

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

مه‌لقا قربانلی^{۱*}، آرین ساطعی^۲ و حرمت کابلی قره‌تپه^۳

*- 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 پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۰

تاریخ اصلاح نهایی: فروردین ۱۳۹۰

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۸۹

چکیده

دارویش 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. (دارویش حقیقی) و *Arceuthobium oxycedri* (D.C.) M. Bieb. (دارویش 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.) 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 دارویش 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 دارویش، 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 دارویش و غیرآلوده دارای 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 دارویش 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: دارویش (*Viscum album* L.)، دارویش کاذب (*Arceuthobium oxycedri* (D.C.) M. Bieb.)، اپی‌فیت، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان.

مقدمه

داروаш‌ها 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، ۱۳۸۶).

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 (Maier & Fiebig, Zarkovic et al., 2001)، آنتی‌میکروبی و باکتریایی (Deliorman et al., 2002)، آنتی‌ویروسی (Karagöz et al., 2003)، القاء‌کنندگی آپوپتوز (Büssing & Schietzel, 1999) و محرک سیستم ایمنی (Karataş-Jurin et al., 1993) (Düğenci et al., 2003) گزارش شده‌است. همچنین عصاره داروаш می‌تواند رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید شده در طی رادیوتراپی و شیمی درمانی را سرکوب کند (Kovacs, 2002; Büssing et al., 1994).

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 به صورت 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 به صورت کلنی‌های ۶۰-۵۰ سانتی‌متری دیده می‌شود،

دوپایه است و برگ‌های کامل و چرمی دارد، در حالی‌که گونه *A. oxycedri* (D. C.) M. Bieb. به صورت 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 (۲۰۰۶) نشان دادند که این گونه از داروаш برای درخت تنش بی‌آبی ایجاد می‌کند و به این ترتیب باعث مرگ درخت می‌شود.

Fischer (۱۹۸۳) و Bannister و همکاران (۲۰۰۲) بیان نمودند که داروаш 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.) A. Mey. (C.), ممرز (*Carpinus betulus* L.) و ارس (*Juniperus polycarpus* L.) به منظور 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 تا ۳۶ ۳۶ ۰۰/۸۱ و طول جغرافیایی ۵۴ ۲۸ ۱۹/۹۰ تا ۵۴ ۳۵ ۱۳/۷۸ 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

سنجش فعالیت کاتالاز

برای سنجش فعالیت این آنزیم از روش Chance و Maehly (۱۹۵۵) استفاده شد. طبق این روش، ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات (۰/۰۵ M) به ۰/۲ میلی لیتر آب اکسیژنه ۳٪ در حمام یخ اضافه شد. سپس ۰/۲ میلی لیتر از عصاره آنزیمی تازه استخراج شده نمونه‌ها به آن اضافه شد و جذب نوری آن در طول موج ۲۴۰ نانومتر در مقابل شاهد مناسب خوانده و فعالیت این آنزیم بر حسب $OD_{min}^{-1}g^{-1}FW$ 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 Koroï (۱۹۸۹)، ۲ میلی لیتر تامپون استات (۰/۲ M، pH=۵) با ۰/۴ میلی لیتر آب اکسیژنه ۳٪ و ۰/۲ میلی لیتر بنزیدین محلول در الکل $50^{\circ}C$ و ۰/۰۲ M مخلوط گردید. سپس ۰/۱ میلی لیتر از عصاره آنزیمی به مخلوط فوق اضافه شد و جذب نوری آن در طول موج ۵۳۰ نانومتر در مقابل شاهد مناسب خوانده شد و فعالیت این آنزیم بر حسب $OD_{min}^{-1}g^{-1}FW$ بیان شد.

سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیداز

طبق روش De Gara و همکاران (۱۹۹۷)، ۲ میلی لیتر بافر فسفات (۰/۰۵ M) با ۰/۲ میلی لیتر آب اکسیژنه (۳٪) و ۰/۲ میلی لیتر آسکوربات $50\mu M$ در حمام یخ مخلوط گردید و بلافاصله ۰/۱ میلی لیتر از عصاره آنزیمی به آن اضافه شد. سپس تغییرات جذب در طول موج ۲۶۵ نانومتر در مقابل شاهد بر حسب $OD_{min}^{-1}g^{-1}FW$ خوانده شد.

