مقاله پژوهشی، صفحات ۱۶۷-۱۵۵

تغییرات القا شده با میدان مغناطیسی ایستا بر رشد، رنگدانه‌های فتوسنتزی، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و متابولیت‌های ثانوی گیاه گل‌گاوزبان (*Echium amoenum*)

حلیمه حسن پور*

ایران، تهران، وزارت علوم، تحقیقات و فناوری، پژوهشگاه هوا فضا

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۰۸

چکیده

میدان مغناطیسی یک فاکتور فیزیکی غیرقابل اجتناب در طبیعت است که می‌تواند روی رشد و نمو ارگانیسم‌های زنده تاثیر گذارد. در این پژوهش، تاثیر میدان مغناطیسی بر رشد و متابولیت‌های ثانوی گیاهچه‌های گل‌گاوزبان از طریق سنجش رنگدانه‌های فتوسنتزی، محتوای پراکسید هیدروژن و سیستم دفاع آنزیمی و غیرآنزیمی مورد مطالعه قرار گرفت. بذرهای گیاه گل‌گاوزبان پس از استریل در محیط موراشیگ و اسکوگ کشت شدند و تحت شدت‌های مختلف میدان مغناطیسی ایستا (۰، ۴ و ۸ میلی‌تسلا) در زمان‌های ۱/۵ و ۳ ساعت قرار گرفتند و بعد از سه هفته تحت آنالیزهای رشد و بیوشیمیایی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که میدان مغناطیسی در تیمار ۴ میلی‌تسلا منجر به افزایش وزن خشک، طول ریشه و ساقه، تعداد ریشه‌های جانبی، رنگدانه کلروفیل *a* و *b* و محتوای نسبی آب شد. محتوای پراکسید هیدروژن با افزایش شدت و زمان اعمال تیمار میدان مغناطیسی افزایش یافت، بالاترین سطح آن در تیمار ۸ میلی تسلا برای ۳ ساعت مشاهده شد که افزایش ۲/۲ برابری را نسبت به شاهد نشان داد. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و متابولیت‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت و بالاترین سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تحت تیمار میدان مغناطیسی ۴ میلی‌تسلا برای ۳ ساعت مشاهده شد. افزایش شدت و زمان اعمال تیمار میدان مغناطیسی در ۸ میلی‌تسلا، اثر سمیت را روی فعالیت آنزیمی و متابولیت‌های دفاعی نشان داد. بنظر می‌رسد پاسخ دفاعی گیاه به میدان مغناطیسی در ارتباط با محتوای ملکول‌های پراکسید هیدروژن باشد و تیمار ۴ میلی‌تسلا به عنوان شدت مناسب میدان برای تحریک رشد و تولید متابولیت‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه گل‌گاوزبان است.

واژه های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، میدان مغناطیسی، گل‌گاوزبان، رنگدانه‌های فتوسنتزی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱۸۸۳۶۶۰۳۰ ، پست الکترونیکی: hassanpour@ari.ac.ir

مقدمه

گیاه گل‌گاوزبان (*Echium amoenum* Fisch. and Mey.)، گیاهی دارویی متعلق به خانواده گاو زبانیان (Boraginaceae) می‌باشد. این گیاه بومی مناطق شمال ایران و قفقاز می‌باشد و در بیشتر نواحی اروپا و مدیترانه پراکنش دارد (۴). این گیاه در طب سنتی برای درمان بیماری‌های عفونی، آنفولانزا، مسکن و تب‌بر، ضد التهاب و کاهنده فشار خون استفاده می‌شود (۱۹). در مطالعات اخیرا نشان داده‌اند که این گیاه دارای خواص ضد باکتریایی، ضد ویروسی، آنتی اکسیدانی، ضد دردی، ضد افسردگی و اضطراب به دلیل حضور متابولیت‌هایی نظیر سسکوئی‌ترپن‌ها، آلکالوئیدهایی مانند پیرولیزیدین، فلاونوئیدها، ترکیبات فنولی مانند رزمارینیک اسید، آنتوسیانیدین‌هایی مانند سیانیدین در اسانس و عصاره می‌باشد (۴ و ۱۹).

با توجه به افزایش استفاده از گیاهان دارویی در حوزه سلامت، نیاز به یافتن راهبردهایی برای افزایش تولید آنها بدون تخریب جمعیت‌های طبیعی وجود دارد، یکی از این راهبردها استفاده از روش‌های کشت سلول و بافت در

شرایط درون شیشه می‌باشد. گیاه گل‌گاوزبان از جمله گیاهی داروئی ارزشمند است که بیشتر در نواحی با آب و هوای کوهستانی رشد می کنند. در شرایط گل‌خانه‌ای جوانه‌زنی و تکثیر گیاه بسیار سخت است و برای افزایش سطح زیر کشت گیاه می‌توان از تکنیک کشت بافت استفاده نمود. البته استراتژی‌های گوناگونی برای افزایش تولید بیومس سلولی و متابولیت‌های ثانویه وجود دارد که از جمله آن می‌توان به دستیابی به لاین‌های سلولی با سرعت رشد بالا، بهینه‌سازی محیط کشت و استفاده از عوامل شیمیایی و فیزیکی مختلف، بی حرکت‌سازی سلولی با استفاده از داربست‌های سلولی مناسب و طراحی کشت سلول در بیوراکتور اشاره کرد (۹ و ۲۹). بنابراین با توجه به اینکه گیاه گل گاو زبان گیاهی با خواص دارویی مهم و متابولیت‌های ثانویه ارزشمند می‌باشد، کشت درون شیشه‌ای آن برای تکثیر و تولید گیاهچه و همچنین متابولیت‌های دارویی آن اهمیت زیادی دارد.

میدان مغناطیسی زمین یکی از اجزای طبیعی محیط زندگی همه موجودات زنده است و روی بسیاری از فرایندهای زیستی از جمله ریتم‌های شبانه‌روزی، جهت‌گیری و تکوین موجودات اثر می‌گذارد (۲۷). امروزه میدان مغناطیسی ایجاد شده توسط فعالیت‌های بشر بسیار افزایش یافته است و می‌تواند متابولیسم سلول‌ها را از طریق تاثیر بر روی نفوذ پذیری غشاء، غلظت و فعالیت انواع گونه‌های اکسیژن فعال، فعالیت آنزیم‌ها، جریان‌های یونی غشاء و تکثیر سلولی تغییر دهد (۳ و ۱۷). میدان مغناطیسی در فرایند ریخت‌زایی، اصلاح جوانه زنی بذر و رشد و نمو طیف وسیعی از گیاهان اثر دارد و در اثر فعل و انفعالی که با گیاه ایجاد می‌کند، به متابولیسم گیاه سرعت داده و از این طریق روی جوانه‌زنی گیاه اثر مثبت می‌گذارد (۳۶). در مطالعات مختلف مشخص شد که اثر میدان‌های مغناطیسی بر متابولیسم و رشد گیاهان مختلف به نوع میدان مغناطیسی، شدت میدان، قطبیت، جهت‌گیری و طول مدت قرار گرفتن در معرض میدان بستگی دارد (۳۶). تحریک گیاهان با تیمار بیوفیزیکی میدان مغناطیسی، یک روش سازگار با محیط زیست است که می‌تواند در کشاورزی مورد استفاده قرار گیرد. اثر میدان مغناطیسی روی گیاهان می‌تواند روشی موثر برای افزایش متابولیت‌های ثانویه گیاهان، افزایش تحمل در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی با افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها باشد. همچنین پرایمینگ گیاهان با میدان مغناطیسی روشی کارآمد و مدرن برای افزایش قدرت جوانه زنی بذر، رشد و محصول گیاه می‌باشد (۱۷ و ۷).

