

تأثیر موخور (*Loranthus europaeus*) بر برخی پارامترهای بیوشیمیایی برگ بلوط ایرانی (*Quercus brantii*)

علی اصغر حاتم‌نیا^{۱*} و حمیدرضا ناجی^۲

^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

^۲ گروه علوم جنگل، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۰۲، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۴/۰۱/۱۹)

چکیده

موخور (*Loranthus europaeus* Jacq.) یک گیاه نیمه‌انگلی گل‌دار است که روی انواع مختلفی از درختان و درختچه‌ها رشد می‌کند. در اکوسیستم‌های شکننده جنگل‌های زاگرس یکی از بیماری‌های عمده درختان و درختچه‌ها، گیاه موخور می‌باشد که آسیب‌های فراوانی را به این جنگل‌ها وارد کرده است. هدف از پژوهش حاضر، بررسی پارامترهای بیوشیمیایی مختلف در برگ موخور، برگ بلوط ایرانی در شاخه‌های سالم و آلوده به موخور و همچنین بررسی تأثیر گیاه نیمه‌انگلی موخور بر ترکیبات بیوشیمیایی برگ بلوط است. پارامترهای مورد مطالعه شامل کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کاروتنوئید، آنتوسیانین، پرولین، پروتئین کل، فنول کل، ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH و شاخص IC₅₀ (نیمه حداکثر غلظت بازدارندگی) است. نتایج نشان داد که میزان رنگیزه‌های کلروفیلی در برگ موخور به طور معنی‌داری بیشتر از برگ بلوط سالم و آلوده به موخور می‌باشد. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که اختلاف معنی‌داری در میزان پرولین، پروتئین کل، آنتوسیانین، فنول کل، ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH و شاخص IC₅₀ بین برگ موخور، برگ شاخه بلوط آلوده به موخور و برگ شاخه سالم بلوط وجود دارد. نتایج نشان داد که بین پرولین با میزان آنتوسیانین ($R=0.931$)، فنول کل ($R=0.958$) و ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH ($R=0.910$) همبستگی مثبت معنی‌داری وجود دارد، وجود این همبستگی مثبت معنی‌دار بیانگر این واقعیت است که افزایش محتوای مواد محلول سازگار (پرولین) و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نظیر آنتوسیانین و ترکیبات فنولی و همچنین افزایش ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH در برگ شاخه بلوط آلوده به موخور تحت تنش، جز سازوکارهای سازشی درخت بلوط تحت تنش موخور است.

واژگان کلیدی: آنتی‌اکسیدان، پاسخ‌های بیوشیمیایی، تنش، رنگیزه‌های کلروفیلی، موخور

مقدمه

آلی موجود در آوند آبکش گیاه میزبان استفاده می‌کنند. گیاهان انگلی ریشه و ساقه به دو فرم نیمه‌انگلی (Hemiparasite) و تمام انگلی (Holoparasite) وجود دارند (Press and Phoenix, 2005; Scalon and Wright, 2015). موخور (*Loranthus europaeus* Jacq.) یک گیاه اپی‌فیت

بیش از ۴۰۰۰ گونه نهان‌دانه انگلی وجود دارند که اغلب آن‌ها دارای قابلیت رشد روی میزبان‌های گیاهی مختلف هستند. گیاهان انگلی به دو شکل انگلی ریشه و ساقه وجود دارند که به واسطه هستورپیوم به آوند گیاه میزبان نفوذ کرده و از مواد

* نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: a.hatamnia@ilam.ac.ir

و پرولین در برگ پایه‌های مبتلا بیشتر از برگ پایه‌های سالم است و از طرف دیگر میزان قند نامحلول، قند محلول و پروتئین در پایه‌های سالم بیشتر از پایه‌های آلوده می‌باشد.

همانطور که مشخص است، فواید گیاهان دارویی در برابر بیماری‌های مختلف به دلیل وجود بسیاری از مولکول‌های فعال زیستی مانند فنول‌ها، آنتوسیانین‌ها، کاروتنوئیدها و ویتامین‌ها است (Gunathilake et al., 2018). مطالعه Benabderrahim و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که برگ، میوه و شاخه موخور دارای مقادیر زیادی از فنول‌ها بوده که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بالایی است. همچنین، Noman و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که برگ‌های *Loranthus acaciae* Zucc دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی هستند که به علت وجود ترکیبات فنولی موجود در آن است.

هدف از این پژوهش، بررسی محتوای رنگیزه‌های کلروفیلی، کاروتنوئید، آنتوسیانین، پروتئین کل، پرولین، فنول کل و خاصیت آنتی‌اکسیدانی در برگ موخور، برگ بلوط در شاخه‌های سالم و آلوده به موخور و همچنین بررسی تأثیر گیاه نیمه‌انگلی موخور بر ترکیبات بیوشیمیایی برگ بلوط ایرانی است.