گونه انجیلی، نمونه برگ از شاخه‌های سالم و آلوده درختان آلوده، هر کدام در ۳ تکرار و نمونه برگ درختان غیرآلوده نیز در ۳ تکرار به‌عنوان شاهد و جهت مقایسه انتخاب شد.

در ارتفاع ۱۸۰۰ متر، گونه *V. album* L. و میزبان آن درخت ممرز بررسی شدند. به همان ترتیب درخت ممرز غیرآلوده، شاخه آلوده و شاخه غیرآلوده از درخت آلوده در ۳ تکرار انتخاب شدند. در ارتفاع ۲۲۰۰ متر گونه *A. oxycedri* (D. C.) M. Bieb. گیاهی دوپایه و میزبان آن نیز که نوعی ارس *Juniperus polycarpus* L. است، گیاهی دو پایه می‌باشد. بنابراین بر روی هر پایه ارس نر یا ماده، کلنی‌های دارویش نر و ماده در ۳ تکرار انتخاب شدند.

سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدان

سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی برای ۳ آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز انجام شد. سنجش کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در ۴ تکرار و پراکسیداز در ۳ تکرار انجام شد. برای سنجش فعالیت این آنزیم‌ها ابتدا عصاره آنزیمی تهیه شد (Takayoshi & Mikio, 1967). سپس طبق این روش ۱/۲ گرم تریس، ۲ گرم اسید آسکوربیک، ۳/۸ گرم بوراکس، ۲ گرم EDTA_{Na} و ۵۰ گرم پلی‌اتیلن گلیکول ۲۰۰۰ توسط ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به حجم رسید. آنگاه ۱ گرم وزن تر برگ با ۴ میلی لیتر از این عصاره به مدت نیم ساعت ساییده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس به مدت نیم ساعت با سرعت ۴۰۰ rpm سانتریفیوژ شد و از محلول فوقانی به‌عنوان عصاره آنزیمی استفاده 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 ۲۴ ساعت خشک شدند و وزن خشک آنها نیز اندازه‌گیری شد. سپس با استفاده از فرمول زیر درصد آب اندام برگ تعیین گردید.

$$\text{وزن خشک اندام} - \text{وزن تر اندام} = \text{جرم آب}$$

$$100 \times \text{جرم آب} / \text{وزن تر اندام} = \text{درصد آب اندام}$$

تجزیه و تحلیل آماری

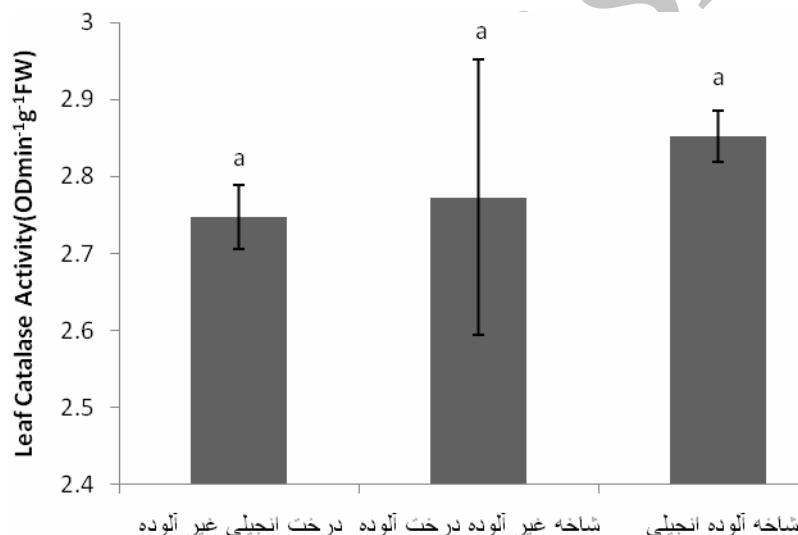
داده‌ها با نرم‌افزار SPSS 16 تحلیل شد و اختلاف معنی‌دار در سطح ۰.۰۵٪ و میانگین \pm انحراف معیار (SD) ارائه شد.

