

## تأثیر امواج مغناطیسی ایستا بر محتوای ترکیبات فنلی در دو گونه بادام ایرانی (*A. eburnea* و *Amygdalus scoparia*)

سیده فاطمه عبداللهی<sup>۱</sup>، حمزه امیری<sup>۱\*</sup>، وحید نیکنام<sup>۲</sup>، فایزه قناتی<sup>۳</sup> و کاظم مهدیقلی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup>گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، <sup>۲</sup>گروه فیزیولوژی گیاهی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه تهران، تهران، <sup>۳</sup>گروه فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، <sup>۴</sup>گروه سیستماتیک گیاهی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه تهران، تهران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۵/۱۲، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۵/۱۲/۰۹)

### چکیده:

امواجی که ما شبانه‌روز با آنها سر و کار داریم متفاوت هستند. امواج مغناطیسی و الکترومغناطیسی از این دسته هستند که بعضی از آنها از خطوط برق و وسایل برقی خانگی تولید می‌شوند. امواج مغناطیسی زمین یکی دیگر از انواع امواج غیرقابل رویت است و تمام موجودات زنده به طور طبیعی در معرض آن هستند. این امواج از نظر زیستی غیرفعال هستند اما اگر امواج مغناطیسی اضافی به صورت مصنوعی و از طریق ساخته‌های نوع بشر تولید شوند ممکن است سبب بروز پاسخ‌های مختلفی در گیاهان شوند. در این آزمایش بذره‌های دو گونه بادام ایرانی (*A. eburnea* و *Amygdalus scoparia*) به صورت مصنوعی تحت تأثیر امواج مغناطیسی ایستا قرار گرفتند. بذره‌های هر گونه به سه گروه بذر خشک دور از دسترس میدان مغناطیسی، بذر رطوبت دیده دور از دسترس میدان (شاهد) و بذر رطوبت دیده در معرض میدان تقسیم شدند. شدت میدان وارده ۱۰ میلی‌تسلا و مدت زمان تابش ۴ روز و هر روز به مدت ۵ ساعت بود. میزان فعالیت آنزیم‌های پلی‌فنل-اکسیداز و فنیل‌آلانین‌آمونالیاز و همچنین محتوای ترکیبات فنلی کل، اسیدهای فنلی، ترکیبات فلاونوئیدی، آنتوسیانین مورد سنجش قرار گرفت. مقایسه تیمارها به کمک طرح کامل تصادفی صورت پذیرفت. نتایج حاصله نشان داد که میزان فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونالیاز تغییر چندانی نداشت ولی فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز تحت تأثیر میدان مغناطیسی در گونه *A. scoparia* افزایش یافت. محتوای ترکیبات فنلی کل، آنتوسیانین و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل نیز در هر دو گونه افزایش نشان داد. هرچند محتوای فلاونوئیدی کاهش یافت و محتوای اسیدهای فنلی نیز در گونه *A. scoparia* کاهش و در گونه *A. eburnea* افزایش نشان داد.

واژه‌های کلیدی: اسیدهای فنلی، آنتوسیانین، بادام ایرانی، میدان مغناطیسی ایستا، محتوای فلاونوئیدی

### مقدمه:

بیابان‌های غربی چین، کردستان، ترکستان، افغانستان و ایران پراکنده شده است (Watkins, Gradziel & Kester, 1997). گونه‌های وحشی بادام نقش اجتماعی-اقتصادی و اکولوژیکی مهمی در سرتاسر ایران به‌خصوص مناطق یاد شده ایفا می‌کنند. بادام دارای مصارف و کاربردهای گوناگونی در

سرده بادام با نام علمی *Amygdalus* متعلق به زیرتیره Prunoideae و تیره Rosaceae می‌باشد. این گیاه از نظر تجاری در تمامی نقاط جهان کشت می‌شود. منشاء گونه‌های مختلف بادام در آسیای مرکزی است و در بخش‌های کوهستانی و

\*نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: amiri.h@lu.ac.ir

مؤثر است. در پژوهشی شدت‌های ۵۰ تا ۲۵۰ میلی‌تسلا میدان مغناطیسی به مدت ۱ تا ۴ ساعت بر *Helianthus annuus* مورد مطالعه قرار گرفت. این پژوهش نشان داد که میدان مغناطیسی در بیشتر شدت‌های ذکر شده سبب افزایش شاخص جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی کل در آفتابگردان می‌شود (Vashisth & Nagarajan, 2010). البته میزان تأثیر امواج مغناطیسی به مدت زمان تیماردهی بسیار حساس است (Kalinin & Boshkova, 2003). میدان مغناطیسی همچنین بر کده بندی عناصر فلزی در سلول مؤثر است. به عنوان مثال در پژوهشی که بر روی *Zea mays* صورت گرفت، میدان مغناطیسی ایستا با شدت ۳۰ میلی‌تسلا و به مدت ۵ روز سبب کاهش محتوای کلسیم و آهن در هر دو اندام هوایی و زیرزمینی گیاهچه‌های تیمار شد (Hajnorouzi et al., 2011). البته بر اساس میزان فرکانس میدان، مقدار برخی از عناصر فلزی در گیاه افزایش و برخی دیگر کاهش نشان می‌دهد و در برخی از فرکانس‌ها کده بندی عنصر بدون تغییر باقی می‌ماند (Khizhenkov & Netsvetov, 2009). تأثیر شدت‌های مختلف امواج مغناطیسی بر برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی گیاه از جمله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، برخی متابولیت‌های ثانویه و همچنین پراکسیداسیون لیپیدی نیز در برخی از پژوهش‌ها مورد بررسی قرار گرفته است (Hirota et Hajnorouzi et al., 2011; al., 1999; Rakosy Tican et al., 2005; Sahebamei et al., 2007; Yano et al., 2001; Yano et al., 2004). به عنوان مثال، نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که امواج مغناطیسی ایستا با شدت ۳۰ میلی‌تسلا سبب تغییر میزان انواع ترکیبات فنلی موجود در *Ocimum basilicum* می‌شود (Ghanati et al., 2007)، ولی از آنجا که برای رسیدن به یک نظریه در مورد اثرات این امواج بر روی گیاهان، احتیاج به مطالعات بسیار بیشتری می‌باشد. در پژوهش حاضر، تأثیر شدت خاصی از میدان مغناطیسی ایستا بر انواع ترکیبات فنلی و دو آنزیم پلی-فنل‌اکسیداز و فنیل‌آلانین‌آمونیا لیااز که از آنزیم‌های کلیدی ساخت ترکیبات فنلی هستند در دو گونه بادام ایرانی با نام‌های علمی *Amygdalus scoparia* و *A. eburnea* مورد بررسی قرار گرفته است.