تاکنون چندین مطالعه نشان داده‌اند که میدان مغناطیسی در شدت مناسب می تواند سبب القای پاسخ های رشد، فعالیت آنزیم‌های مرتبط با تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان شود، ولی مکانیسم اثر آن به طور کامل مشخص نشده است. برای نمونه، اثر میدان مغناطیسی بر روی بذر گیاه کاهو با شدت‌های ۰، ۰/۴۴، ۰/۷۷ و ۱ تسلا در مدت ۱، ۲ و ۳ ساعت میزان تولید محصول، رنگدانه‌های فتوسنتزی، آنتی اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی را به طور معنی داری تغییر داد (۲۴). بررسی اثر میدان مغناطیسی بر روی کشت سلولی گیاه بابونه آلمانی نشان داد که میدان مغناطیسی با شدت‌های ۰، ۲، ۴ و ۶ میلی تسلا برای مدت ۱ ساعت منجر به تنش اکسیداتیو با افزایش میزان پراکسید هیدروژن و تحریک تولید متابولیت ثانوی سلول شد (۱۷). سرعت جوانه‌زنی، طول و وزن خشک گیاه آفتابگردان تحت اثر میدان مغناطیسی با شدت ۵۰ و ۲۰۰ میلی تسلا برای ۲ ساعت القا شد (۳۷). تاکنون پژوهشی در مورد اثر میدان‌های مغناطیسی بر روی گیاه گل گاو زبان در شرایط درون شیشه انجام نشده است و بررسی اثر میدان مغناطیسی بر روی این گیاه می تواند علاوه بر توسعه دانش زیستی، شدت خاصی از میدان مغناطیسی را معرفی نماید که سبب تحریک رشد و تولید متابولیت های ثانوی در گیاهچه های گل‌گاوزبان شود. از طرفی مطالعات درون شیشه امکان تکثیر گیاهچه‌ها در مقیاس زیاد را برای کشت‌گل‌خانه‌ای فراهم نماید. بنابراین هدف پژوهش حاضر بررسی اثر پیش تیمار میدان مغناطیسی بر روی رشد و مکانیسم دفاع آنتی اکسیدانی گیاهچه ها گل‌گاوزبان از طریق بررسی اثر میدان روی محتوای

رنگدانه‌ها، آنزیم های آنتی اکسیدانی، سطح تجمع رادیکال های آزاد و محتوای متابولیت‌های ثانویه می‌باشد.

مواد و روشها

کشت گیاهچه و اعمال تیمار میدان مغناطیسی

بذرهای گیاه گل گاوزبان از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری شد. بذرها در محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد برای ۱۰ دقیقه قرار گرفته و با آب مقطر استریل شستو شدند. سپس برای ۱ دقیقه در اتانول ۷۰ درصد قرار گرفته و سه بار با آب مقطر استریل شدند. بذرهای استریل در محیط موراشیگ و اسکوگ کشت شدند و پتری ها برای ۴۸ ساعت در دمای ۴ درجه قرار گرفتند. سپس پتری ها تحت شدت های مختلف میدان مغناطیسی ایستا (۰، ۴ و ۸ میلی تسلا) برای مدت ۱/۵ و ۳ ساعت قرار گرفتند و به اتاق کشت با شرایط دمایی ۲ ± ۲۵ درجه سانتیگراد، فتوپریود نوری/ تاریکی (۸/ ۱۶ ساعت)، رطوبت ۴۰-۴۵ درصد منتقل شدند. بعد از ۳ هفته از کشت، گیاهچه‌ها برای انجام آنالیزهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برداشت شدند. اعمال تیمار میدان مغناطیسی با استفاده از دستگاه تولید میدان مغناطیسی شرکت پایا کشت انجام شد (۲۳).

محتوای نسبی آب و رنگدانه‌ها

قطعات برگی پس از توزین وزن تر (Fresh weight)(FW)، به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتیگراد و تاریکی در آب مقطر غوطه ور شدند. پس از طی این مدت دیسک‌های برگی توسط کاغذ خشک کن، خشک شده و با ترازو وزن اشباع (Turgid weight)(TW) آنها اندازه گیری شد. سپس نمونه‌های برگی به مدت ۴۸ ساعت در آون ۵۵ درجه سانتیگراد تا حصول اطمینان وزن خشک(Dry weight)(DW) قرار گرفتند و محتوای نسبی آب برگ از رابطه زیر محاسبه شد (۲۶).

محتوای نسبی آب = FW-DW/TW-DW × 100

برای تعیین محتوای کلروفیل، ابتدا ۰/۵ گرم از برگ گیاهچه ها (وزن تر) در ۵ میلی لیتر استن ۸۰ درصد هموژن شد. نمونه‌ها برای مدت ۴۸ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و سپس در g × ۶۰۰۰ برای ۵ دقیقه سانتریفوژ شدند. محلول رویی جدا شد و جذب نوری آن در طول موج های ۴۷۰، ۶۴۶ و ۶۶۳ نانومتر قرائت شد و محتوای کلروفیل و کاروتنوئید با معادلات زیر محاسبه گردید (۳۹).

$$C_a = 12.21A_{663}-2.81A_{646}$$
$$C_b = 20.13A_{646}-5.03A_{663}$$
$$C_{x+c} = (1000A_{470} -3.27C_a-104C_b)/198$$

محتوای پراکسید هیدروژن

یک گرم بافت تر برگ در حمام یخ با ۵ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید ۰/۱ درصد (وزنی/ حجمی) هموژنیزه شد و سپس با سرعت g × ۱۲۰۰۰ برای ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. مخلوط واکنش شامل ۰/۵ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۱۰ میلی مولار با pH ۷، ۱ میلی لیتر پتاسیم یدید ۱ مولار و ۰/۵ میلی لیتر عصاره بود. جذب در ۳۹۰ نانومتر قرائت شد و با استفاده از نمودار استاندارد پراکسید هیدروژن، محتوای آن محاسبه شد (۳۸).

فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان

بافت تازه برگ (۰/۲ گرم) در محلول Tris-HCl (۱ مولار، pH ۶/۸) و دمای ۴ درجه سانتیگراد سائیده شد. سپس همگنای حاصل در یک سانتریفوژ میکروفیوژ یخچال دار با شتاب g × ۱۳۰۰۰ به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ گردید. پس از اندازه گیری حجم روشناور حاصل، عصاره‌ها در دمای ۷۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد.

فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز با استفاده از توانایی آن برای بازدارندگی احیای فیتوشیمیایی نیتروبلوتترازولیوم در ۶۵۰ نانومتر محاسبه شد (۱۴). مخلوط واکنش شامل ۳۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، بافر سدیم فسفات ۵۰ میلی مولار

(pH ۷/۵)، ال-متیونین ۱۳ میلی مولار، نیتروبلوتترازولیوم ۷۵ میکرومولار، EDTA ۰/۱ میلی مولار و ریبوفلاوین ۷۵ میکرومولار بود. مخلوط واکنش بعد از ۱۲ دقیقه قرار گیری در نور، جذب آن در ۵۶۰ نانومتر قرائت شد. یک واحد فعالیت آنزیمی به عنوان مقدار آنزیمی در نظر گرفته شد که سبب ۵۰٪ بازدارندگی احیای نیتروبلوتترازولیوم شود.

برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز، مخلوط واکنش حاوی ۶۲۵ میکرولیتر از بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار با ۷ pH، ۷۵ میلی لیتر پراکسید هیدروژن (۳ درصد) و ۵ میکرولیتر عصاره آنزیمی تهیه شد. فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس میزان تجزیه شدن پراکسید هیدروژن در دقیقه به ازای هر میلی گرم پروتئین در طول موج ۲۴۰ نانومتر تعیین گردید (۵).

برای تعیین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، مخلوط واکنش شامل بافر پتاسیم فسفات ۰/۰۵ مولار با pH ۷، ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی و آسکوربات ۰/۵ میلی مولار بود. سپس محلول پراکسید هیدروژن ۰/۱ مولار برای آغاز شدن واکنش به آن اضافه شد و جذب آن در ۲۹۰ نانومتر سنجش شد. فعالیت آنزیم بر حسب میکرومول آسکوربات اکسید شده بر دقیقه به ازای هر میلی گرم پروتئین محاسبه شد (۲۱).

محتوای فنول، فلاونوئید و فعالیت آنتی اکسیدانی DPPH

برای سنجش فنول کل، مخلوط واکنش شامل ۵۰۰ میکرولیتر عصاره متانولی و ۲/۵ میلی لیتر بافر فولین سیوکالتیو، ۰/۲ میلی لیتر محلول کربنات سدیم ۷٪ بود. سپس مخلوط واکنش برای ۴۵ دقیقه در دمای اتاق و شرایط تاریکی قرار گرفت و جذب آن در ۷۶۵ نانومتر فرائت شد و با استفاده از نمودار استاندارد گالیک اسید، محتوای فنول کل بر حسب میلی گرم بر گرم وزن خشک محاسبه گردید (۱۰).

برای ارزیابی محتوای فلاونوئید، مخلوط واکنش شامل ۵۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۱۲۵ میکرولیتر محلول آلومنیم کلراید ۱۰ درصد و ۱۲۵ میکرولیتر پتاسیم استات ۱ مولار بود. مخلوط واکنش برای ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت و سپس جذب آن در ۴۱۵ نانومتر قرائت شد. محتوای فلاونوئید کل با استفاده از نمودار استاندارد روتین محاسبه شد (۳۵).

ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد با ۲، ۲ -دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) صورت گرفت. ۰/۴ میلی لیتر از عصاره به ۳/۶ میلی لیتر از محلول DPPH (۰/۰۲۵ گرم DPPH در ۱۰۰ میلی لیتر متانول) افزوده شد و مخلوط حاصله به شدت همزده شد. لوله های آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند. سپس جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. در نهایت درصد مهارراديكالهای DPPHتوسط عصاره با فرمول زیر محاسبه گردید (۹).

۱۰۰ × جذب کنترل / (جذب کنترل – جذب نمونه) = درصد مهار رادیکال های آزاد

آنالیز آماری

آنالیز داده‌ها به وسیله نرم افزار آماری SPSS (نسخه ۱۸) و آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA در سطح معنی‌داری ۵ درصد صورت گرفت. برای آنالیز های رشد ۴ تکرار و سایر آنالیزها ۳ تکرار در نظر گرفته شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت. آنالیز مولفه اصلی (Principal Component Analysis) (PCA) توسط توسط نرم افزار XLSTAT 2021.2.2 انجام شد.

نتایج

پارامترهای رشد

برای ارزیابی اثر میدان مغناطیسی بر روی رشد گیاه گل‌گاوزبان، پارامترهای رشد از جمله محتوای نسبی آب برگ، وزن خشک اندام هوایی، طول ریشه، طول اندام هوایی و تعداد ریشه‌های فرعی مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۱). بذرها بعد از یک هفته از اعمال تیمار میدان مغناطیسی

جوانه زدند و میانگین درصد جوانه زنی بذرهای تحت میدان مغناطیسی (۸۹-۷۴ درصد) در مقایسه با بذرهای کنترل (۳۵ درصد) بالاتر بود. محتوای نسبی آب برگ در تمام تیمارهای میدان مغناطیسی به جز ۸ میلی تسلا در مدت ۳ ساعت افزایش معنی‌داری را در سطح احتمال ۵ درصد نسبت به شاهد نشان داد. وزن خشک اندام هوایی گیاه تحت تیمار میدان مغناطیسی ۴ میلی تسلا افزایش معنی داری را در سطح احتمال ۵ درصد نسبت به شاهد نشان داد، ولی تیمار ۸ میلی تسلا برای ۳ ساعت سبب کاهش رشد نسبت به شاهد شد. بالاترین وزن خشک در تیمار ۴ میلی تسلا در مدت ۱/۵ ساعت مشاهد شد که افزایش ۸۰/۹ درصدی را نسبت به شاهد نشان داد.

طول ساقه و ریشه در تیمار میدان مغناطیسی ۴ میلی تسلا برای ۱/۵ و ۳ ساعت افزایش معنی داری را در سطح احتمال ۵ درصد نسبت به شاهد نشان دادند و در تیمار ۸ میلی تسلا نسبت به شاهد کاهش یافت، گرچه میزان کاهش این پارامترها با افزایش زمان تیمار (۳ ساعت) مشهودتر بود. بیشترین میزان طول ریشه و اندام هوایی در ۴ میلی تسلا برای مدت ۳ ساعت بود که بترتیب یک افزایش ۵۸/۶ و ۳۸ درصدی را نسبت به شاهد نشان دادند.

جدول ۱. تاثیر شدت های مختلف میدان مغناطیسی بر برخی پارامترهای رشد گیاه گل‌گاوزبان

پارامترها	میدان مغناطیسی ایستا (میلی تسلا)				
	SMF0	SMF4+1.5 h	SMF4+3 h	SMF8+1.5 h	SMF8+ 3 h
محتوای نسبی آب (٪)	۶۲/۳۴ ± ۱/۹۷ b	۸۱/۴۴ ± ۲/۳۲ a	۸۲/۳۳ ± ۳/۴۵ a	۷۸/۶۶ ± ۲/۸۳ a	۴۹/۸۸ ± ۴/۱۵ c
وزن خشک (گرم)	۰/۰۲۱ ± ۰/۰۰۲۷ c	۰/۰۳۸ ± ۰/۰۰۲۳ a	۰/۰۳۶ ± ۰/۰۰۲۱ a	۰/۰۲۷ ± ۰/۰۰۱۱ b	۰/۰۱۴ ± ۰/۰۰۲۰ d
طول ساقه (سانتی متر)	۴/۶ ± ۰/۲۹۱ c	۶/۳ ± ۰/۲۴۵ b	۷/۳ ± ۰/۳۱۲ a	۴/۴ ± ۰/۲۷۷ c	۲/۶ ± ۰/۱۴۴ d
طول ریشه (سانتی متر)	۳/۵۰ ± ۰/۱۴۵ c	۴/۲۳ ± ۰/۲۳۲ b	۴/۸۳ ± ۰/۳۵۱ a	۳/۶۳ ± ۰/۱۸۶ c	۲/۶۱ ± ۰/۲۱۱ d
تعداد ریشه های جانبی	۴/۶ ± ۰/۱۲ c	۶/۶ ± ۰/۱۷ ab	۷/۳ ± ۰/۲۴ a	۷/۰ ± ۰/۲۹ a	۳/۳ ± ۰/۲۱ d

مقادیر میانگین ۴ تکرار ± انحراف معیار و حروف نامشابه بیانگر اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آنالیز آنالیز واریانس یکطرفه می باشد.