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 ۴ تکرار و میانگین \pm SD)

مقایسه میزان فعالیت کاتالاز در ارس نر و ماده آلوده و

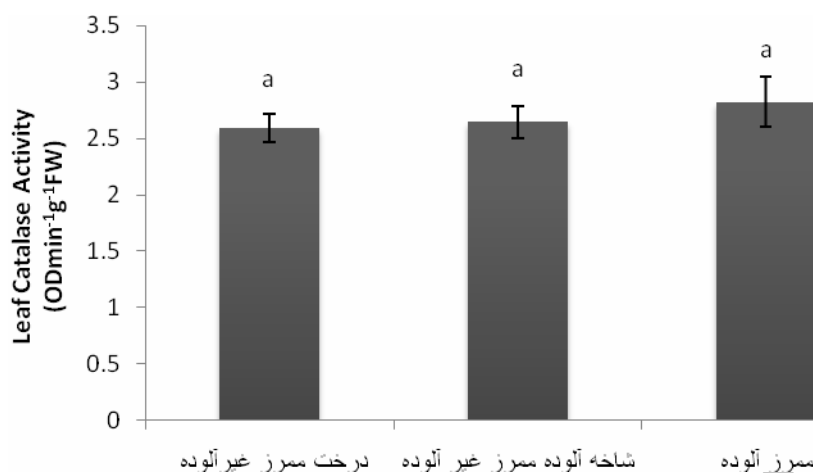
غیرآلوده میزبان *A. oxycedri* (D.C.) M. Bieb.

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

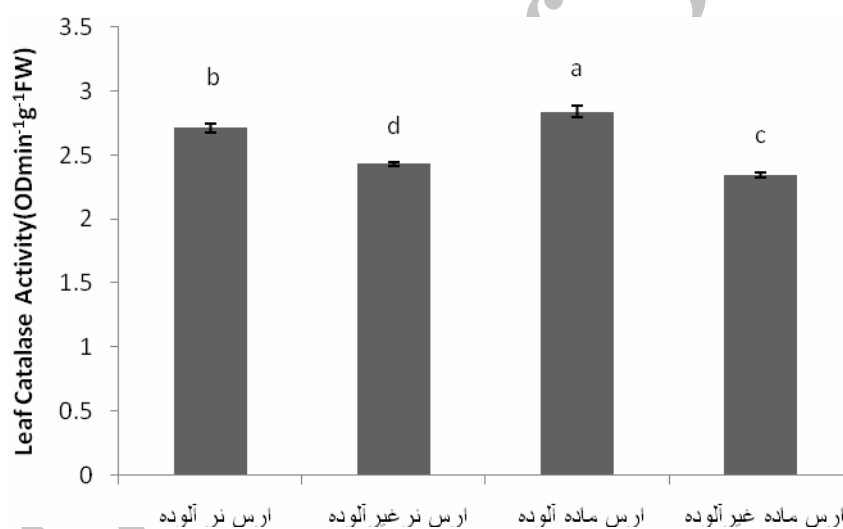
مقایسه میزان فعالیت کاتالاز در میزبان ممرز در ارتفاع

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.



