

تأثیر پیش تیمار میدان مغناطیسی بر رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه دان‌سیاه (*Guizotia abyssinica* (L.F) Cass) تحت شرایط تنش خشکی

سمانه حسینی، محمد رفیعی‌الحسینی* و پرتو روشندل

گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۰۸، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۰۵/۱۴)

چکیده

به منظور بهبود رشد گیاه دان‌سیاه (*Guizotia abyssinica* (L.F) Cass) تحت تنش خشکی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار بر روی بذرهاى این گیاه در گلخانه پژوهشی دانشگاه شهرکرد در سال ۱۳۹۴ انجام شد. فاکتور اول شدت‌های مختلف میدان مغناطیسی شامل: صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌تسلا (در مدت زمان پنج دقیقه) بعنوان پیش تیمار فیزیکی و فاکتور دوم تنش خشکی (۲، ۴ و ۶ روز دور آبیاری) بود. نتایج نشان داد که اثرات متقابل سطوح مختلف شدت میدان مغناطیسی و تنش خشکی بر تمام صفات مورد بررسی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار گردید. کمترین میزان نشت الکترولیتی غشاء و بیشترین فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز و محتوای نسبی آب برگ در شدت میدان ۲۰۰ میلی‌تسلا تحت دور آبیاری ۲ روز مشاهده شد. بیشترین فعالیت کاتالاز در شدت میدان ۱۰۰ میلی‌تسلا تحت دور آبیاری ۴ روز و بیشترین میزان وزن خشک برگ و حجم ریشه در شدت میدان ۱۰۰ میلی‌تسلا تحت دور آبیاری ۲ روز حاصل شد. بیشترین وزن خشک گل و ریشه در شدت میدان ۱۵۰ میلی‌تسلا تحت دور آبیاری ۲ روز مشاهده گردید. اکثر صفات مورد بررسی با افزایش دور آبیاری در شدت‌های مختلف میدان مغناطیسی روند کاهشی را نشان دادند. به طور کلی، برای شرایط تنش خشکی (دور آبیاری ۴ و ۶ روز)، شدت میدان ۱۰۰ میلی‌تسلا مؤثرترین شدت جهت بهبود و افزایش کارایی صفات بودند.

کلمات کلیدی: آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، گایاکول پراکسیداز، محتوای نسبی آب برگ، نشت الکترولیتی غشاء

مقدمه

مواد غذایی منتقل می‌شود (Nelson, 1999). مطالعات جمع آوری شده در طول سال‌ها بر اهمیت میدان مغناطیسی به عنوان یک جایگزین مطمئن مورد استفاده برای بهبود محصولات کشاورزی تأکید دارد. مهم‌ترین کاربردهای یک میدان مغناطیسی تیمارهای آب آبیاری، تیمار بذر خشک، بذرهاى مرطوب و نهال است. همچنین مطالعات محققان، روی استفاده از میدان مغناطیسی در

الکتروسیته، مغناطیس، نور تکرنگ و صدا می‌تواند رشد گیاهان را تحت تأثیر قرار دهد، این فناوری کشت الکتریکی نامیده می‌شود. کشت الکتریکی گیاهان را از بیماری‌ها، حشرات و یخبندان حفظ می‌کند و کشاورزان می‌توانند محصول را در مدت زمان کمتری با کار و تلاش کمتر و هزینه پائین‌تر تولید کنند. انرژی حاصل از این موارد به بذرها، گیاهان، خاک، آب و

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: m_rafee_1999@yahoo.com

Asrar و Elhindi (۲۰۱۱) نشان دادند که تنش خشکی موجب کاهش وزن خشک ساقه و گل در گل همیشه بهار شد. علاوه بر این، بیان شده است تنش خشکی موجب کاهش تعداد برگ و کاهش آماس در گیاهان (Farooq *et al.*, 2010) و افزایش آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و کاتالاز می‌شود. در این راستا، افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز در برگ دو جنس انجیر (*Ficus carica*) با نام‌های شاه انجیر و خرمایی تحت تنش خشکی گزارش شده است (Rostami and Rahemi, 2013).