مواد و روش‌ها

بعد از بررسی مقدماتی مناطق آلوده به موخور از نظر شیوع و فراوانی در جنگل‌های استان ایلام، رویشگاه قلاجه (طول جغرافیایی ۴۴° ۴۶' و عرض جغرافیایی ۳۳° ۹۲' در ۱۰ کیلومتری شهر آسمان‌آباد از استان ایلام برای نمونه‌برداری انتخاب شد. بدین منظور، در فصل بهار و پاییز سال ۱۴۰۰ از رویشگاه قلاجه با روش خط نمونه (ترانسکت) و قطعه نمونه به مساحت ۱۰۰۰ مترمربع و با فاصله ۲۰۰ متر از هم نمونه‌هایی از برگ درختان برداشت شدند. به منظور بررسی تأثیر موخور بر ترکیبات بیوشیمیایی برگ درخت بلوط (*Quercus brantii*)، حداقل شش پایه با شرایط تقریباً یکسان از نظر قطر، ارتفاع، شدت ابتلا به موخور و جهت جغرافیایی انتخاب شدند. از هر پایه، شش عدد برگ شامل برگ شاخه

نیمه‌انگل گلداز از راسته Santalales، خانواده Loranthaceae و جنس *Loranthus* است که روی انواع مختلفی از درختان و درختچه‌های میزبان رشد می‌کند. در اکوسیستم‌های شکننده جنگل‌های زاگرس یکی از بیماری‌های عمده درختان و درختچه‌ها، گیاه موخور می‌باشد که آسیب‌های فراوانی را به این جنگل‌ها وارد کرده است. در جنگل‌های زاگرس، موخور رابطه انگلی با گونه‌های درختی و درختچه‌ای متفاوتی از جمله درختان بلوط ایرانی (*Quercus brantii* Lindl.) و گونه‌های مختلف بادام (*Amygdalus* spp.)، بنه (*Pistacia* sp.) و افرا (*Acer* spp.) دارد (ناصری و همکاران، ۱۳۸۹). به‌طورکلی، گیاهان نیمه‌انگلی در درجه اول مواد مغذی و آب را از میزبان خود به واسطه ارتباط سلول به سلول از طریق اندام مکنده از آوندهای چوبی میزبان بدست می‌آورند. در طی بلوغ، موخورها به عنوان یک گیاه نیم انگل قادر به فتوسنتز هستند، اما مقدار کربنی که از طریق فتوسنتز به دست می‌آورند به طور قابل توجهی کمتر از گیاهان غیر انگلی است و باید حداقل بخشی از کربن آلی خود را از گیاهان میزبان به دست آورند (Tesitel et al., 2011).

به دلیل وجود ارتباطات آوندی بین گیاهان نیمه‌انگلی با گیاه میزبان، ترکیبات گیاهی و در نتیجه فعالیت‌های بیولوژیکی این گیاهان وابسته و متأثر از میزبان است (Osadebe et al., 2004). از طرف دیگر، محققین نشان داده‌اند که این گیاهان نیمه‌انگلی نیز می‌توانند روی متابولیسم گیاهان میزبان تأثیر بگذارند و میزان متابولیت‌ها و ترکیبات گیاهی آن‌ها را تغییر دهند، به‌طوری‌که در گیاهان *Osmanthus fragrans* و *Cinnamomum burmannii* آلوده به گیاه نیمه‌انگلی *Loranthus parasiticus* محتوای کلروفیل و قند محلول کل برگ‌ها کاهش یافته است، با این حال میزان پرولین در آن‌ها افزایش یافته است (Yongrong et al., 2010).

مطالعات مهدی کرمی و همکاران (۱۳۹۸) با بررسی تأثیر گیاه نیمه‌انگلی چشم بلبلی (*Loranthus grewinkii*) بر روی ترکیبات بیوشیمیایی برگ درختان بادام زاگرسی نشان دادند که میزان محتوای فنول کل، تانن متراکم، تانن کل، فلاوونوئید کل

میلی‌لیتر تولوئن اضافه و به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس شدند. پس از انکوباسیون نمونه‌ها در دمای اتاق دو لایه مجزا در هر لوله ایجاد شد. سرانجام، جذب نوری لایه رنگی فوقانی در طول موج ۵۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد.

برای اندازه‌گیری محتوای پروتئین برگ، ابتدا ۰/۲ گرم از نمونه‌های برگ به وسیله ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با اسیدیته ۶/۸) سائیده شد و عصاره حاصله بعد از صاف شدن به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. برای اندازه‌گیری میزان پروتئین از فاز رویی استفاده شد. سپس یک میلی‌لیتر معرف برادفورد، با ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی مخلوط شد و جذب آن در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد (Bradford, 1976).