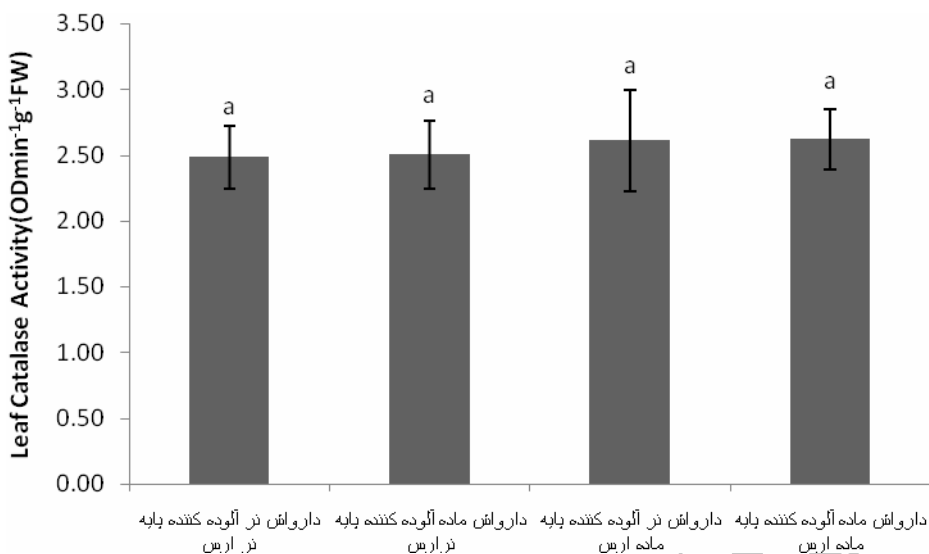
شکل ۲- مقایسه میزان فعالیت کاتالاز در میزبان ممرز در ارتفاع ۱۸۰۰ متر با آزمون Duncan (نتایج در ۴ تکرار و میانگین \pm SD)



شکل ۳- مقایسه میزان فعالیت کاتالاز در ارس نر و ماده آلوده و غیر آلوده با آزمون Duncan (نتایج در ۴ تکرار و میانگین \pm SD)

معنی داری بین دارویش های نر و ماده آلوده کننده پایه های نر و ماده ارس مشاهده نمی شود.

مقایسه میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در دارویش کاذب نر و ماده آلوده کننده ارس نر و ماده همان طور که در شکل ۴ ملاحظه می شود، تفاوت

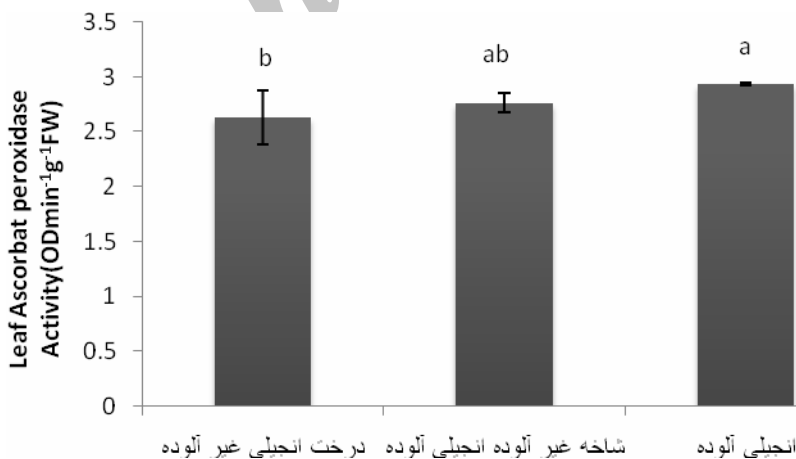


شکل ۴- مقایسه میزان فعالیت کاتالاز در دارویش نر و ماده (*A. oxycedri* (D.C.) M. Bieb.)

آلوده کننده ارس نر و ماده با آزمون Duncan

(نتایج در ۴ تکرار و میانگین \pm SD)

مقایسه میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز در انجیلی غیرآلوده به *V. album* دارای تفاوت معنی داری بود، ولی آلوده و غیرآلوده در ارتفاع ۷۰۰ متر میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز در انجیلی آلوده و غیرآلوده در شاخه غیرآلوده انجیلی آلوده تفاوت معنی داری مشاهده نمی شود (شکل ۵).