زمینه‌های مختلف می‌باشد. به عنوان مثال برای مصارف غذایی، چرای دام، و همچنین استخراج روغن مورد استفاده قرار می‌گیرد. روغن بادام هم در صنعت استفاده می‌شود و هم مصرف دارویی دارد. در سطح اکولوژیکی، این گیاهان به عنوان سدی در برابر فرسایش خاک عمل می‌کنند. (Denisov, 1987; Grasselly, 1976). به علاوه، از گونه‌های جدید بادام به عنوان منبع ژنی و آلی برای شناسایی بادام‌های اهلی استفاده می‌شود.

با پیشرفت علم و صنعت و پیدایش انواع میدان‌های الکتریکی و مغناطیسی در زندگی بشر، محققان در صدد شناسایی تأثیرات این امواج بر موجودات زنده برآمدند؛ چنان که در چند دهه اخیر مطالعات فراوانی در زمینه تأثیر امواج الکترومغناطیسی بر موجودات زنده صورت گرفته است. نتیجه این تحقیقات نشان می‌دهد که میدان‌های یاد شده دارای اثرات متفاوت و متناقض بر روی موجودات مختلف هستند که به شدت میدان، فرکانس میدان، موجود زنده در معرض میدان، مدت زمان تیماردهی و سایر عوامل بستگی دارد. این تأثیرات، گاهی مثبت ارزیابی می‌شوند و در برخی موارد برای موجودات زنده مضر هستند (Piacentini et al., 2001). از جمله تأثیرات مثبت امواج الکترومغناطیسی بر انسان، استفاده از طول موج-های پایین این امواج جهت درمان انواع سرطان‌ها می‌باشد (Dibirdik et al., 1998). در مطالعاتی که بر روی باکتری‌ها و جانوران صورت گرفته، مشاهده شده است که امواج یاد شده دارای تأثیرات فراوانی بر سازوکارهای سلولی هستند. اولین سازوکار، آزادسازی کلسیم به عنوان یک علامت درون سلولی (Lyle et al., 1991; Walleczek, Lyle et al., 1997) و تأثیر بر نفوذپذیری غشای سلول می‌باشد (1992; Uckun et al., 1995; Bersani et al., 1997).

امواج مغناطیسی سبب بروز تنش‌های اکسیداتیو در گیاه می‌شود اما نسبت به سایر تنش‌های اکسیداتیو کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است. از جمله این مطالعات، تأثیر امواج بر تکوین و توسعه بافت و سلول گیاهی است (Weisenseel et al., 1979). امواج مغناطیسی بر جوانه زنی دانه گیاه و رشد گیاه

و برای مطالعه بر روی تغییرات بیوشیمیایی بذرها قبل از جوانه‌زنی، پس از پایان روز چهارم، نمونه‌ها جهت آنالیزهای بیوشیمیایی برداشت شدند.

**فنیل آلانین آمونیاک (PAL):** مقدار ۰/۲ گرم از نمونه در بافر پتاسیم بورات ۰/۱ مولار با  $\text{pH} = 8/8$  همراه با  $\beta$ -مرکاپتواتانول ۰/۲ میلی‌مولار بر روی یخ ساییده شد و سپس در  $g = 16000$  به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴-۲ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیمی استفاده گردید. در هر لوله آزمایش مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر محلول آنزیمی، ۱ میلی‌لیتر بافر (بدون مرکاپتواتانول) ریخته و سپس ۰/۵ میلی‌لیتر فنیل آلانین ۴ میلی‌مولار به عنوان سوبسترا به آنها اضافه شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱ ساعت در حمام آب گرم با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از خارج نمودن نمونه‌ها از حمام آب گرم به همه نمونه‌ها ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۵ مولار افزوده و تکان داده شد. سپس همه نمونه‌ها ۳ بار با اتیل استات استخراج شد. نمونه‌ها با هوا خشک شد. نمونه‌های خشک شده حاوی محصول عمل آنزیم PAL یعنی اسید سینامیک می‌باشد که در اتانول مطلق حل شد و در طول موج ۲۷۳ نانومتر سنجش و اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم با مقدار اسید سینامیک تولید شده در یک ساعت در هر میلی‌گرم پروتئین بیان شد (Camm & Towers, 1973).

**پلی فنل اکسیداز (PPO):** به منظور سنجش فعالیت سینتیکی آنزیم پلی‌فنل اکسیداز ۱/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار با  $\text{pH} = 7/6$ ، ۰/۵ میلی‌لیتر پیروگال (۰/۰۲) و ۲۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی را در یک لوله آزمایش مخلوط کرده و پس از قرارگیری در بن‌ماری ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه، تغییرات جذب به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر (Shimadzu مدل UV-160) در شیوه Kinetic و طول موج ۴۳۰ نانومتر رسم گردید. در نهایت میزان فعالیت آنزیم بر اساس تغییرات جذب در دقیقه به ازای وزن تر بافت گیاهی ( $\text{min}^{-1}$ ) (Raymond et al., 1993).

**سنجش ترکیبات فنلی:** برای سنجش ترکیبات فنلی ابتدا منحنی استاندارد تانیک اسید تهیه شد. بدین منظور ابتدا حجم

با توجه به این‌که محل رویش بادام ایرانی اغلب در نواحی کوهستانی است که کابل‌های برق فشار قوی از این مناطق عبور می‌کنند، گیاه در معرض امواج مغناطیسی و الکترومغناطیسی حاصله قرار می‌گیرد. تا کنون هیچ پژوهشی تأثیر امواج مغناطیسی و یا الکترومغناطیسی را بر روی بذر و گیاهچه بادام ایرانی بررسی نکرده است. بنابراین لزوم مطالعه تأثیر این امواج بر بذر و گیاهچه مورد نظر احساس شد.