برای اندازه‌گیری فنل کل از معرف فولین سیوکالچو استفاده شد (Tunc-Ozdemir et al., 2009). ابتدا، ۰/۵ گرم از نمونه‌های برگ با استفاده از نیتروژن مایع در داخل هاون چینی آسیاب شد و بلافاصله ۱۰ میلی‌لیتر متانول خالص سرد به آن اضافه شد. سپس، نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند. در مرحله بعد ۱۲۵ میکرولیتر از محلول رویی با آب دوبار تقطیر به حجم ۵۰۰ میکرولیتر رسانده و ۲۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالچو به آن اضافه گردید. پس از گذشت پنج دقیقه، ۲۰۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم اشباع به مخلوط اضافه شد و پس از انکوبه شدن به مدت ۹۰ دقیقه در تاریکی جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد.

برای بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانتی از سنجش DPPH استفاده شد. جهت سنجش ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH از روش Wu و همکاران (۲۰۰۳) با اندکی تغییرات استفاده شد. ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره با ۱/۵ میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH (۱۵۰ میکرومولار در اتانول ۹۵ درصد) مخلوط شد. بعد از نگهداری در تاریکی به مدت ۳۰ دقیقه، میزان جذب در طول موج ۵۱۵ نانومتر خوانده شد و درصد فعالیت جمع‌آوری رادیکال عصاره‌ها طبق فرمول زیر محاسبه شد.

درصد جمع‌آوری رادیکال DPPH = $(A_{Blank} - A) \times 100$

آلوده به موخور، برگ موخور و برگ شاخه سالم همان درخت نمونه‌گیری شدند.

برای سنجش میزان رنگیزه‌های کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها از روش Linchenthaler و Wellburn (۱۹۸۳) استفاده شد، همچنین، برای اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین به ترتیب از روش Sims و Gamon (۲۰۰۲) استفاده شد. در این روش ابتدا مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم از نمونه‌های برگ به وسیله ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد در داخل هاون چینی ساییده شد. عصاره‌های به دست آمده پس از صاف شدن توسط کاغذ صافی با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. در مرحله بعد ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی را برداشته و با ۴ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد مخلوط شد. نهایتاً، میزان جذب با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۴۷۰، ۵۳۷، ۶۴۷، ۶۶۳، ۶۶۳/۶ و ۶۴۶/۶ نانومتر خوانده شدند. برای صفر نمودن دستگاه، از استون ۸۰ درصد استفاده شد. در نهایت، غلظت رنگیزه‌های کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کلروفیل کل، کاروتنوئید و آنتوسیانین با استفاده از روابط زیر محاسبه شدند.

$$\text{Chl } a = (12.25 \times A_{663.6} - 2.55 \times A_{646.6})$$

$$\text{Chl } b = (20.31 \times A_{646.6} - 4.91 \times A_{663.6})$$

$$\text{Total Chl} = (17.76 \times A_{646.6} + 34 \times A_{663.6})$$

$$\text{Car} = (1000 \times A_{470} - 3.27 \times \text{chl } a - 104 \times \text{chl } b) / 227$$

$$\text{Anthocyanin} = (0.08173 \times A_{537} - 0.00697 \times A_{647} - 0.002228 \times A_{663})$$

در این رابطه، A میزان جذب خوانده شده توسط دستگاه

اسپکترومتر در طول موج‌های معین شده است.

اندازه‌گیری محتوای پرولین برگ با استفاده از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) انجام شد. ابتدا ۰/۵ گرم از نمونه‌های برگ همراه با ۱۰ میلی‌لیتر محلول اسید سولفوسالیسیلیک (۳ درصد) در هاون ساییده شد، سپس ۲ میلی‌لیتر از عصاره‌های بدست آمده پس از صاف شدن توسط کاغذ صافی را در لوله آزمایش ریخته و ۲ میلی‌لیتر معرف اسید نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال به آن اضافه گردید. در مرحله بعد نمونه‌ها به مدت یک ساعت در بن‌ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند، پس از خروج، لوله‌ها در حمام یخ به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند و نهایتاً به هر لوله آزمایش ۴

(Sample / A Blank

A Sample: جذب مخلوط واکنش حاوی عصاره،
A Blank: جذب مخلوط واکنش بدون عصاره. IC₅₀ غلظتی از عصاره می‌باشد که در آن غلظت میزان جمع‌آوری رادیکال ۵۰ درصد است.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد. اختلاف‌ها با استفاده از آنالیز واریانس تک‌سویه (ANOVA) و تست Tukey در سطح آماری ۵ درصد ($P < 0.05$) آنالیز و معنی‌دار شد.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که میزان رنگیزه‌های کلروفیلی (کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کلروفیل کل) در برگ موخور به طور معنی‌داری (در سطح احتمال ۵ درصد) بیشتر از برگ بلوط سالم و آلوده به موخور است. همچنین اختلاف معنی‌داری بین میزان کلروفیل *b* و کلروفیل کل در برگ شاخه بلوط سالم و آلوده به موخور مشاهده گردید (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد در میزان کاروتنوئیدها بین برگ موخور (۱/۸۱ میلی‌گرم بر گرم ماده تر)، برگ بلوط سالم (۰/۴۷ میلی‌گرم بر گرم ماده تر) و آلوده به موخور وجود دارد (۰/۹۸ میلی‌گرم بر گرم ماده تر)، به طوری که میزان کاروتنوئیدها در برگ موخور ۳/۸۵ برابر میزان آن در برگ بلوط سالم است (جدول ۱).