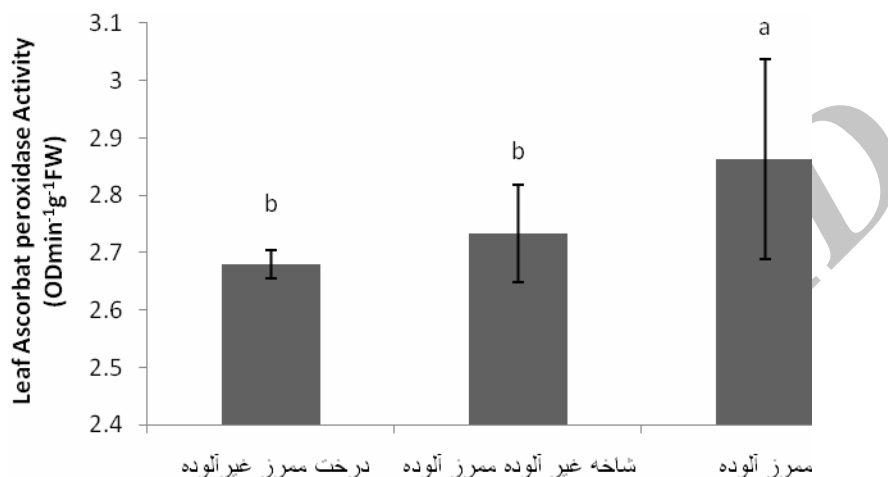
شکل ۵- مقایسه میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز در انجیلی آلوده و غیرآلوده

در ارتفاع ۷۰۰ متر با آزمون Duncan

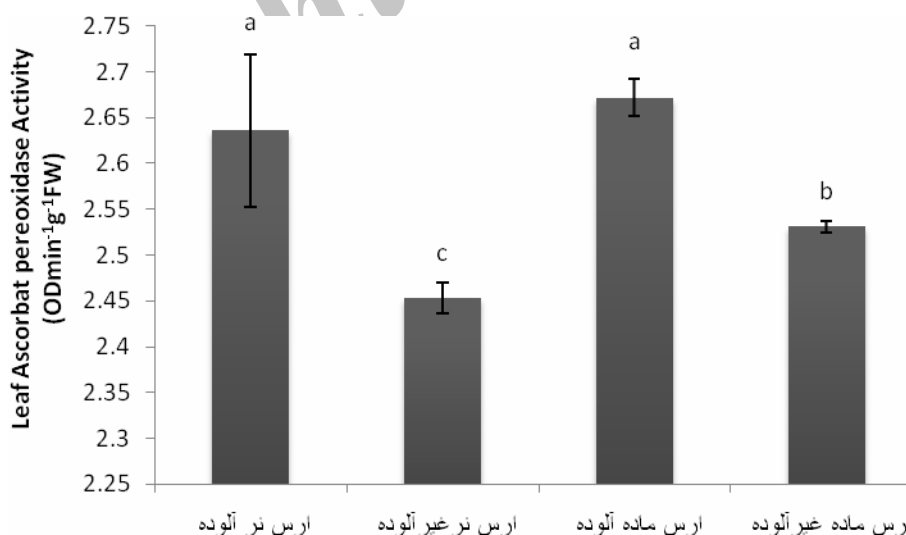
(نتایج در ۴ تکرار و میانگین \pm SD)

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 معنی داری را نشان می‌دهد (شکل ۷).

مقایسه میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز در ممرز آلوده و غیرآلوده در ارتفاع ۱۸۰۰ متر
میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ممرز غیرآلوده و آلوده به داروآش دارای تفاوت معنی داری است، اما در مقایسه با شاخه غیرآلوده تفاوت معنی داری را نشان نمی‌دهد (شکل ۶).