### مواد و روش‌ها

**دستگاه مولد میدان مغناطیسی ایستا:** دستگاه تولید کننده میدان مغناطیسی مستقیم با توان یک کیلووات و جریان عبوری ۳۰ آمپر و قابلیت تولید میدان مغناطیسی مستقیم با شدت ۱۰ میلی‌تسلا واقع در دانشگاه تربیت مدرس جهت تیمار استفاده گردید. جهت جلوگیری از ایجاد گرمای زیاد درون سیم پیچها از سیستم سرمایش گازی با یک اواپراتور، موتور دانفیوس، کندانسور و گاز سرد کننده استفاده شد. گروه شاهد نیز در همان شرایط دمایی و رطوبتی قرار گرفتند و از دستگاه مولد میدان مغناطیسی ایستا به اندازه کافی دور نگاه‌داشته شدند. البته میدان مغناطیسی طبیعی زمینی دارای شدت ۵۰ میکروتسلا می‌باشد که به طور طبیعی بر هر دو گروه شاهد و تیمار اعمال شد.

**آماده سازی بذرها:** بذرهای دو گونه بادام ایرانی *Amygdalus scoparia* و *A. eburnea* از گیاهکده دانشگاه تهران تهیه شد و جهت تیمار به دانشگاه تربیت مدرس انتقال داده شد. ابتدا پوسته سخت بذر جدا شد و سپس درون هر پتری‌دیش ۱۰ عدد بذر قرار داده شد. سه گروه مورد آزمایش تعیین شد؛ یک گروه بذر خشکی که در معرض میدان مغناطیسی قرار نگرفت و دو گروه دیگر به پتری‌دیش حاوی کاغذ صافی مرطوب انتقال داده شدند. دمای گلخانه ۲۵ درجه سانتی‌گراد برآورد شد. پتری‌دیش‌های رطوبت‌دیده به دو گروه شاهد و تیمار تقسیم شدند. گروه تیمار در یک بازه زمانی ۴ روزه و هر روز به مدت ۵ ساعت در معرض میدان مغناطیسی ایستا با شدت ۱۰ میلی‌تسلا قرار گرفت. با توجه به این‌که بذرهای بادام معمولاً در روز ششم شروع به جوانه‌زنی می‌کنند

های مختلف از محلول استوک تانیک اسید هم ارز با ۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ... ۲۰۰ میکروگرم در میلی لیتر تانیک اسید به لوله های آزمایش منتقل شده و حجم آنها با آب مقطر روی ۱۷ میلی لیتر تنظیم گردید. سپس به هر یک از لوله ها ۱ میلی لیتر معرف فولن و در مرحله بعد ۲ میلی لیتر معرف سدیم کربنات اشباع افزوده شد. محلول شاهد ابتدا واجد ۱۷ میلی لیتر آب مقطر بود. بلافاصله پس از افزودن معرف دوم، لوله ها توسط ورتکس هم زده شده و پس از ۳۰ دقیقه، جذب محلولها در ۷۶۰ نانومتر اندازه گیری گردید.

در مرحله بعد ۰/۱ گرم از گرد نمونه توسط متانول ۸۰ درصد در بن ماری با دمای ۷۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳ ساعت استخراج گردید. در این بررسی از روش اسپکتروفوتومتری Folin-Denis استفاده شد که در آن غلظت کل گروه های هیدروکسیل فنلی بدون توجه به مولکول های خاص در بردارنده آنها اندازه گیری می شود. ابتدا عصاره ی تهیه شده با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف و تبخیر شده و پس از انحلال مجدد در ۱۰ میلی لیتر آب مقطر برای اندازه گیری ترکیبات فنلی کل مورد استفاده قرار گرفتند. این عمل به منظور جلوگیری از تشکیل رسوب و کدر شدن محلولها پس از افزودن معرفها انجام می گیرد. پس از یافتن حجم مناسب برای سنجش و پس از افزودن معرفها اندازه گیری جذب در ۷۶۰ نانومتر انجام گردید. حجم مناسب در این نمونه ها یک میلی لیتر تشخیص داده شد (Ranganna, 1986).

**سنجش اسیدهای فنلی:** جهت تهیه منحنی استاندارد، با استفاده از محلول اسید کافئیک آماده شده حجم های مختلف هم ارز با ۰، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و ۱ میلی گرم در میلی لیتر کافئیک اسید در لوله های آزمایش ریخته شده و حجم آنها با متانول به ۱ میلی لیتر رسانده شد. محلول شاهد دارای ۱ میلی لیتر متانول می باشد. به هر یک از لوله ها ۱ میلی لیترهیدروکلریک اسید ۰/۱ مولار و ۱ میلی لیتر سدیم هیدروکسید ۱ مولار افزوده و نهایتاً با کمک آب مقطر به حجم ۹ میلی لیتر رسانده و سپس به هر لوله ۱ میلی لیتر معرف آرنو اضافه کرده و پس از ورتکس شدید جذب محلول

در ۴۹۰ نانومتر خوانده شد. محلول شاهد ابتدا واجد یک میلی لیتر متانول می باشد. سنجش با سه بار تکرار انجام شد. به منظور سنجش محتوای اسیدهای فنلی ۰/۱ گرم از گرد نمونه های گیاهی توسط متانول ۸۰٪ به مدت ۶ ساعت رفلو گردید. سپس عصاره های متانولی با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف و تبخیر شده و پس از انحلال مجدد در ۱۰ میلی لیتر متانول برای اندازه گیری اسیدهای فنلی مورد سنجش قرار گرفتند. به این ترتیب یک میلی لیتر عصاره را برداشته و پس از افزودن محلولها و معرفهای لازم، اندازه گیری جذب محلول سریعاً در ۴۹۰ نانومتر انجام گرفت (Matkowski et al., 2008). سنجش ها با سه بار تکرار انجام شدند.