تعداد ریشه‌های فرعی در اکثر تیمارها به جز تیمار ۸ میلی تسلا برای ۳ ساعت نسبت به شاهد افزایش معنی داری را در سطح احتمال ۵ درصد نشان داد. بیشترین تعداد ریشه های جانبی در تیمار ۴ میلی تسلا برای ۳ ساعت مشاهد شد که نسبت به شاهد افزایش ۵۸/۷ درصدی را نشان داد.

محتوای رنگدانه

محتوای کلروفیل *a* تحت شدت های مختلف میدان مغناطیسی تغییر معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد نشان داد (جدول ۲). تیمارهای ۴ میلی تسلا برای ۳ ساعت (۴۰/۱ درصد) و ۸ میلی تسلا برای ۱/۵ ساعت (۲۸/۸ درصد) سبب افزایش معنی دار محتوای این رنگدانه در مقایسه با تیمار شاهد شدند. در حالیکه تیمار ۸ میلی تسلا برای ۳ ساعت محتوای کلروفیل *a* را کاهش داد. محتوای کلروفیل *b* نیز در تیمارهای ۴ میلی تسلا برای ۳ و ۱/۵ ساعت و ۸ میلی تسلا برای ۱/۵ ساعت افزایش معنی‌داری را در سطح احتمال ۵ درصد نسبت به شاهد نشان داد. بیشترین محتوای کلروفیل *b* در تیمار ۴ میلی تسلا برای ۳ ساعت بدست آمد که افزایش ۲/۲ برابری را نسبت به شاهد نشان داد.

محتوای کاروتنوئید در همه تیمارهای میدان مغناطیسی در زمان های مختلف افزایش معنی داری را در سطح احتمال ۵ درصد نسبت به شاهد نشان داد. بطوریکه بیشترین تجمع کاروتنوئیدها در گیاهچه های تیمار شده با میدان مغناطیسی ۸ میلی تسلا برای ۳ ساعت مشاده شد و افزایش ۱/۵ برابری را نسبت به شاهد نشان داد.

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۶۷-۱۵۵

جدول ۲. تاثیر شدت های مختلف میدان مغناطیسی بر محتوای رنگدانه‌های کلروفیل و کاروتنوئید گیاه گل‌گاوزبان

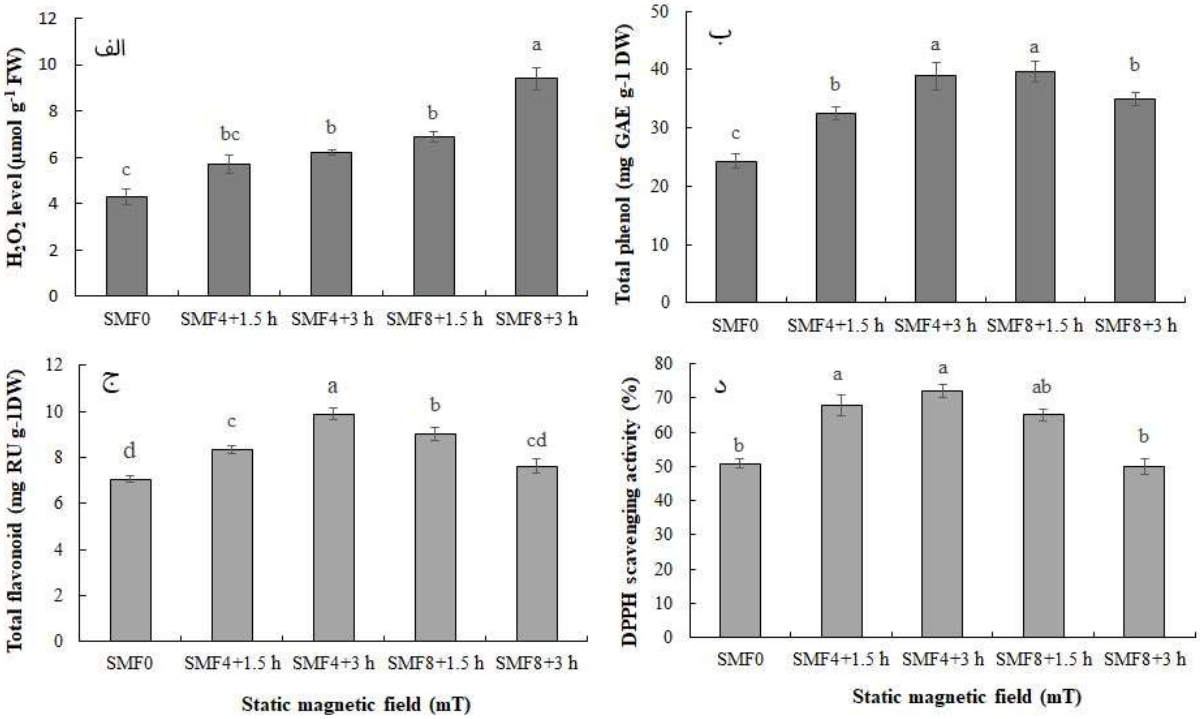
پارامترها (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	میدان مغناطیسی ایستا (میلی تسلا)				
	SMF0	SMF4+1.5 h	SMF4+3 h	SMF8+1.5 h	SMF8+ 3 h
کلروفیل *a*	۱/۴۲ ± ۰/۱۱۸ b	۱/۶۹ ± ۱/۱۵۶ ab	۱/۹۹ ± ۰/۰۹۱ a	۱/۸۳ ± ۰/۰۸۳ a	۰/۹۸ ± ۰/۰۶۱ c
کلروفیل *b*	۰/۲۵ ± ۰/۰۲۱ c	۰/۴۷ ± ۰/۰۱۷ ab	۰/۵۵ ± ۰/۰۲۳ a	۰/۴۱ ± ۰/۰۱۵ b	۰/۱۴ ± ۰/۰۱۱ d
کاروتنوئید	۱/۶ ± ۰/۰۸۸ c	۱/۹ ± ۰/۰۴۵ b	۲/۳ ± ۰/۰۶۲ a	۲/۴ ± ۰/۰۹۳ a	۲/۱ ± ۰/۰۴۱ a

مقادیر میانگین ۳ تکرار ± انحراف معیار و حروف نامشابه بیانگر اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آنالیز آنالیز واریانس یکطرفه می باشد.

محتوای پراکسید هیدروژن، فنول، فلاونوئید و فعالیت آنتی اکسیدانی DPPH

سطح پراکسید هیدروژن تحت تیمار میدان مغناطیسی افزایش معنی‌داری را در سطح احتمال ۵ درصد نشان داد. محتوای پراکسید هیدروژن با افزایش شدت و زمان اعمال تیمار میدان مغناطیسی تغییر معنی‌داری یافت و سطح این پارامتر در تیمار ۸ میلی‌تسلا برای ۳ ساعت، افزایش قابل ملاحظه‌ای در سطح احتمال ۵ درصد (۲/۲ برابری) نسبت به شاهد یافت که همسو با نتایج کاهش رشد گیاهچه ها در این تیمار بود (شکل ۱- الف).