موخور برای انجام فتوسنتز، رشد و تولید مثل خود آب و مواد معدنی را از گیاه میزبان خود جذب می‌نماید و از این طریق بر گیاه میزبان تأثیر منفی می‌گذارد. این شرایط به‌ویژه اگر گیاه میزبان همزمان تحت تأثیر تنش‌های دیگر محیطی مانند خشکی قرار داشته باشد، رشد آن را با اختلال بیشتری مواجه می‌کند (Briggs, 2003).

میزان رنگیزه‌های کلروفیلی در گیاهان یکی از فاکتورهای مهم جهت ارزیابی فتوسنتز و رشد گیاه است. به‌طورکلی، تخریب ساختمان کلروپلاست، اکسیداسیون نوری رنگیزه‌ها، تأثیر گونه‌های فعال اکسیژن بر رنگیزه‌ها، فعال‌شدن آنزیم

تجزیه کننده کلروفیلاز و تخریب پیش‌ماده‌های سنتز کلروفیل و استفاده از آن برای سنتز ترکیبات دیگر از جمله عواملی هستند که در کاهش میزان رنگیزه‌های کلروفیلی تحت تنش نقش دارند (Gunes *et al.*, 2007; Neocleous and Vasilakakis, 2007). در مطالعه حاضر، میزان رنگیزه‌های کلروفیل *a* و *b* در برگ موخور به‌طور معنی‌داری بیشتر از برگ درخت بلوط میزبان است، همچنین، میزان این رنگیزه‌ها در برگ شاخه سالم بلوط نسبت به برگ شاخه بلوط آلوده به موخور بیشتر می‌باشد. از طرف دیگر، گیاهان تحت تنش میزان رنگیزه‌های کاروتنوئیدی خود را به‌عنوان رنگدانه‌های کمکی جمع‌آوری کننده نور و همچنین محافظت از سیستم‌های فتوسنتزی در برابر گونه‌های فعال اکسیژن افزایش می‌دهند (Shariat *et al.*, 2010; Naji *et al.*, 2024).

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد در میزان پرولین بین برگ موخور (۰/۴۴۷ میلی‌گرم بر گرم ماده تر)، برگ شاخه بلوط آلوده به موخور (۰/۱۳۸ میلی‌گرم بر گرم ماده تر) و برگ شاخه سالم موخور (۰/۱۱۰ میلی‌گرم بر گرم ماده تر) وجود دارد (جدول ۲). از طرف دیگر، نتایج مربوط به میزان پروتئین کل برعکس نتایج محتوای پرولین بوده به طوری که، بیشترین میزان در برگ شاخه بلوط سالم (۳۸/۵۴ میلی‌گرم بر گرم ماده تر) و کمترین میزان در برگ موخور (۲۸/۹۷ میلی‌گرم بر گرم ماده تر) است (جدول ۲).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که موخور سبب افزایش پرولین در برگ بلوط شده، چنانچه میزان پرولین در برگ شاخه آلوده به‌طور معنی‌داری بیشتر از برگ شاخه سالم بلوط است؛ بنابراین، می‌توان گفت که یکی از راه‌کارهای گیاه در مواجهه با تنش‌های محیطی سنتز و ذخیره ترکیبات اسمولیتی نظیر پرولین است که سبب سازگاری بیشتر گیاه در برابر تنش‌های محیطی می‌شود. پرولین تحت تنش‌های محیطی در گیاهان سنتز شده و سبب محافظت از پروتئین‌ها و آنزیم‌های مختلف شده و مانع از تخریب آن‌ها می‌شود. از طرف دیگر پرولین سبب حذف گونه‌های فعال اکسیژن شده و سلول‌ها را

جدول ۱- مقایسه میانگین تأثیر موخور بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی کلروفیل *a* (میلی گرم بر گرم ماده تر)، کلروفیل *b* (میلی گرم بر گرم ماده تر)، کلروفیل کل (میلی گرم بر گرم ماده تر) و کاروتنوئید (میلی گرم بر گرم ماده تر) در بلوط (میانگین \pm انحراف معیار).