**سنجش ترکیبات فلاونوئیدی:** جهت تهیه منحنی استاندارد با استفاده از محلول کوئرستین آماده شد حجم های هم ارز با ۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ میکروگرم کوئرستین را در لوله های آزمایش ریخته شده و حجم آنها با متانول به ۰/۵ میلی لیتر رسانده شد. محلول شاهد دارای ۰/۵ میلی لیتر متانول می باشد. پس به هر یک از لوله ها ۱/۵ میلی لیتر متانول، ۰/۱ میلی لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد و ۰/۱ میلی لیتر استات پتاسیم ۱ مولار و نهایتاً ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر افزوده و لوله ها را ورتکس کرده و پس از ۳۰ دقیقه جذب محلولها در ۴۱۵ نانومتر اندازه گیری گردید. سنجش ها با سه بار تکرار انجام شدند.

برای سنجش ترکیبات فلاونوئیدی ۰/۱ گرم از گرد نمونه توسط متانول ۱۰۰ درصد مورد استخراج گرفت (Pourmorad et al., 2006). ابتدا عصاره های متانولی با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف و مورد تبخیر قرار گرفت و با انحلال مجدد در متانول و به دنبال عبور از فیلتر به منظور سنجش فلاونوئیدها مورد استفاده قرار گرفتند. پس از یافتن حجم مناسب برای سنجش و افزودن معرف و محلول های لازم، اندازه گیری جذب بعد از ۳۰ دقیقه در ۴۱۵ نانومتر انجام گرفت. حجم مناسب برای این سنجش، ۰/۱ میلی لیتر می باشد. تمامی سنجش ها سه بار تکرار انجام شدند.

**سنجش محتوای آنتوسیانین:** بذرها در محلول یک حجم

$P=$  معنی دار بوده ولی در گونه *A. eburnea* معنی دار نبوده است (شکل ۲). همانطور که در شکل ۳ مشاهده می شود میزان ترکیبات فنلی کل در گروه شاهد نسبت به بذر خشک در هر دو گونه *A. scoparia* و *A. eburnea* افزایش داشته است ولی از نظر آماری در سطح خطای  $P=0/05$  معنی دار نیست. به همین ترتیب، در گروه تیمار نیز نسبت به گروه شاهد میزان ترکیبات فنلی کل افزایش پیدا کرده است و این افزایش در *A. eburnea* معنی دار بوده و در *A. scoparia* فاقد معنی است.

نتایج حاصل از بررسی میزان اسیدهای فنلی موجود در بذر نشان داد که میزان این اسیدها در گونه *A. scoparia* در گروه شاهد نسبت به بذر خشک به شدت افزایش داشته است اما در گروه تیمار نسبت به گروه شاهد کاهش نشان داده است. در گونه *A. eburnea*، وضعیت متفاوت بوده و میزان اسیدهای فنلی در گروه شاهد نسبت به بذر خشک کاهش معنی داری با سطح خطای  $P=0/05$  نشان داده است و در گروه تیمار نسبت به گروه شاهد افزایش نشان داده است و به میزان اسیدهای فنلی موجود در بذر خشک نزدیک شده است (شکل ۴).

بررسی میزان ترکیبات فلاونوئیدی موجود در بذر خشک، گروه شاهد و همچنین گروه تیمار نشان داد که میزان این ترکیبات در هر دو گونه *A. scoparia* و *A. eburnea* در گروه شاهد نسبت به بذر خشک افزایش معنی داری در سطح خطای  $P=0/05$  نشان داده است و در گروه تیمار مغناطیسی نسبت به گروه شاهد کاهش معنی دار نشان داده است، اما هنوز هم از میزان ترکیبات فلاونوئیدی موجود در بذر خشک بیشتر است (شکل ۵).

بررسی های صورت گرفته بر روی سه گروه بذر خشک، شاهد و تیمار نشان داده است که در هر دو گونه *A. scoparia* و *A. eburnea*، میزان رنگیزه آنتوسیانین در گروه شاهد نسبت به بذر خشک کاهش معنی داری در سطح خطای  $P=0/05$  نشان داد ولی میزان این رنگیزه در گروه تیمار نسبت به هر دو گروه شاهد و بذر خشک افزایش معنی دار نشان داد (شکل ۶). میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی کل نیز در هر سه گروه بذر خشک، شاهد و تیمار مورد بررسی قرار گرفت. همانطور که

اسید استیک، ۵ حجم آب مقطر، ۱۱ حجم متانول سائیده شده تا محلول یکنواختی به دست آید. سپس در ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتیفوژ شد و سپس جذب محلول رویی در ۵۳۰ نانومتر خوانده شد (Hara et al., 2003).

**سنجش DPPH:** جهت سنجش ظرفیت آنتی اکسیدانی کل از آزمون DPPH (۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل) استفاده شد. بدین منظور، ۰/۱ گرم از بافت مورد نظر با ۱ میلی لیتر اتانول ۹۶٪ سائیده شد در ۳۵۰۰ دور به مدت ۵ دقیقه سانتیفوژ شد. سپس ۲۰ میکرولیتر از عصاره با ۸۰۰ میکرولیتر معرف DPPH محلول در اتانول مخلوط شده و نمونه ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند و در نهایت جذب نمونه ها در ۵۱۷ نانومتر قرائت شد (Khalaf et al., 2008). با استفاده از فرمول زیر ظرفیت آنتی اکسیدانی کل مورد سنجش قرار گرفت:

ظرفیت آنتی اکسیدانی کل

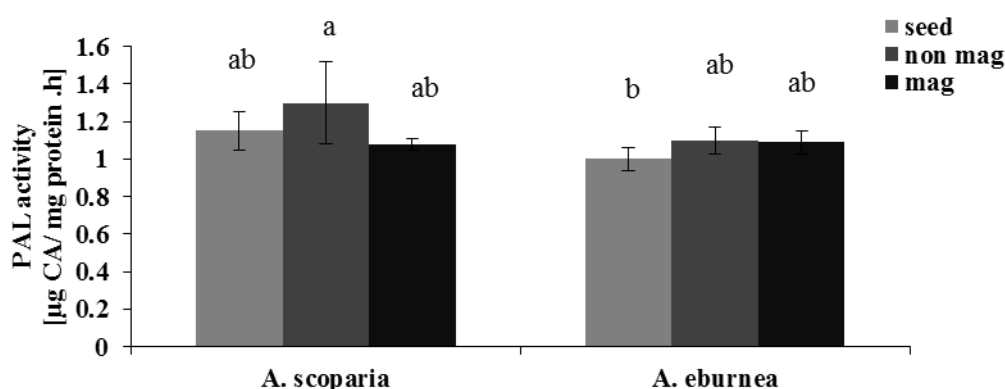
$100 \times \text{جذب شاهد} / (\text{جذب نمونه} - \text{جذب شاهد})$

**تحلیل های آماری:** در این تحقیق مقایسه تیمارها به کمک طرح کامل تصادفی صورت پذیرفت. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ و مقایسه میانگین داده ها توسط آزمون چند دامنه ای دانکن و در سطح ۱٪ انجام شد.