محتوای فنول کل تحت شدت‌های مختلف میدان مغناطیسی و زمان های مختلف افزایش قابل معنی داری را در سطح احتمال ۵ درصد نشان داد. بیشترین میزان فنول در گیاه گل گاو زبان در میدان مغناطیسی ۸ میلی تسلا در مدت ۱/۵ ساعت و ۴ میلی تسلا در مدت ۳ ساعت مشاهده گردید که بترتیب افزایش ۱/۶۴ و ۱/۵۹ برابری را در مقایسه با شاهد نشان دادند (شکل ۱- ب).



شکل ۱- محتوای پراکسید هیدروژن (H_2O_2) (الف)، فنول (ب)، فلاونوئید (ج) و فعالیت آنتی اکسیدانی DPPH (د) تحت شدت‌های مختلف میدان مغناطیسی در گیاه گل‌گاوزبان

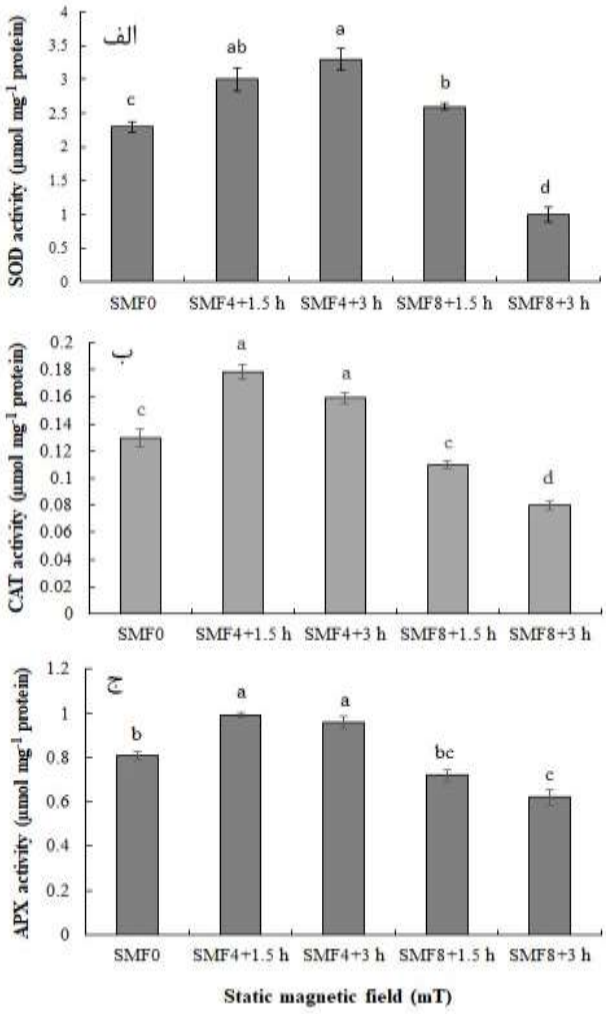
مقاله پژوهشی، صفحات ۱۶۷-۱۵۵

محتوای فلاونوئید کل تحت شدت ها و زمان های مختلف میدان مغناطیسی نسبت به شاهد تغییر یافت. بیشترین محتوای فلاونوئیدها در تیمار ۴ میلی تسلا برای ۳ ساعت مشاهده شد که افزایش ۱/۶ برابری را نسبت به شاهد نشان داد (شکل ۱- ج).

فعالیت آنتی اکسیدانی DPPH در تیمار ۴ میلی تسلا برای ۱/۵ و ۳ ساعت افزایش معنی داری را در سطح احتمال ۵ درصد نسبت به شاهد نشان داد و بالاترین سطح فعالیت آنتی اکسیدانی در تیمار ۴ میلی تسلا برای ۳ ساعت مشاهده شد که افزایش ۱/۴ برابری را نسبت به شاهد نشان داد (شکل 1d).

فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان

فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز ، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در گیاه گل‌گاوزبان تحت اثر میدان مغناطیسی در شکل ۲ نشان داده شده است. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به عنوان جاروب کننده رادیکال های آزاد سوپراکسید، افزایش معنی داری را در سطح احتمال ۵ درصد برای اکثر تیمارهای میدان مغناطیسی به استثنای تیمار ۸ میلی تسلا برای ۳ ساعت نشان داد. بالاترین فعالیت آنزیم در تیمار میدان مغناطیسی ۴ میلی‌تسلا برای ۳ ساعت مشاهده شد که افزایش ۱/۵ برابری را نسبت به شاهد نشان داد (شکل ۲- الف).



شکل ۲- فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD، الف)، کاتالاز (CAT، ب) و آسکوربات پراکسیداز (APX، ج) تحت شدت‌های مختلف میدان مغناطیسی در گیاه گل‌گاوزبان

فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تیمار میدان مغناطیسی ۴ میلی تسلا در زمان‌های مختلف افزایش معنی‌داری را در سطح احتمال ۵ درصد نسبت به شاهد نشان داد. تیمار ۸ میلی تسلا منجر به کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز بویژه برای مدت ۳ ساعت اعمال تیمار میدان مغناطیسی شد (شکل ۲- ب). فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تیمارهای میدان مغناطیسی ۴ میلی تسلا در زمان‌های ۱/۵ و ۳ ساعت افزایش معنی داری را در سطح احتمال ۵ درصد نسبت به شاهد نشان داد و تیمار ۸ میلی تسلا فعالیت این آنزیم را نسبت به شاهد کاهش داد. بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تیمار ۴ میلی‌تسلا برای ۱/۵ ساعت و کمترین فعالیت آن در تیمار ۸ میلی تسلا برای ۳ ساعت مشخص شد (شکل ۲- ج).