برگ شاخه سالم بلوط	برگ شاخه بلوط آلوده به موخور	برگ موخور	
۱/۸۱ \pm ۰/۰۵۹ ^b	۱/۶۸ \pm ۰/۰۸۹ ^b	۳/۷۰ \pm ۰/۰۷۵ ^a	کلروفیل <i>a</i>
۰/۹۷ \pm ۰/۰۴۶ ^b	۰/۷۴ \pm ۰/۰۵۴ ^c	۱/۳۳ \pm ۰/۰۲۴ ^a	کلروفیل <i>b</i>
۲/۷۹ \pm ۰/۰۱۵ ^b	۲/۴۳ \pm ۰/۰۹۱ ^c	۵/۰۴ \pm ۰/۰۹۴ ^a	کلروفیل کل
۰/۴۷ \pm ۰/۰۱۶ ^c	۰/۹۸ \pm ۰/۰۰۷ ^b	۱/۸۱ \pm ۰/۰۱۸ ^a	کاروتنوئید

* در هر ردیف میانگین‌هایی که دارای حروف متفاوتی هستند دارای تفاوت آماری در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

جدول ۲- مقایسه میانگین تأثیر موخور بر میزان پارامترهای بیوشیمیایی پرولین (میلی گرم بر گرم ماده تر)، پروتئین کل (میلی گرم بر گرم ماده تر)، آنتوسیانین (میکروگرم بر گرم ماده تر)، فنول کل (میکروگرم گالیک اسید بر گرم ماده تر)، DPPH (%،)، IC₅₀ (میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره) در بلوط (میانگین \pm انحراف معیار).

برگ شاخه سالم بلوط	برگ شاخه بلوط آلوده به موخور	برگ موخور	
۰/۱۱۰ \pm ۰/۰۰۱ ^b	۰/۱۳۸ \pm ۰/۰۰۱ ^b	۰/۴۴۷ \pm ۰/۰۱۱ ^a	پرولین
۳۸/۵۴ \pm ۰/۳۰ ^a	۳۴/۰۱ \pm ۰/۳۴ ^b	۲۸/۹۷ \pm ۰/۴۱ ^c	پروتئین کل
۳/۴۱ \pm ۰/۰۷ ^c	۴/۰۱ \pm ۰/۰۶ ^b	۴/۹۲ \pm ۰/۰۶ ^a	آنتوسیانین
۲۲/۴۵ \pm ۰/۲۱ ^c	۲۵/۳۹ \pm ۰/۰۶ ^b	۳۱/۰۷ \pm ۰/۴۴ ^a	فنول کل
۵۳/۸۸ \pm ۰/۴۲ ^c	۶۳/۵۵ \pm ۰/۴۰ ^b	۷۴/۶۱ \pm ۰/۵۱ ^a	DPPH
۱۹/۶۹ \pm ۰/۰۸ ^a	۱۵/۱۳ \pm ۰/۲۳ ^b	۱۲/۵۹ \pm ۰/۱۲ ^c	IC ₅₀

* در هر ردیف میانگین‌هایی که دارای حروف متفاوتی هستند دارای تفاوت آماری در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

تنش‌های محیطی و بیماری‌ها است. در پژوهش حاضر، میزان آنتوسیانین در برگ شاخه بلوط آلوده به موخور به‌طور معنی‌داری بیشتر از برگ شاخه سالم بلوط می‌باشد. آنتوسیانین دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بوده و در موقع تنش‌های محیطی در گیاه افزایش می‌یابد (موسوی و رضوی‌زاد، ۱۴۰۰).

ارزیابی و مقایسه محتوی فنول مربوط به عصاره‌های برگ نمونه‌های مختلف در جدول ۲ نشان داده شده است. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین و کم‌ترین میزان فنول کل به ترتیب در برگ موخور (۳۱/۰۷) میکروگرم گالیک اسید بر گرم ماده تر) و برگ شاخه سالم بلوط (۲۲/۴۵) میکروگرم گالیک اسید بر گرم ماده تر) مشاهده شد.

نتایج حاصل از ارزیابی ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین ظرفیت جمع‌آوری

از آسیب‌های ناشی از این ترکیبات حفظ می‌کند. در اکثر موارد مکانیسم افزایش پرولین در گیاهان به هنگام تنش، نوعی سازوکار دفاعی است که پرولین با چندین سازوکار مانند تنظیم اسمزی، جلوگیری از تخریب آنزیم، حفظ و سنتز پروتئین مقاومت گیاه را در برابر تنش‌ها افزایش می‌دهند (Szabados and Savoure, 2010; Bamniya et al., 2012; Turk et al., 2014).

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد در میزان آنتوسیانین‌ها بین برگ موخور، برگ بلوط سالم و آلوده به موخور وجود دارد، به‌طوری‌که بیشترین میزان در برگ موخور و کمترین میزان در برگ بلوط سالم وجود دارد (جدول ۲).

افزایش آنتوسیانین‌ها و ترکیبات ثانویه همانند ترکیبات فنولی از جمله سازوکار دیگر گیاهان برای سازگاری با

جدول ۳- همبستگی بین پارامترهای بیوشیمیایی پرولین، پروتئین کل، آنتوسیانین، فنول کل، ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH، IC₅₀ در عصاره‌های برگ مختلف بلوط، بلوط آلوده به موخور و موخور.