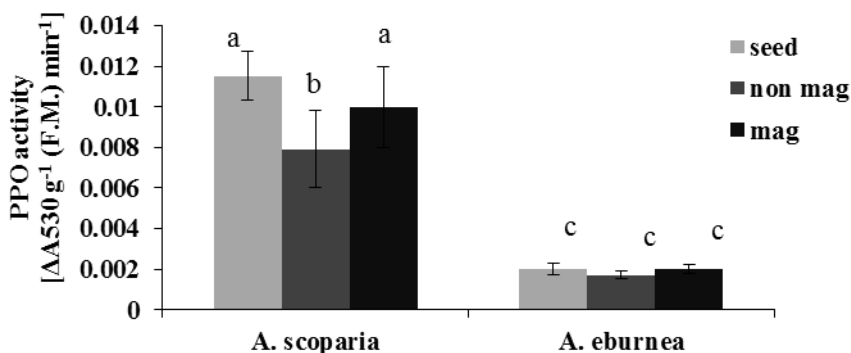
## نتایج

نتایج سنجش میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز (PAL) نشان داد که میزان این آنزیم در گروه شاهد نسبت به بذر خشک افزایش نشان داد، اما این افزایش در سطح خطای  $P=0/05$  معنی دار نبود. همچنین میزان این آنزیم در گروه شاهد و تیمار تغییرات معنی داری نشان نداد (شکل ۱).

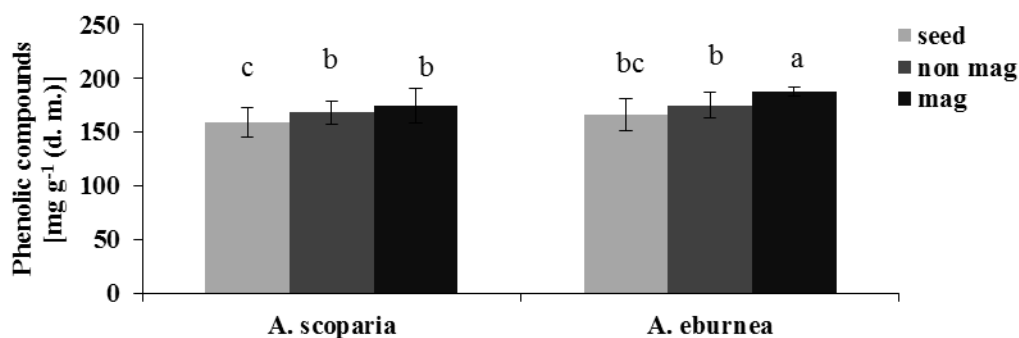
جهت سنجش آنزیم پلی فنل اکسیداز (PPO) از عصاره پروتئینی استفاده شد. نتایج به دست آمده از سنجش میزان این آنزیم نشان می دهد که میزان آن در پتری شاهد کمتر از بذر خشک است ولی در پتری های در معرض میدان مغناطیسی مقدار فعالیت آنزیم PPO نسبت به پتری شاهد افزایش یافته است. این افزایش در گونه *A. scoparia* در سطح خطای  $P=0/05$



شکل ۱- مقایسه فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز در گونه‌های *A. scoparia* و *A. eburnea* در بذر خشک (Seed)، بذر شاهد (Non mag) و بذر تیمار (mag). حروف غیر متشابه، تفاوت معنی‌دار بودن بین تیمارها در سطح خطای  $P=0/05$  را نشان می‌دهد.



شکل ۲- مقایسه فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در گونه‌های *A. scoparia* و *A. eburnea* در بذر خشک (Seed)، بذر شاهد (Non mag) و تیمار (mag). حروف غیر متشابه، تفاوت معنی‌دار بودن بین تیمارها در سطح خطای  $P=0/05$  را نشان می‌دهد.

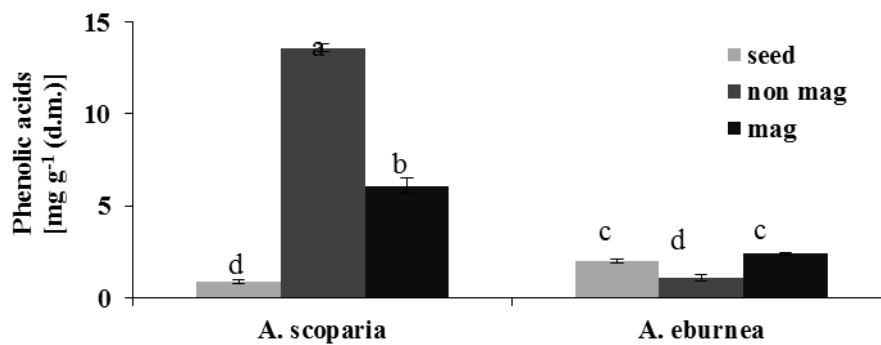


شکل ۳- مقایسه محتوای ترکیبات فنلی کل در گونه‌های *A. scoparia* و *A. eburnea* در بذر خشک (Seed)، بذر شاهد (Non mag) و تیمار (mag). حروف غیر متشابه، تفاوت معنی‌دار بودن بین تیمارها در سطح خطای  $P=0/05$  را نشان می‌دهد.