بحث و نتیجه گیری

در این پژوهش تاثیر میدان مغناطیسی بر مکانیسم‌های رشد و فیزیولوژی گیاه گل گاوزبان از طریق سطح فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج بدست آمده، میدان مغناطیسی در ۴ میلی تسلا در زمان‌های مختلف منجر به افزایش وزن خشک، طول ساقه، طول ریشه، تعداد ریشه های جانبی و محتوای نسبی آب شد، ولی در تیمار ۸ میلی تسلا با افزایش زمان اعمال تیمار (۳ ساعت)، پارامترهای رشد به طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۱). آنالیز مولفه اصلی ارتباط مثبت بین پارامترهای رشد، آنزیم های آنتی اکسیدانی، محتوای نسبی آب و رنگدانه‌های کلروفیل را نشان داد که بسیار نزدیک به محور F1 قرار گرفته اند (شکل ۳). به طور مشابهی، در گیاهچه های سویا، میدان مغناطیسی منجر به تحریک رشد شد که در ارتباط با افزایش جذب عناصر نیتروژن، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، آهن و منگنز بود (۱۳). تحقیقات نشان داده است که سلول ها دارای ملکول های پارامغناطیس هستند و وقتی تحت میدان مغناطیسی قرار می گیرند، رفتار مغناطیسی از خود نشان می دهند. تعدادی از این ملکول ها نظیر پروتئین ها که با فلزات کمپلکس شده اند، دارای الکترون های جفت نشده بوده و وقتی تحت میدان مغناطیسی قرار می گیرند، رزونانس الکترونی آنها افزایش یافته و روی نفوذپذیری غشای سلولی و هدایت الکتریکی آن تاثیر می‌گذارند (۳۰). بنظر می رسد افزایش رشد ساقه و ریشه گیاهچه های گل‌گاوزبان تحت تیمار میدان مغناطیسی در ارتباط با جذب بالاتر عناصر غذایی و آب و همچنین القای ترکیبات آنتی اکسیدانی برای جاروب نمودن رادیکال های آزاد باشد. به طوریکه در گیاه خارمریم، افزایش رشد تحت میدان مغناطیسی در ارتباط با افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی بود (۲۸). از طرفی، نتایج این پژوهش نشان داد که میدان مغناطیسی در شدت ها و زمان بالاتر (۸ میلی تسلا برای ۳ ساعت)، پارامترهای رشد را کاهش داد و آنالیز آنالیز مولفه اصلی نیز ارتباط منفی پارامترهای رشد و سطح پراکسید هیدروژن را نشان داد (شکل ۳). با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش، پاسخ رشد گیاه تحت میدان مغناطیسی می تواند وابسته به عوامل مختلفی از جمله شدت میدان، مدت زمان اعمال تیمار، سطح تجمع رادیکال های آزاد و مکانیسم های دفاع آنتی اکسیدانی باشد (۱۸ و ۲۷).

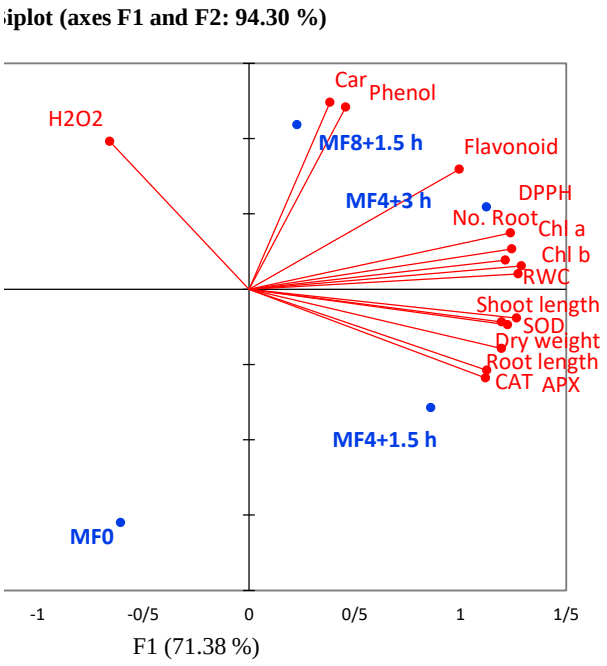
رشد ریشه با تقسیم سلول های بنیادی مریستم ریشه صورت می‌گیرد و محتوای هورمونی می‌تواند در تنظیم تقسیم سلولی، توسعه و تمایز سلول‌ها و رشد ریشه نقش داشته باشد (۳۲). در این مطالعه، رشد و تعداد ریشه های جانبی تحت میدان مغناطیسی افزایش معنی داری یافت ($P \leq ۰/۰۵$). درگیاهچه های آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*) نشان دادند که میدان مغناطیسی منجر به تحریک رشد ریشه و ریشه‌زایی شد که در ارتباط با افزایش تقسیم سلول‌های مریستمی، تجمع بالای اکسین و تاثیر این هورمون بر تنظیم فعالیت ناقلین PIN3 و AUX1 بود (۳۱). بررسی آناتومی نشان داد که میدان مغناطیسی سبب افزایش سلول‌های متازایلم و رشد ریشه در گیاه خار مریم شد (۳۲). از طرفی، ترکیبات ROS (Reactive Oxygen Species) در تراکم مناسب به عنوان ملکول های سیگنالینگ عمل نموده

و در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی و نموی از جمله چرخه سلولی، تشکیل ریشه های موئین، عملکرد روزنه ها، جنین زایی، تشکیل ریشه های موئین و طویل شدن ریشه ها نقش دارند (۲۲). بنظر می رسد میدان مغناطیسی با تنظیم سیگنالینگ هورمونی و سطح ROS می تواند در القای رشد و تشکیل ریشه های جانبی نقش داشته باشد.

در گیاه ذرت (*Zea mays*) شد (۲۰). اثر القایی میدان مغناطیسی بر القای تجمع رنگدانه‌های فتوسنتزی می تواند بدلیل اثر تنظیمی میدان مغناطیسی بر سطح جیبرلیک اسید باشد که منجربه تحریک جذب عناصر پتاسیم و منیزیوم برای بیوسنتز کلروفیل شد (۳۴). از طرفی نتایج ما نشان داد که اثر میدان مغناطیسی بر سطح رنگدانه کلروفیل و کاروتنوئید وابسته به شدت میدان و مدت زمان اعمال تیمار است (جدول ۲). بطوریکه تیمار میدان مغناطیسی ۸ میلی تسلا برای ۳ ساعت، سطح رنگدانه‌ها را کاهش داد. کاهش رنگدانه کلروفیل در شدت‌های بالای میدان مغناطیسی می تواند بدلیل کاهش جذب عناصر مورد نیاز بیوسنتز کلروفیل، تخریب آنزیم‌ها و پیش سازهای بیوسنتز کلروفیل تحت تجمع بالای رادیکال های آزاد باشد (۱۶).

کاروتنوئیدها از رنگدانه‌های ایزوپرنوئیدی هستند که علاوه بر عملکردش به عنوان آنتن جذب نور در فتوسنتز، نقش مهمی را در حفاظت دستگاه فتوسنتزی در شرایط نور شدید ایفا می کنند. بعلاوه دارای پتانسیل زیاد برای تنظیم هموستازی ردوکس و تخریب رادیکال های آزاد هستند (۱۲). در این پژوهش محتوای کارتنوئیدها تحت شدت ها و زمان های مختلف میدان مغناطیسی افزایش یافت که می تواند بیانگر اثر میدان بر تغییر متابولیسم دفاع سلولی در شرایط تنش می باشد. در انگور، نشان دادند که اثر میدان مغناطیس روی سلول می تواند منجر به تغییر متابولیسم سلولی و تولید متابولیت های آنتی اکسیدانی نظیر کاروتنوئیدها شود (۱۱).

شرایط تنش از جمله میدان مغناطیسی می تواند تولید ترکیبات ROS را القا نماید. این ترکیبات دارای عملکرد دوگانه بوده و با توجه به سطح تجمع می‌توانند به عنوان ملکول‌های سیگنالینگ و یا مخرب سلولی عمل نمایند.