IC ₅₀	DPPH	فنول کل	آنتوسیانین	پروتئین کل	پرولین	
-۰/۸۱۳**	۰/۹۱۰**	۰/۹۵۸**	۰/۹۳۱**	-۰/۹۰۶**	۱	پرولین
۰/۹۶۶**	-۰/۹۸۵**	-۰/۹۷۱**	-۰/۹۸۰**	۱		پروتئین کل
-۰/۹۴۶**	۰/۹۸۰**	۰/۹۷۵**	۱			آنتوسیانین
-۰/۹۹۳**	۰/۹۸۴**	۱				فنول کل
-۰/۹۷۹**	۱					DPPH
۱						IC ₅₀

* همبستگی در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار و ** همبستگی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار هستند.

از رادیکال‌های DPPH است. بنابراین، میزان این تغییر رنگ که نشان‌دهنده میزان ترکیبات احیاءکننده فنولی است، معیاری از ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH محسوب می‌شود، به طوری که هر اندازه میزان این تغییر رنگ بیشتر باشد نشان‌دهنده ظرفیت بیشتر جمع‌آوری رادیکال DPPH و برعکس می‌باشد. بنابراین، وجود همبستگی مثبت معنی‌دار بین محتوای فنول کل با ظرفیت بیشتر جمع‌آوری رادیکال DPPH تأییدکننده این واقعیت است (Benabderahim et al., 2019). نتایج این مطالعه نشان داد که آلودگی موخور سبب افزایش میزان ترکیبات فنولی در برگ شاخه بلوط آلوده به موخور نسبت به شاخه سالم شده و همچنین فعالیت جمع‌آوری رادیکال DPPH نیز افزایش نشان داده است و وجود همبستگی بین این دو پارامتر تأییدکننده این واقعیت است که ترکیبات فنولی به عنوان عوامل احیاءکننده جهت خنثی‌سازی رادیکال DPPH کاربرد دارند.

نتایج مربوط به ضریب همبستگی بین پارامترهای بیوشیمیایی مختلف نشان داد که همبستگی منفی و معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بین پرولین با پروتئین کل ($R=0/906$) وجود دارد، از طرف دیگر همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بین پرولین با آنتوسیانین ($R=0/931$)، فنول کل ($R=0/958$) و ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH ($R=0/910$) وجود دارد. نتایج نشان داد که همبستگی منفی و معنی‌داری در سطح احتمال یک

رادیکال DPPH مربوط به عصاره برگ نمونه‌های مختلف وجود دارد، به طوری که بیشترین میزان ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH به ترتیب در عصاره برگ موخور (۷۴/۶۱ درصد)، برگ شاخه بلوط آلوده به موخور (۶۳/۵۵ درصد) و برگ شاخه سالم بلوط (۵۳/۸۸ درصد) مشاهده گردید (جدول ۲). نتایج مربوط به شاخص IC₅₀ در جدول ۲ نشان داده شده است. میزان شاخص IC₅₀ رابطه معکوسی با ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH دارد، چنانچه شاخص IC₅₀ پایین‌تر نشان‌دهنده فعالیت ضداکسایشی بالاتر و برعکس است. نتایج مربوط به مقایسه میانگین‌ها نشان داد که شاخص IC₅₀ برای برگ شاخه سالم بلوط (۱۹/۶۹ میکروگرم/ میلی‌لیتر)، برگ شاخه بلوط آلوده به موخور (۱۵/۱۳ میکروگرم/ میلی‌لیتر) و برگ موخور (۱۲/۵۹ میکروگرم/ میلی‌لیتر) می‌باشد، که نشان‌دهنده رابطه منفی بین شاخص IC₅₀ با ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH است.

یکی از سنجش‌های مهم جهت بررسی میزان فعالیت ضداکسایشی، ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH است (Prior et al., 2005). در این سنجش، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند ترکیبات فنولی با دادن اتم هیدروژن به رادیکال DPPH سبب احیاء آن شده که نتیجه آن تغییر رنگ محلول از حالت بنفش (حالت رادیکال) به زرد (حالت خنثی) می‌باشد (Sanchez - Moreno et al., 1999; Huang et al., 2005). همچنین شاخص IC₅₀ نشان‌دهنده توانایی عصاره‌ها در خنثی‌سازی نیمی

نتیجه‌گیری

رشد موخور روی میزبان به‌واسطه استفاده از آب و املاح معدنی میزبان است، بنابراین آلودگی موخور سبب ایجاد تنش در میزبان شده و نتیجه آن پاسخ‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی متناسب با تنش می‌باشد. نتایج این پژوهش نشان داد که آلودگی موخور سبب کاهش میزان رنگیزه‌های کلروفیلی در برگ بلوط میزبان شده است. با این حال، میزان ترکیبات اسمولیت، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌طورمعنی داری در برگ بلوط آلوده به موخور افزایش یافته است که نشان‌دهنده پاسخ بلوط به تنش آلودگی به موخور می‌باشد. بنابراین، افزایش پرولین و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نظیر آنتوسیانین و ترکیبات فنولی، و همچنین افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی جز راهکاری سازشی اصلی درخت بلوط تحت تنش آلودگی موخور است.