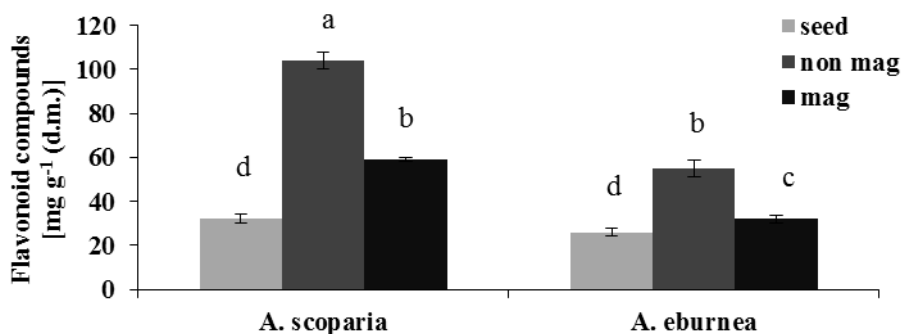
#### بحث

امواج مغناطیسی دارای اثرات متعددی بر روی انواع گونه‌های گیاهی هستند. در تحقیقات متعدد، تأثیر این امواج بر روی بذر برخی از گیاهان مورد بررسی قرار گرفته است (Piacentini et al., 2001; Yano et al., 2001; Yano et al., 2004; al., 2001). نتایج به

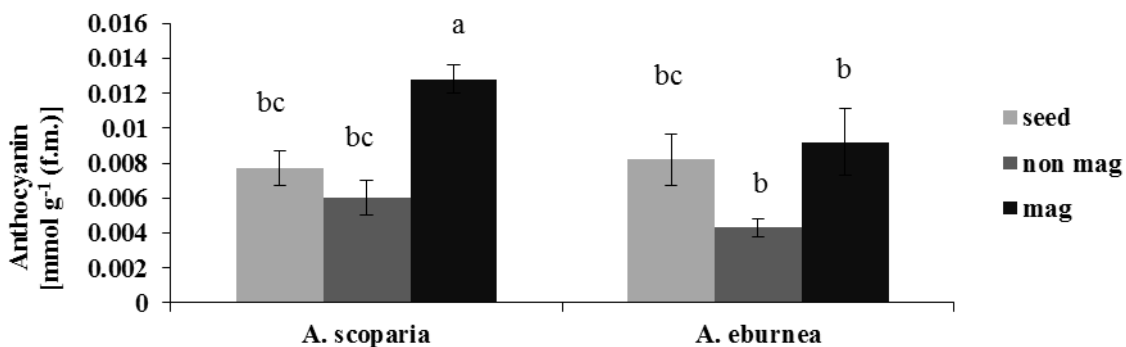
در شکل ۷ دیده می‌شود، در هر دو گونه *A. scoparia* و *A. eburnea* ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گروه شاهد نسبت به بذر خشک افزایش نشان داده است و در گروه تیمار نیز نسبت به گروه شاهد افزایش دیده می‌شود که این فزاینده‌گی در تمامی گروه‌های یاد شده در سطح خطای  $P=0/05$  معنی‌دار قلمداد شد.



شکل ۴- مقایسه محتوای اسیدهای فنلی در گونه‌های *A. scoparia* و *A. eburnea* در بذر خشک (Seed)، بذر شاهد (Non mag) و بذر تیمار (mag). حروف غیر متشابه، تفاوت معنی‌دار بودن بین تیمارها در سطح خطای  $P=0/05$  را نشان می‌دهد.



شکل ۵- مقایسه میزان ترکیبات فلاونوئیدی در گونه‌های *A. scoparia* و *A. eburnea* در بذر خشک (Seed)، بذر شاهد (Non mag) و تیمار (mag). حروف غیر متشابه، تفاوت معنی‌دار بودن بین تیمارها در سطح خطای  $P=0/05$  را نشان می‌دهد.

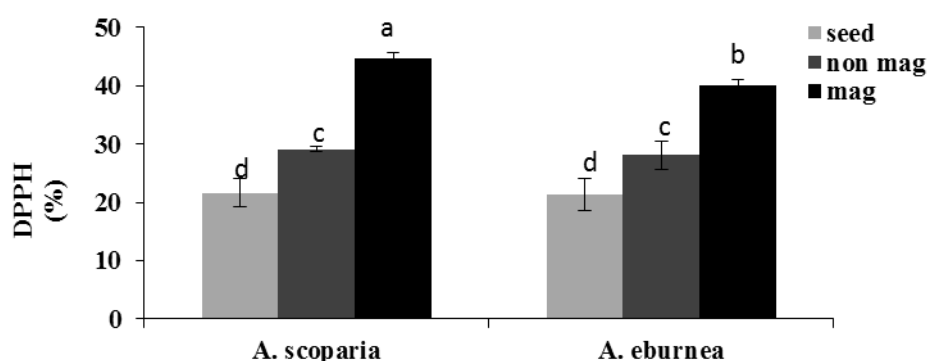


شکل ۶- مقایسه محتوای رنگیزه آنتوسیانین در گونه‌های *A. scoparia* و *A. eburnea* در بذر خشک (Seed)، بذر شاهد (Non mag) و تیمار (mag). حروف غیر متشابه، تفاوت معنی‌دار بودن بین تیمارها در سطح خطای  $P=0/05$  را نشان می‌دهد.

با شدت ۱۰ میلی تسلا سبب تحریک تولید آنزیم PPO در بذرهای گونه *A. scoparia* می‌شود. آنزیم PPO یک آنزیم حاوی مس می‌باشد که در تمام نهاندانگان یافت می‌شود. این آنزیم سبب اکسید شدن ترکیبات فنلی می‌شود و به این ترتیب باعث پیدایش رنگ قهوه‌ای در بافت گیاهی می‌شود (Mayer, 2006) و یک آنزیم دو عملکردی است که

دست آمده از پژوهش‌های پیشین حاکی از اثرات ضد و نقیض امواج مغناطیسی می‌باشد. بر طبق تحقیقات سایر پژوهشگران، به نظر می‌رسد نوع گونه گیاهی، شدت میدان مغناطیسی و مدت زمان تأثیر آن، در این رابطه بسیار مهم هستند (Belyavskaya, 2004).

در پژوهش حاضر نشان داده شد که میدان مغناطیسی ایستا



شکل ۷- مقایسه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در گونه‌های *A. scoparia* و *A. eburnea* در بذر خشک (Seed)، بذر شاهد (Non mag) و تیمار (mag). حروف غیر متشابه، تفاوت معنی‌دار بودن بین تیمارها در سطح خطای  $P=0/05$  را نشان می‌دهد.