شکل ۳. آنالیز آنالیز مولفه اصلی پارامترهای مختلف رشد و بیوشیمیایی گیاه گل‌گاوزبان تحت میدان مغناطیسی

کلروفیل به عنوان اصلی ترین رنگدانه جذب نور در پدیده فتوسنتز است و نقش کلیدی را در رشد و سازش گیاه تحت شرایط محیطی ایفا می کند. در این پژوهش، میدان مغناطیسی منجر به افزایش تجمع رنگدانه‌های کلروفیل *a* و *b* شد. در گیاه گندم، تیمار میدان مغناطیسی سبب افزایش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی شد که در ارتباط با جذب بیشتر عناصر از محیط کشت بود (۳۳). میدان مغناطیسی در شدت های ۱۰۰-۱۵۰ میلی تسلا منجر به افزایش رشد، کلروفیل کل، کارایی فتوسنتزی و تراکم دی‌اکسیدکربن بین سلولی از طریق افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو و هدایت روزنه های

تجمع بالای این ترکیبات روی یکپارچگی غشای سلولی، پروتئین ها، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک اثر گذاشته و تنش اکسیداتیو را در گیاهان القا می‌نماید (۱ و ۲۶). در این پژوهش، میدان مغناطیسی سبب القای سطح تجمع پراکسید هیدروژن شد و با افزایش شدت و زمان میدان مغناطیسی، محتوای آن افزایش بیشتر یافت (شکل ۱). آنالیز آنالیز مولفه اصلی ارتباط منفی سطح تجمع پراکسید هیدروژن و رشد را نشان داد (شکل ۳). برای پیشگیری از تنش اکسیداتیو، سلول های گیاهی مکانیسم دفاعی گوناگون آنزیمی و غیر آنزیمی را بکار می گیرند. از بین عوامل آنزیمی، آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نقش اساسی را در تبدیل رادیکال های سوپراکسید به پراکسید هیدروژن و آب بازی می کند. سپس آنزیم های کاتالاز، پراکسیداز و سایر آنزیم های چرخه آسکوربات ردوکتاز، ملکول های پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل می نمایند (۶). نتایج این پژوهش نشان داد که میدان مغناطیس در گیاه گل گاو زبان در شدت خاص (۴ میلی تسلا) می تواند سبب القای فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و القای رشد شود (شکل ۳) (۱۵ و ۱۷). میدان مغناطیسی در شدت ۴ میلی تسلا با تنظیم سطح ملکول‌های سیگنالینگ پراکسید هیدروژن، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی را در گیاه عروسک پشت پرده تقویت نمود (۱۸).

در بین ترکیبات دفاعی غیرآنزیمی، ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و آنتی اکسیدان‌های دارای سولفور نظر گلوتاتیون، سیستئین و توکوفرول نقش مهمی را تعدیل تنش اکسیداتیو به عهده دارند (۲ و ۲۲). این ترکیبات به عنوان شلاتورهای یون های فلزی و دهنده الکترون و هیدروژن عمل نموده و رادیکال های آزاد را جاروب می نمایند (۲۵). نتایج این پژوهش نشان داد که محتوای فنول، فلاونوئید و فعالیت آنتی اکسیدانی DPPH تحت میدان مغناطیس ۴ میلی تسلا (۱/۵ و ۳ ساعت) و ۸ میلی تسلا برای ۱/۵ ساعت افزایش یافت (شکل ۱). آنالیز آنالیز مولفه اصلی ارتباط مثبت فعالیت آنتی اکسیدانی DPPH را با ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و کاروتنوئیدها نشان داد (شکل ۳). افزایش محتوای فنولی و فلاونوئیدی تحت میدان مغناطیسی در گیاه عروسک پشت پرده نیز مشاهد شد که در ارتباط با اثر میدان بر تجمع پراکسید هیدروژن بود (۱۸). Latef و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که میدان مغناطیسی با افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین-آمینولیاز و تیروزین-آمینولیاز منجر به افزایش ترکیبات فنولی در گیاه کاهو شد (۲۴). نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که میدان مغناطیسی با فعال نمودن ملکول های سیگنالینگ از جمله پراکسید هیدروژن، سبب تغییر پاسخ های متابولیکی در جهت القای رشد و سنتز متابولیت های ثانویه شد.

سپاسگزاری

از مسئولین محترم پژوهشگاه هوافضا جهت حمایت مالی از این پژوهش تشکر و قدردانی می گردد.

منابع

۱. مراتی، م، ج.، نیکنام، و.، حسن پور، ح.، میرمعصومی، م. (۱۳۹۴). مقایسه تأثیر تنش شوری بر رشد و پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی در اندام های مختلف گیاه پونه معطر (*Mentha pulegium* L.)، مجله پژوهش های گیاهی (انجمن زیست شناسی ایران) ۲۸ (۵): ۱۱۰۷-۱۰۹۷.

۲. خسروی، ا.، سلیمی، ا.، چاوشی، م.، زیدی، ه. (۱۴۰۱). نقش کیتوزان بر کاهش اثرات تنش شوری از طریق آنتی اکسیدان،های آنزیمی و غیرآنزیمی در گیاه خرفه (*Portulaca oleracea* L.)، مجله پژوهش های گیاهی (انجمن زیست شناسی ایران) ۳۵ (۴): ۷۹۸-۷۸۶.

3. Abdollahi, F., Amiri, H., Niknam, V., Ghanati, F., & Mahdigholi, K. (2019) Effects of static magnetic fields on the antioxidant system of almond seeds. Russian Journal of Plant Physiology 66: 299-307.

4. Abed, A., Vaseghi, G., Jafari, E., Fattahian, E., Babhadiashar, N., & Abed, M. (2014) *Echium Amoenum* Fisch. Et Mey: A review on its pharmacological and medicinal properties. Asian Journal *of* Medical *and* Pharmaceutical Researches 4: 21-23.

5. Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. Methods Enzymol 105: 121–126.

6. Apel, K., Hirt, H. (2004) Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Annu. Rev Plant Biol 55: 373-399.

7. Baghel, L., Kataria, S., & Guruprasad, K. (2018) Effect of static magnetic field pretreatment on growth, photosynthetic performance and yield of soybean under water stress. Photosynthetica 56: 718-730.

8. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT Food Sci Technol. 1995: 28:25–30.

9. Chandran, H., Meena, M., Barupal, T., & Sharma, K. (2020) Plant tissue culture as a perpetual source for production of industrially important bioactive compounds. Biotechnology reports 26: e00450.

10. Chua, L.S., Latiff, N.A., Lee, S.Y., Lee, C.T., Sarmidi, M.R., Aziz, R.A. (2011) Flavonoids and phenolic acids from *Labisia pumila* (Kacip Fatimah). Food Chem 127: 1186–1192.

11. Dobšinský, J., Jedlička, J. (2017) Biological effect of magnetic field on the fermentation of wine. Food Sci 11: 575-579.

12. El-Agamey, A., Lowe, G.M., McGarvey, D.J., Mortensen, A., Phillip, D.M., Truscott, T.G. and Young, A.J. (2004) Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. Archives of Biochemistry and Biophysics 430(1): 37-48.

13. Eşitken, A., Turan, M. (2004). Alternating magnetic field effects on yield and plant nutrient element composition of strawberry (*Fragaria* x *ananassa* cv. Camarosa). Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Soil & Plant Science *54*(3): 135-139.

14. Giannopolitis, C.N., Ries, S. K. (1977) Superoxide dismutases II. purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedlings. J Plant Physiol 59: 315–318.

15. Haghighat, N., Abdolmaleki, P., Ghanati, F., Behmanesh, M. and Payez, A. (2014) Modification of catalase and MAPK in *Vicia faba* cultivated in soil with high natural radioactivity and treated with a static magnetic field. Journal of plant physiology 171(5): 99-103.