درصد بین IC_{50} و فنول کل ($R=0/993$) و ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH ($R=-0/979$) وجود دارد (جدول ۳). نتایج نشان داد که بین پرولین با میزان آنتوسیانین، فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی همبستگی مثبت معنی‌داری وجود دارد، به‌طورکلی وجود همبستگی منفی معنی‌دار بین رنگیزه‌های فتوسنتزی با پرولین، آنتوسیانین، میزان فنول کل و ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH از یک طرف و وجود همبستگی مثبت معنی‌دار بین پرولین با آنتوسیانین، میزان فنول کل و ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH از طرف دیگر بیانگر این واقعیت است که افزایش محتوای مواد محلول سازگار (پرولین) و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نظیر آنتوسیانین و فنولی، و همچنین افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی جز راهکاری اصلی گیاهان در مواجهه با تنش‌های محیطی است (Benabderahim *et al.*, 2019; Noman *et al.*, 2019).

منابع

- موسوی، نسیم سادات، و رضوی‌زاده، رویا (۱۴۰۰). بررسی تغییرات ترکیبات فنلی و متابولیت‌های ثانویه کالوس‌ها و گیاهچه‌های بادرنجبویه (*Mellissa officinal* L.) تحت تنش فلز سنگین کادمیوم. فرآیند و کارکرد گیاهی، ۱۰(۴۱)، ۱۷-۳۴.
DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.41.17.7 یا <http://jispp.iut.ac.ir/article-1-1450-fa.html>
- مهدی کرمی، شهرام، ابراری واجاری، کامبیز، احمدوند، حسن، و احمدی، اکرم (۱۳۹۸). تأثیر گیاه نیمه‌انگلی چشم بلبلی *Amygdalus haussknechtii* بر برخی ترکیبات بیوشیمیایی برگ درختان بادام زاگرس *Loranthus grewinkii* Boiss & Buhse) (مطالعه موردی: جنگل‌های زاگرس جنوبی). مجله پژوهش‌های گیاهی، ۳۲(۳)، ۷۲۲-۷۳۲.
DOR: 20.1001.1.23832592.1398.32.3.15.2
- ناصری، بهروز، کرمی، فرشید، نادری، فتح‌الله، و سلامت، عماد (۱۳۸۹). تعیین آلودگی موخور در جنگل‌های بلوط میان تنگ استان ایلام. مجله پژوهشی تحقیقات حمایت و حفاظت جنگل‌ها و مراتع ایران، ۸(۱۶)، ۱۷۸-۱۸۲.
- Bamniya, B. R., Kapoor, C. S., Kapoor, K., & Kapasya, V. (2012). Harmful effects of air pollution on physiological activities of *Pongamia pinnata* (L.) Pierre. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 14, 115-124. <https://doi.org/10.1007/s10098-011-0383-z>
- Bates, L. S., Waldren, R. A., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207. <https://doi.org/10.1007/bf00018060>
- Benabderahim, M. A., Elfalleh, W., Sarikurcu, C., & Sarikurcu, R. B. (2019). Biological activities and phytochemical composition of organs from *Loranthus europaeus*. *Industrial Crops and Products*, 141, 111772. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111772>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>
- Gunathilake, K. D. P. P., Ranaweera, K. K. D. S., & Rupasinghe, H. P. V. (2018). Change of phenolics, carotenoids, and antioxidant capacity following simulated gastrointestinal digestion and dialysis of selected edible green leaves. *Food Chemistry*, 245, 371-379. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.096>