*A. eburnea* افزایش و در گونه *A. scoparia* کاهش نشان داد. هر چند محتوای آنتوسیانین در هر دو گونه افزایش داشت. این مطلب نشان می‌دهد که کیفیت انواع ترکیبات فنلی افزایش یافته در گیاهان مختلف تحت تأثیر میدان مغناطیسی ایستا متفاوت است. افزایش میزان آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی در معرض میدان مغناطیسی ایستا در چندین پژوهش بر روی گیاهان، به اثبات رسیده است. به عنوان نمونه افزایش آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی از جمله کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز در گیاهان ذرت (Hajnorouzi et al., 2011)، تنباکو (Sahebamei et al., 2007) و چای (Ghanati et al., 2005) و آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی مثل ترکیبات فنولی در ریحان (Ghanati et al., 2007) و همچنین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در گیاه *Petroselinum* (Rajabbeigi et al., 2013) گزارش شده است. نتایج به دست آمده از این پژوهش نیز در توافق با نتایج پژوهش‌های پیشین می‌باشد. همچنین مشاهده شده است که تحت تأثیر میدان مغناطیسی و الکترومغناطیسی میزان رادیکال‌های آزاد از جمله آب اکسیژنه (Sobczak et al., 2002; Kula et al., 2002) در سلول‌ها افزایش می‌یابد. به عبارت دیگر به نظر می‌رسد که تحت تأثیر میدان مغناطیسی و الکترومغناطیسی سیستم دفاعی گیاه تحریک شده (Walleczek, 1992) و به این ترتیب تولید رادیکال‌های آزاد به عنوان مولکول‌های علامت‌رسان افزایش یافته و متعاقب آن سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی متعدد در سلول فعال می‌شوند که یک دسته از آنها ترکیبات فنلی می‌باشند.

اکسیداسیون O-دی‌فنل‌ها را به کوئینون‌ها انجام می‌دهد (Vogt, 2010). افزایش فعالیت این آنزیم در بذرهای تیمار دیده می‌تواند به علت تحریک سیستم دفاعی گیاه در جهت ساخت ترکیبات فنلی باشد. همانطور که در بخش نتایج مشاهده شد میزان ترکیبات فنلی کل در نمونه‌های تیمار نسبت به نمونه شاهد افزایش نشان داد که این امر به خصوص در گونه *A. scoparia* با افزایش میزان آنزیم PPO در توافق است. آنزیم PAL اولین آنزیم کلیدی ساخت ترکیبات فنلی است، که تبدیل L-فنیل‌آلانین به ترانس اسید سینامیک را در اوایل مسیر فنیل پروپانویید واسطه‌گری می‌کند. در واقع آنزیم PAL، شارش کربنی را از مسیر شیکیمات به مسیر فنیل پروپانویید هدایت می‌کند (MacDonald & D'Cunha, 2007). سپس ترنس اسید سینامیک توسط یک سلسله آنزیمی به انواع فنل‌ها تبدیل می‌شود. فعالیت این آنزیم در ۲۴ ساعت اولیه تنش زیاد است و سپس فعالیت آن کاهش می‌یابد و گاهی مقدار آن کمتر از شاهد نیز می‌شود زیرا فقط در مرحله اولیه تولید ترکیبات فنلی مداخله می‌کند و ترکیبات حدواسط تولید شده در روزهای آتی توسط سایر آنزیم‌ها به محصولات فنلی نهایی تبدیل می‌شوند (Anterola et al., 2002). عدم تفاوت چشمگیر در میزان فعالیت این آنزیم پس از ۴ روز در بذرهای بادام نیز می‌تواند به علت خاموشی زود هنگام آن باشد. میزان ترکیبات فلاونوییدی در هر دو گونه مورد آزمایش بادام کاهش نشان داد اما میزان اسیدهای فنلی در گونه



در یک نگاه کلی، می توان گفت که امواج مغناطیسی ایستا با شدت ۱۰ میلی تسلا سبب تحریک سیستم دفاعی گیاه بادام شده و به این ترتیب با تولید انواع ترکیبات فنلی و پیش-سازهای آنها به عنوان ترکیبات دفاعی، به ایمنی گیاه در برابر این تنش اکسیداتیو کمک می کند.