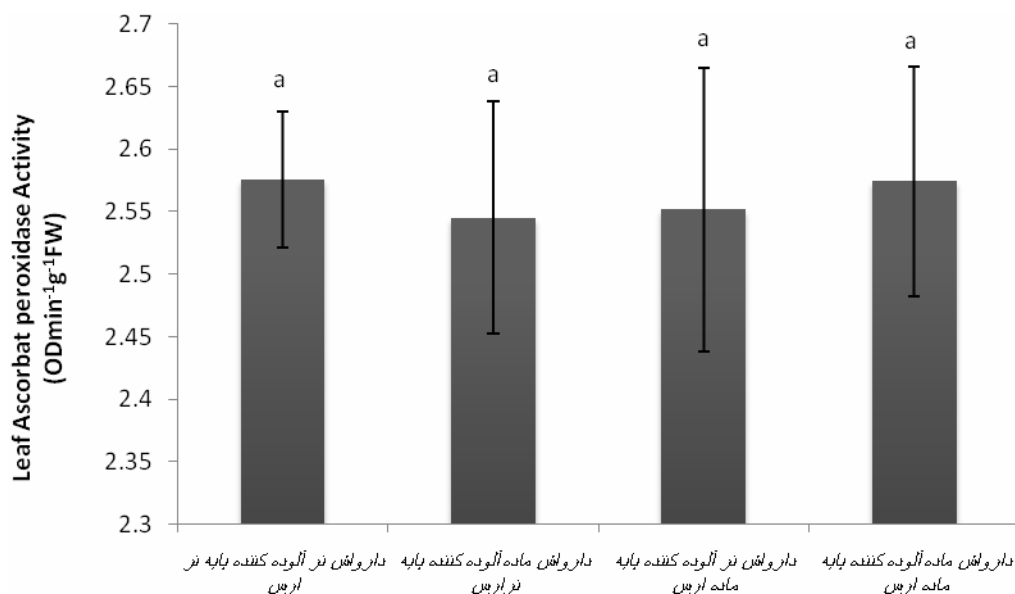
شکل ۶- مقایسه میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز در ممرز آلوده و غیرآلوده در ارتفاع ۱۸۰۰ متر با آزمون Duncan (نتایج در ۴ تکرار و میانگین \pm SD)



شکل ۷- مقایسه میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز در پایه ارس نر و ماده آلوده و غیرآلوده با آزمون Duncan (نتایج در ۴ تکرار و میانگین \pm SD)

در دارویش نر و ماده آلوده‌کننده ارس نر و ماده تفاوت معنی‌دار مشاهده نمی‌شود.

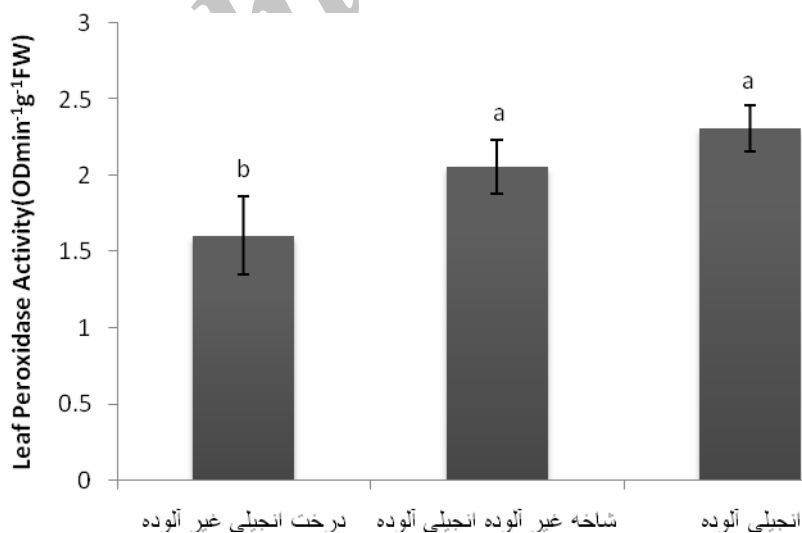
مقایسه میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز در دارویش نر و ماده آلوده‌کننده پایه نر و ماده ارس طبق شکل ۸، میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز



شکل ۸- مقایسه میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در دارویش نر و ماده آلوده‌کننده ارس نر و ماده

با آزمون Duncan

(نتایج در ۴ تکرار و میانگین \pm SD)