16. Hajnorouzi, A., Vaezzadeh, M., Ghanati, F. and Nahidian, B. (2011) Growth promotion and a decrease of oxidative stress in maize seedlings by a combination of geomagnetic and weak electromagnetic fields. Journal of Plant Physiology 168(10): 1123-1128.

17. Hassanpour, H., Niknam, V. (2020) Establishment and assessment of cell suspension cultures of *Matricaria chamomilla* as a possible source of apigenin under static magnetic field. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC) 142(3): 583-593.

18. Hassanpour, H., Hassanpour, S. (2021) Promoting impact of electromagnetic field on antioxidant system and performance of vascular tissues in *Physalis alkekengi*. Russian Journal of Plant Physiology 68(3): 545-51.

19. Hosseinpour Azad, N., Arastegi Marani, H., & Bourang, S. (2022) A review on Iranian *Echium amoenum* Fisch & CA Mey. Ecophysiology & Phytochemistry of Medicinal and Aromatic Plants, 9 (New Journal-1), 61-71.

20. Javed, N., Ashraf, M., Akram, N.A., Al-Qurainy, F. (2011) Alleviation of adverse effects of drought stress on growth and some potential physiological attributes in maize (*Zea mays* L.) by seed electromagnetic treatment. Photochemistry and Photobiology 87(6): 1354-1362.

21. Jebara, S., Jebara, M., Limam, F., Aouani, M.E. (2005) Changes in ascorbate peroxidase, catalase, guaiacol peroxidase and superoxide dismutase activities in common bean (*Phaseolus vulgaris*) nodules under salt stress. Plant Physiol 162: 929–936.

22. Jin, Y., Guo, W., Hu, X., Liu, M., Xu, X., Hu, F., Lan, Y., Lv, C., Fang, Y., Liu, M. and Shi, T. (2019) Static magnetic field regulates Arabidopsis root growth via auxin signaling. Scientific reports *9*(1): p.14384.

23. Khorshidi, N., Hassanpour, H. and Ziyadi, H. (2022) Static magnetic field improved growth and astaxanthin production in *Haematococcus lacustris* via the regulation of carbohydrate accumulation, H_2O_2 level, and antioxidant defense system. Journal of Applied Phycology 34(5): 2283-2295.

24. Latef, A. A. H. A., Dawood, M. F., Hassanpour, H., Rezayian, M., & Younes, N. A. (2020) Impact of the static magnetic field on growth, pigments, osmolytes, nitric oxide, hydrogen sulfide, phenylalanine ammonia-lyase activity, antioxidant defense system, and yield in lettuce. Biology *9*(7): 172.

25. Liang, T., Yue, W. and Li, Q. (2010) Comparison of the phenolic content and antioxidant activities of *Apocynum venetum* L.(Luo-Bu-Ma) and two of its alternative species. International journal of molecular sciences 11(11): 4452-4464.

26. Lutts, S., Kinet, J. M. and Bouharmont, J. (1996) NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. Journal Annual Botany 78: 389–398.

27. Maffei, M. E. (2014) Magnetic field effects on plant growth, development, and evolution. Frontiers in plant science 5: 445.

28. Mansourkhaki, M., Hassanpour, H. and Hekmati, M. (2019) Effect of static magnetic field on the growth factors, antioxidant activity and anatomical responses of *Silybum marianum* seedlings. Journal of Plant Process and Function 7(28): pp.9-15.

29. Murthy, H. N., Lee, E. J., & Paek, K. Y. (2014) Production of secondary metabolites from cell and organ cultures: strategies and approaches for biomass improvement and metabolite accumulation. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC) 118: 1-16.

30. Reina, F.G. and L.A. Pascual. (2001) Influence of a stationary magnetic field on water relations in lettuce seeds. Part I: Theoretical considerations. Bioelectromagnetics: Journal of the

Bioelectromagnetics Society, The Society for Physical Regulation in Biology and Medicine, The European Bioelectromagnetics Association, 22(8): 589-595.

31. Roussos, P.A. (2023) Adventitious root formation in plants: the implication of hydrogen peroxide and nitric oxide. Antioxidants 12(4): 862.
32. Sabatini, S., Beis, D., Wolkenfelt, H., Murfett, J., Guilfoyle, T., Malamy, J., Benfey, P., Leyser, O., Bechtold, N., Weisbeek, P. and Scheres, B. (1999) An auxin-dependent distal organizer of pattern and polarity in the Arabidopsis root. Cell *99*(5): 463-472.
33. Selim, A.F.H., Selim, D.A. (2019) Physio-biochemical behaviour, water use efficiency and productivity of wheat plants exposed to magnetic field. J Plant Prod 10: 185–191.
34. Shaddad, M. (1990) The effect of proline application on the physiology of *Raphanus sativus* plants grown under salinity stress. Biologia plantarum 32(2): 104-112.
35. Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American journal of Enology and Viticulture 16(3): 144-58.
36. Teixeira da Silva, J. A., Dobránszki, J. (2016) Magnetic fields: how is plant growth and development impacted? Protoplasma 253(2): 231-248.
37. Vashisth, A., Nagarajan, S. (2010) Effect on germination and early growth characteristics in sunflower (*Helianthus annuus*) seeds exposed to static magnetic field. Journal of plant physiology 167(2): 149-156.
38. Velikova, V., Yordanov, I., Edreva, A. (2000) Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. J Plant Sci 151: 59–66.
39. Wellburn, A.R. (1994) The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. Journal of plant physiology 144(3): 307-13.

Static magnetic field-induced changes in the growth, photosynthetic pigments, antioxidative enzyme activities, and secondary metabolites of *Echium amoenum* seedlings

Hassanpour H.

Aerospace Research Institute, Ministry of Science Research and Technology, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

The magnetic field is an unavoidable physical factor in nature that can affect the growth and development of living organisms. In this study, magnetic field impact was studied on the growth and secondary metabolite of *Echium amoenum* seedlings through photosynthetic pigments, hydrogen peroxide content, and enzymatic and non-enzymatic defense systems. The disinfected seeds of *E. amoenum* were cultivated in Morashige and Skoog medium and then exposed to different intensities of static magnetic field (0, 4, and 8 Militesla (mT)) at 1.5 and 3 hours. After three weeks, seedlings were harvested for growth and biochemical analyses. Magnetic field at 4 mT increased dry weight, root and stem length, number of adventitious roots, chlorophyll *a* and *b* pigments, and relative water content. Hydrogen peroxide content enhanced with the rise in the intensity and duration of magnetic field, and its highest level was identified at 8 mT for 3 hours with a 2.2-fold rise compared to the control. Antioxidant enzyme activities, including superoxide dismutase, catalase, ascorbate peroxidase, and antioxidant metabolites increased under magnetic field, and the highest activity of antioxidant enzymes was observed at 4 mT for 3 hours. Increasing intensity and duration of magnetic field application (8 mT for 3 hours) showed the toxicity impact on the enzyme activities and defensive metabolites. It seems that the defensive responses to the magnetic field are related to hydrogen peroxide level and the treatment of 4 mT is the appropriate intensity to stimulate the growth and production of antioxidant metabolites in the *E. amoenum* seedlings.

Key words: Antioxidative enzymes, Magnetic field, *Echium amoenum*, Photosynthetic pigments