Tree Physiology, 30(7): 845-852.
- Smirnoff, N., 1993. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. New Phytologist, 125: 27-58.
- Takayoshi, H. and Mikio, S.H., 1967. Changes in activity of D-Glucose-6-phosphate: NADP and 6-phospho-D-gluconate: NADP oxidoreductases in relation to lignifications of Bamboo. Plant and Cell Physiology, 8(1): 71-78.
- Watson, D.M., 2001. Mistletoe, a keystone resource in forests and woodlands worldwide. Annual Review of Ecology and Systematics, 32: 219-249.
- Williams, D.W. and Liebhold, A.M., 2002. Climate change and the outbreak ranges of two North American bark beetles. Agricultural and Forest Entomology, 4: 87-99.
- Zarkovic, K., Vukovic, T., Loncaric, I., Miletic, M., Zarkovic, K., Borovic, S., Cipak, A., Sabolovic, S., Konitzer, S. and Mang, S., 2001. An overview on anticancer activities of the *Viscum album* extract isorel. Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals, 16(1): 55-62.
- Zhang, J.X. and Kirkham, M.B., 1994. Drought-Stress-Induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase, and peroxidase in wheat. Plant and Cell Physiology, 35(5): 785-791.
- Karagöz, A., Önay, E., Arda, N. and Kuru, A., 2003. Antiviral potency of mistletoe (*Viscum album* ssp. *album*) extracts against human parainfluenza virus type 2 in vero cells. Phytotherapy Research, 17(5): 560-562.
- Karataş-Düğenci, S., Arda, N. and Candan, A., 2003. Some medicinal plants as immunostimulant for fish. Journal of Ethnopharmacology, 88: 99-106.
- Koroi, S.A., 1989. Gel electrophoresis tissue and spectrophotometrscho unter uchungen zomeinfiuss der temperature auf struktur der amylase and peroxidase isoenzyme. Physiological Reviwe, 20: 15-23.
- Kovacs, E., 2002. The in vitro effect of *Viscum album* (VA) extract on DNA repair of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) in cancer patients. Phytotherapy Research, 16(2): 143-147.
- Maier, G. and Fiebig, H.H., 2002. Absence of tumor growth stimulation in a panel of 16 human tumor cell lines by mistletoe extracts in vitro. Anticancer Drugs, 13(4): 373-379.
- Mittler, R. and Zilinskas, B.A., 1994. Regulation of pea cytosolic ascorbate peroxidase and other antioxidant enzymes during the progression of drought stress and following recovery from drought. The Plant Journal, 5(3): 397-405.
- Negron, J.F., McMillin, J.D., Anhold, J.A. and Coulson, D., 2009. Bark beetle-caused mortality in a drought-affected ponderosa pine landscape in Arizona. Forest Ecology and Management, 275(4): 1353-1362.
- Pokrovskaia, E.I., 1957. Certain data on oxidation-reduction processes in halophytes. Pamiati Akad, H.,

Effect of two species of mistletoe (*Viscum album* L. & *Arceuthobium oxycedri* (D.C.) M. Bieb.) on activity of antioxidant enzyme of infected host species in Gorgan forests

M. Ghorbanli[1*], A. Sateyi[2] and H. Kaboli Qarehtapeh[3]

1*- Corresponding author, Department of Biology, Islamic Azad University of Gorgan, Iran
E-mail: mghorbanli@gorganiau.ir
2- Department of Biology, Islamic Azad University of Gorgan, Iran
3- MSc. Student, Islamic Azad University of Gorgan, Iran

Received: November 2010 Revised: April 2011 Accepted: April 2011

Abstract

Mistletoe is an evergreen, perennial and epiphytic plant of Loranthaceae which obtains all of its required water and nutrients such as Nitrogen and a small part of the food from the host plant by a root-like organ called "Haustorium". This plant is very important in terms of medical and pharmaceutical and some of its effects in the treatment of many diseases have been proved. Two species of "*Viscum album* L." and "*Arceuthobium oxycedri* (D.C.) M. Bieb." both from the family Viscaceae are epiphytic plants. The dominant hosts of *Viscum album* L. in Gorgan forest are *Parrotia persica* (D.C.) C.A.Mey and *Carpinus betulus* L. respectively in altitude of 700 m and 1800m (above sea level). The host of *Arceuthobium oxycedri* (D.C.) M. Bieb is *Juniperus polycarpus* L in 2200m (above sea level). In this study, leaves and twigs of mistletoe and the host were collected. Three infected hosts from each species and three uninfected trees as control with similar conditions of diagonal and height were randomly selected, and the effects of these epiphytes on activity of antioxidant enzymes of the host plants, including Catalase, Peroxidase and Ascorbate peroxidase, were studied. The results showed that the infection of epiphyte caused drought stress in host plant and the activity of these enzymes was increased. The activity of Catalase in infected and uninfected hosts of *V.album* (*P. persica* and *C. betulus)* did not show significant differences, but in host of *A. oxycedri* (*J. polycarpus*) in male and female trees significant differences were observed. Activity of Ascorbate peroxidase and Peroxidase was significantly increased in all of infected hosts. But in none of the samples, activity of these enzymes was not dependent on the genus.

Key words: *Viscum album* L., *Arceuthobium oxycedri* (D.C.) M. Bieb., epiphyte, antioxidant enzymes.