- Gunes, A., Inal, A., Bagci, E. G., & Pilbeam, D. J. (2007). Silicon-mediated changes of some physiological and enzymatic parameters symptomatic for oxidative stress in spinach and tomato grown in sodic-B toxic soil. *Plant and Soil*, 290, 103-114. <https://doi.org/10.1007/s11104-006-9137-9>
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841-1856. <https://doi.org/10.1021/jf030723c>
- Lincenthaler, H. R., & Wellburn, A. R. (1983). Determination of total carotenoids and chlorophyll a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11, 1591-92. <https://doi.org/10.1042/bst0110591>
- Naji, H. R., Roushani Nia, F., Tongo, A., Soheili, F., & Arminian, A. (2024). Effect of simulated dust storm conditions on the physiological features of wild pistachio. *Forest Science and Technology*, 20(1), 16-24. <https://doi.org/10.1080/21580103.2023.2280647>
- Neocleous, D., & Vasilakakis, M. (2007). Effects of NaCl stress on red raspberry (*Rubus idaeus* L. 'Autumn Bliss'). *Scientia Horticulturae*, 112(3), 282-289. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.12.025>
- Noman, O. M., Mothana, R. A., Al-Rehaily, A. J., Nasr, F. A., Khaled, J. M., Alajmi, M. F., & Al-Said, M. S. (2019). Phytochemical analysis and anti-diabetic, anti-inflammatory and antioxidant activities of *Loranthus acaciae* Zucc. grown in Saudi Arabia. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 27(5), 724-730. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2019.04.008>
- Osadebe, P. O., Okide, G. B., & Akabogu, I. C. (2004). Study on anti-diabetic activities of crude methanolic extracts of *Loranthus micranthus* (Linn.) sourced from five different host trees. *Journal of Ethnopharmacology*, 95(2-3), 133-138. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.06.029>
- Press, M. C., & Phoenix, G. K. (2005). Impacts of parasitic plants on natural communities. *New Phytologist*, 166(3), 737-751. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01358.x>
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290-4302. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>
- Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J. A., & Saura-Calixto, F. (1999). Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. *Food Research International*, 32(6), 407-412. [https://doi.org/10.1016/s0963-9969\(99\)00097-6](https://doi.org/10.1016/s0963-9969(99)00097-6)
- Scalon, M. C., & Wright, I. J. (2015). A global analysis of water and nitrogen relationships between mistletoes and their hosts: broad-scale tests of old and enduring hypotheses. *Functional Ecology*, 29(9), 1114-1124. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12418>
- Shariat, A. A., Assareh, M. H., & Ghamari-Zare, A. (2010). Effects of cadmium on some physiological characteristics of *Eucalyptus occidentalis*. *JWSS-Isfahan University of Technology*, 14(53), 145-154. <http://jstnar.iut.ac.ir/article-1-1340-fa.html>
- Sims, D. A., & Gamon, J. A. (2002). Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. *Remote Sensing of Environment*, 81(2-3), 337-354. [https://doi.org/10.1016/s0034-4257\(02\)00010-x](https://doi.org/10.1016/s0034-4257(02)00010-x)
- Szabados, L., & Savoure, A. (2010). Proline: A multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*, 15, 89-97. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.11.009>
- Tesitel, J., Leps, J., Vrablova, M., & Cameron, D. D. (2011). The role of heterotrophic carbon acquisition by the hemiparasitic plant *Rhinanthus alectorolophus* in seedling establishment in natural communities: A physiological perspective. *New Phytologist*, 192(1), 188-199. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03777.x>
- Tunc-Ozdemir, M., Miller, G., Song, L., Kim, J., Sodek, A., Koussevitzky, S., Misra, A. N., Mittler, R., & Shintani, D. (2009). Thiamin confers enhanced tolerance to oxidative stress in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 151(1), 421-432. <https://doi.org/10.1104/pp.109.140046>
- Turk, H., Erdal, S., Genisel, M., Atici, O., Demir, Y., & Yanmis, D. (2014). The regulatory effect of melatonin on physiological, biochemical and molecular parameters in cold-stressed wheat seedlings. *Plant Growth Regulation*, 74, 139-152. <https://doi.org/10.1007/s10725-014-9905-0>
- Wu, H. C., Chen, H. M., & Shiau, C. Y. (2003). Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). *Food Research International*, 36(9-10), 949-957. [https://doi.org/10.1016/s0963-9969\(03\)00104-2](https://doi.org/10.1016/s0963-9969(03)00104-2)

Effect of semi-parasite mistletoe (*Loranthus europaeus*) on some biochemical parameters of Persian oak (*Quercus brantii*) leaf

Ali Asghar Hatamnia^{1*} and Hamid Reza Naji²

¹ Department of Biology, Faculty of Science, Ilam University, Ilam, Iran

² Department of Forest Sciences, Ilam University, Ilam, Iran

(Received: 2024/11/22, Accepted: 2025/04/08)

Abstract

Mistletoe (*Loranthus europaeus* Jacq.) is a semi-parasitic flowering plant growing on different host trees and shrubs. In the fragile ecosystems of the Zagros forests, one of the major diseases of trees and shrubs is the *L. europaeus* Jacq, caused a lot of damage to these forests. The aim of this research was to investigate the different biochemical parameters in mistletoe, healthy Persian oak (*Quercus brantii*) and oak infected with mistletoe, and also to investigate the effect of semi-parasitic mistletoe on biochemistry components of oak leaves. The measured parameters were chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, total chlorophyll, carotenoid, anthocyanin, proline, total protein, total phenol, DPPH radical scavenging capacity, and IC₅₀ (Half maximal inhibitory concentration) index. The results showed that the amount of chlorophyll pigments in the leaves of mistletoe was significantly higher than that of healthy and infected oak leaves. The mean comparisons showed significant differences in the proline, total protein, anthocyanin, total phenol, DPPH radical scavenging capacity, and IC₅₀ index content between mistletoe, healthy and infected oak individual leaves. There was a positive significant correlation between the proline and anthocyanin (R= 0.931), total phenol (R= 0.958) and DPPH radical scavenging capacity (R= 0.910). The significant positive correlation indicated that an increase in the osmolyte (proline) and antioxidant compounds such as anthocyanin and phenolic compounds, as well as the increase in the DPPH radical scavenging capacity in the leaves of oak trees under the mistletoe infection stress, are the main strategies of oak trees under the mistletoe infection stress.

Keywords: Antioxidant, Biochemical responses, Chlorophyll pigments, *Loranthus europaeus*, Stress

Corresponding author, Email: a.hatamnia@ilam.ac.ir