## منابع:

- Anterola, A. M., Jeon, J.-H., Davin, L. B., and Lewis, N. G. (2002) Transcriptional Control of Monolignol Biosynthesis in *Pinus taeda* factors affecting monolignol ratios and carbon allocation in phenylpropanoid metabolism. *Journal of Biological Chemistry* 277: 18272-18280.
- Belyavskaya, N. (2004) Biological effects due to weak magnetic field on plants. *Advances in space Research*, 34: 1566-1574.
- Bersani, F., Marinelli, F., Ognibene, A., Matteucci, A., Cecchi, S., Santi, S. and Maraldi, N. M. (1997) Intramembrane protein distribution in cell cultures is affected by 50 Hz pulsed magnetic fields. *Bioelectromagnetics* 18: 463-469.
- Camm, E. L., and Towers, G. N. (1973) Phenylalanine ammonia lyase. *Phytochemistry* 12(5), 961-973.
- Denisov, V. (1987). Almond genetic resources in the USSR and their use in production and breeding. *Fruit Breeding* 224: 299-306.
- Dibirdik, I., Kristupaitis, D., Kurosaki, T., Tuel-Ahlgren, L., Chu, A., Pond, D., and Uckun, F. M. (1998) Stimulation of Src family protein-tyrosine kinases as a proximal and mandatory step for SYK kinase-dependent phospholipase  $C\gamma 2$  activation in lymphoma B cells exposed to low energy electromagnetic fields. *Journal of Biological Chemistry* 273: 4035-4039.
- Ghanati, F., Abdolmaleki, P., Vaezzadeh, M., Rajabbeigi, E., and Yazdani, M. (2007) Application of magnetic field and iron in order to change medicinal products of *Ocimum basilicum*. *The Environmentalist* 27: 429-434.
- Ghanati, F., Morita, A., and Yokota, H. (2005). Effects of aluminum on the growth of tea plant and activation of antioxidant system. *Plant and Soil* 276: 133-141.
- Gradziel, T. M., and Kester, D. E. (1997) Breeding for self-fertility in California almond cultivars. Paper presented at the II International Symposium on Pistachios and Almonds 470.
- Grasselly, C. (1976) Les especes sauvages d'amandiers. *Options méditerranéennes*.
- 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: 1123-1128.
- Hara, M., Oki, K., Hoshino, K., and Kuboi, T. (2003) Enhancement of anthocyanin biosynthesis by sugar in radish (*Raphanus sativus*) hypocotyl. *Plant Science*, 164: 259-265.
- Hirota, N., Nakagawa, J., and Kitazawa, K. (1999) Effects of a magnetic field on the germination of plants. *Journal of applied physics* 85: 5717-5719.
- Kalinin, L., and Boshkova, I. (2003) Complex Systems Biophysics-Physical Model of the Response of the Plant Tissue to a Microwave Electromagnetic Field. *Biophysics* 48: 111-113.
- Khalaf, N. A., Shakya, A. K., Al-Othman, A., El-Agbar, Z., and Farah, H. (2008) Antioxidant activity of some common plants. *Turkish Journal of Biology* 32: 51-55.
- Khizhenkov, P., and Netsvetov, M. (2009) Influence of low-intensity physical factors on plant growth indices: 1. Alternating magnetic fields and salt solutions. *Surface Engineering and Applied Electrochemistry* 45: 153-156.
- Kula, B., Sobczak, A., and Kuska, R. (2002) Effects of Electromagnetic Field on Free-Radical Processes in Steelworkers. Part I: Magnetic Field Influence on the Antioxidant Activity in Red Blood Cells and Plasma. *Journal of Occupational Health* 44: 226-229.
- Lyle, D. B., Fuchs, T. A., Casamento, J. P., Davis, C. C., and Swicord, M. L. (1997) Intracellular calcium signaling by jurkat T-lymphocytes exposed to a 60 hz magnetic field. *Bioelectromagnetics* 18: 439-445.
- Lyle, D. B., Wang, X., Ayotte, R. D., Sheppard, A. R., and Adey, W. R. (1991) Calcium uptake by leukemic and normal T-lymphocytes exposed to low frequency magnetic fields. *Bioelectromagnetics* 12: 145-156.
- MacDonald, M. J., and D'Cunha, G. B. (2007) A modern view of phenylalanine ammonia lyase. *Biochemistry and Cell Biology*, 85: 273-282.
- Matkowski, A., Zielińska, S., Oszmiański, J., and Lamer-Zarawska, E. (2008) Antioxidant activity of extracts from leaves and roots of *Salvia miltiorrhiza* Bunge, *S. przewalskii* Maxim., and *S. verticillata* L. *Bioresource Technology* 99: 7892-7896.
- Mayer, A. M. (2006) Polyphenol oxidases in plants and fungi: going places? A review. *Phytochemistry*, 67: 2318-2331.
- Piacentini, M. P., Fraternali, D., Piatti, E., Ricci, D., Vetrano, F., Dachà, M., and Accorsi, A. (2001) Senescence delay and change of antioxidant enzyme levels in *Cucumis sativus* L. etiolated seedlings by ELF magnetic fields. *Plant Science* 161: 45-53.

- Pourmorad, F., Hosseinimehr, S., and Shahabimajd, N. (2006) Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African journal of biotechnology*, 5(11).
- Rajabbeigi, E., Ghanati, F., Abdolmaleki, P., and Payez, A. (2013) Antioxidant capacity of parsley cells (*Petroselinum crispum* L.) in relation to iron-induced ferritin levels and static magnetic field. *Electromagnetic biology and medicine*, 32: 430-441.
- Rakosy Tican, L., Aurori, C., and Morariu, V. (2005) Influence of near null magnetic field on in vitro growth of potato and wild *Solanum* species. *Bioelectromagnetics*, 26: 548-557.
- Ranganna, S. (1986). *Handbook of analysis and quality control for fruit and vegetable products*: Tata McGraw-Hill Education.
- Raymond, J., Rakariyatham, N., and Azanza, J. (1993) Purification and some properties of polyphenoloxidase from sunflower seeds. *Phytochemistry*, 34: 927-931.
- Sahebjamei, H., Abdolmaleki, P., and Ghanati, F. (2007) Effects of magnetic field on the antioxidant enzyme activities of suspension cultured tobacco cells. *Bioelectromagnetics*, 28: 42-47.
- Sobczak, A., Kula, B., and Danch, A. (2002) Effects of Electromagnetic Field on Free-Radical Processes in Steelworkers. Part II: Magnetic Field Influence on Vitamin A, E and Selenium Concentrations in Plasma. *Journal of Occupational Health*, 44: 230-233.
- Uckun, F. M., Kurosaki, T., Jin, J., Jun, X., Morgan, A., Takata, M., and Luben, R. (1995) Exposure of B-lineage lymphoid cells to low energy electromagnetic fields stimulates Lyn kinase. *Journal of Biological Chemistry*, 270: 27666-27670.
- Vashisth, A., and 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: 149-156.
- Vogt, T. (2010) Phenylpropanoid biosynthesis. *Mol Plant*, 3(1), 2-20. doi: 10.1093/mp/ssp106
- Walleczek, J. (1992) Electromagnetic field effects on cells of the immune system: the role of calcium signaling. *The FASEB Journal*, 6: 3177-3185.
- Watkins, R. (1976) Cherry, plum, peach, apricot and almond: *Prunus* spp.(Rosaceae). *Evolution of Crop Plants*. NW Simmonds, ed.
- Weisenseel, M. H., Dorn, A., and Jaffe, L. F. (1979) Natural H<sup>+</sup> currents traverse growing roots and root hairs of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant physiology* 64: 512-518.
- Yano, A., Hidaka, E., Fujiwara, K., and Iimoto, M. (2001) Induction of primary root curvature in radish seedlings in a static magnetic field. *Bioelectromagnetics* 22: 194-199.
- Yano, A., Ohashi, Y., Hirasaki, T., and Fujiwara, K. (2004) Effects of a 60 Hz magnetic field on photosynthetic CO<sub>2</sub> uptake and early growth of radish seedlings. *Bioelectromagnetics* 25: 572-581.