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

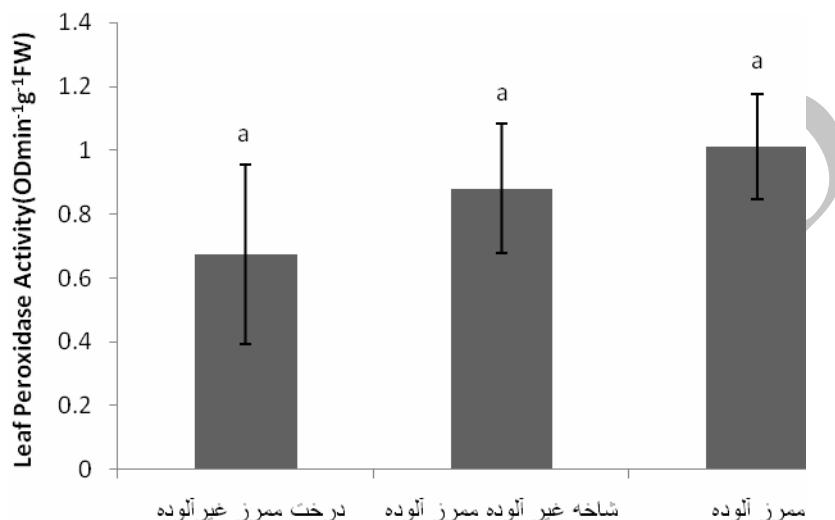
(نتایج در ۳ تکرار و میانگین به صورت \pm SD)

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

مقایسه میزان فعالیت پراکسیداز در ممرز آلوده و غیرآلوده تفاوت معنی داری را نشان نمی دهد (شکل ۱۰).

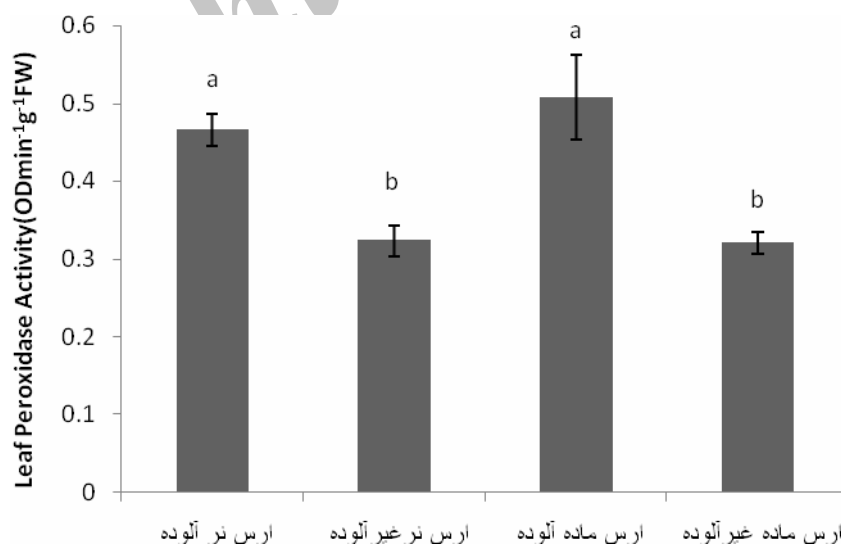
مقایسه میزان فعالیت پراکسیداز در انجیلی آلوده و غیرآلوده در ارتفاع ۷۰۰ متر

همانطور که در شکل ۹ مشاهده می گردد، تفاوت معنی داری در میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز انجیلی آلوده به داروآش و انجیلی غیرآلوده وجود دارد، اما در مقایسه با شاخه غیرآلوده انجیلی آلوده تفاوتی وجود ندارد.



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

(نتایج در ۳ تکرار و میانگین به صورت \pm SD)



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

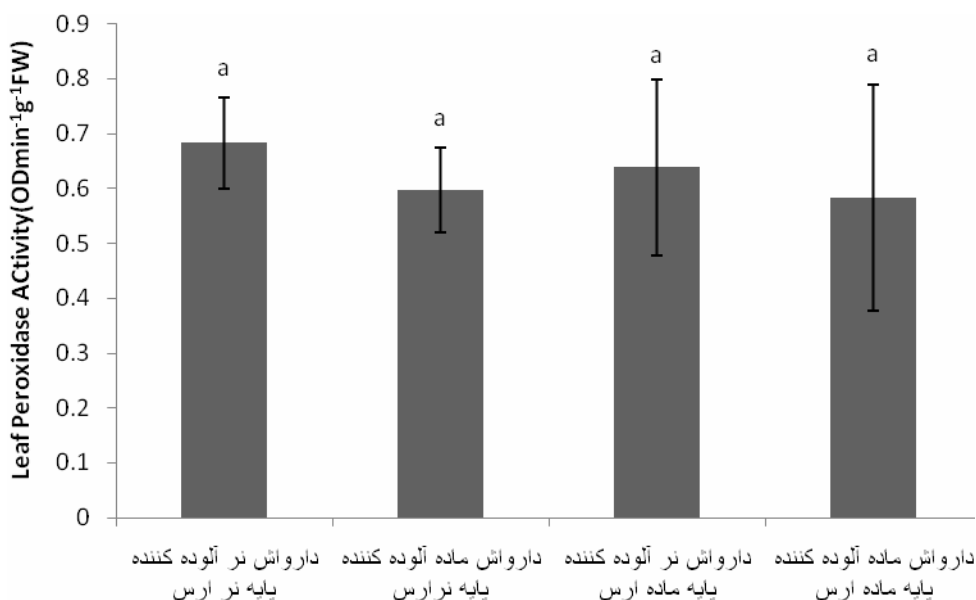
(نتایج در ۴ تکرار و میانگین \pm SD)

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 داروаш کاذب نر و ماده آلوده‌کننده پایه نر و ماده ارس

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



شکل ۱۲- مقایسه میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در دارواش نر و ماده آلوده‌کننده ارس نر و ماده

با آزمون Duncan

(نتایج در ۳ تکرار و به صورت میانگین \pm SD)

مورد انجیلی، ممرز و ارس نر تفاوت معنی‌داری را نشان داد ولی در مورد ارس ماده تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

بررسی درصد آب اندام گیاه در میزبان آلوده و غیرآلوده طبق جدول ۱، نتایج نشان داد که درصد آب در برگ گیاه آلوده به دارواش کمتر از گیاه غیرآلوده است، که در

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

غیرآلوده	آلوده	درخت میزبان
69/379 \pm 7/15 a	47/959 \pm 3/73 b	انجیلی
52/595 \pm 5/87 a	47/211 \pm 6/91 b	ممرز
46/8826 \pm 2/02 a	43/458 \pm 2/32 b	ارس نر
48/11 \pm 3/43 a	45/557 \pm 5/91 a	ارس ماده

حروف لاتین مشابه نشانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۰.۵٪ با آزمون دانکن (اعداد نشانگر \pm SD)

بحث

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

فرضیه این تحقیق، نشان دادن اثر آلودگی دو گونه داروآش بر افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی جهت مقابله با تنش ایجاد شده توسط انگل در گیاه میزبان بوده است. با توجه به نتایج بدست‌آمده، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در هر ۳ آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات‌پراکسیداز، در شاخه آلوده به داروآش بیشتر از شاخه غیرآلوده و نیز درخت سالم بوده است. 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 سمی هستند، مرتبط است (Chaves et al., 2003; Smirnov, 1993). از طرفی تولید و انباشتگی این گونه‌های فعال اکسیژن پاسخ دفاعی چندگانه‌ای را فعال می‌کند، از جمله 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 داروآش را بر مرگ ناشی از تنش خشکی ایجاد شده در درخت میزبان نشان دادند. Rigling و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که داروآش 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 داروآش را بر این پدیده ثابت کردند و نشان دادند که آسیب‌پذیری درخت آلوده به داروآش 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 (۱۹۹۴) 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. Mittler و Zilinskas (۱۹۹۴) 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 داروآش نسبت به

- 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 (*Phoradendron serotinum* var *serotinum*) 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 Palittapongampim, 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/engsider/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.
- گیاه غیرآلوده افزایش یافت. در مورد جنسیت، در داروایش نر و ماده‌ای که ارس نر را آلوده می‌کنند و نیز در داروایش 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 دارویش 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.، ۱۳۸۶. اثر داروایش بر ۴ عنصر غذایی Mg، Mn، Na و Zn و سطح و وزن برگ درختان میزبان در جنگلهای هیرکانی. پژوهش و سازندگی (در منابع طبیعی)، ۲۰(۴): ۵۲-۴۵.
 - 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

- 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.
 - Koroï, S.A., 1989. Gel electrophoresis tissue and spectrophotometrscho unter uchungen zomeinfluss 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.*

Archive

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. Sateyi² and H. Kaboli Qarehtapeh³

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.