کاتالاز و گایاکول پراکسیداز آنزیم‌های حاوی یون‌های آهن می‌باشد و برای زدودن پراکسید هیدروژن تولید شده توسط سوخت و ساز طبیعی و یا تحت شرایط استرس وارد عمل می‌شوند (Karupandapandian *et al.*, 2011). آسکوربات پراکسیداز سمیت پراکسیدها (مثل پراکسید هیدروژن) را با استفاده از سوبسترای آسکوربات برطرف می‌کند. در این فرآیند انتقال الکترون‌ها از آسکوربات به پراکسید کاتالیز و دهیدروآسکوربات و آب را به عنوان محصول نهایی تولید می‌شود (Narwal *et al.*, 2009).

دان‌سیاه (*Guizotia abyssinica*) متعلق به خانواده کاسنی (Asteraceae) و گیاه مناطق استوایی است. در اتیوپی در درجه حرارت معتدل بین ۲۳-۱۵ °C در طول فصل و عمدتاً در مناطقی با ارتفاع متوسط و کوهستانی (۲۲۰۰-۱۶۰۰ متر از سطح دریا) رشد می‌کند. همچنین در ارتفاعات پایین‌تر (۶۰۰-۵۰۰ متر از سطح دریا) و بالاتر (۲۹۸۰-۲۵۰۰ متر از سطح دریا) که دارای بارندگی کافی باشد کشت می‌شود. بذر دان‌سیاه دارای ۲۷-۵۰ درصد روغن است که از آن در درمان روماتیسم، سوختگی و جرب و جانشینی برای روغن زیتون و از کنجاله آن در تعلیف دام استفاده می‌شود. اندام رویشی گیاه به عنوان علوفه دام و کود سبز برای حاصلخیزی مزارع مورد مصرف قرار می‌گیرد (دوازده امامی و واتقی، ۱۳۸۸).

پژوهش حاضر با هدف کاستن اثرات مضر مواد شیمیایی و بررسی تأثیر میدان مغناطیسی برای بهبود شرایط تنش خشکی بر برخی پارامترهای رشدی و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی

شدت‌ها و مدت زمان‌های متفاوت است. اثر میدان مغناطیسی بسته به گونه گیاهی، سن قرار گرفتن در میدان و همچنین شدت و مدت زمان مواجهه با آن متفاوت است. Wadas (۱۹۹۱) بیان داشت که میدان مغناطیسی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌ها و تسریع سوخت و ساز در آنها می‌شود. افزایش فعالیت آنزیم تحت میدان مغناطیسی در موجودات از جمله جانوران مشاهده شده است. بنابراین می‌تواند به‌عنوان یک قانده کلی از طبیعت در نظر گرفته شود (Pietruszewsk and Martinez, 2015). میدان مغناطیسی ۲۰۰ میلی‌تسلا و ۱۰۰ میلی‌تسلا برای ۲ ساعت روی بذر ذرت رشد، میزان آب برگ، سرعت فتوسنتز را افزایش داد (Anand *et al.*, 2012).

خشکی متداول‌ترین تنش محیطی است که مانع از تظاهر کامل پتانسیل ژنتیکی گیاهان زراعی می‌شود و از این رو موجب کاهش تولیدات کشاورزی می‌گردد. در مقاومت به خشکی سه مکانیزم دخالت دارند که عبارتند از فرار از خشکی، اجتناب از خشکی و تحمل به خشکی. صفات مختلف مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی باعث ایجاد مقاومت به خشکی می‌شوند (اشرفی و طالبی، ۱۳۹۱). تنش خشکی هدایت چرخه کالوین را کاهش داده و یا مختل می‌کند. هر دوی این مکانیسم باعث کاهش در بازسازی نیکوتین آمید دی نوکلئوتید فسفات (NADP) می‌شود، در نتیجه موجب تولید بیش از حد الکترون در زنجیره انتقال الکترون و نشت الکترون به مولکول اکسیژن می‌شود (Bhattacharjee, 2005) و نهایتاً تنش اکسیداتیو رخ می‌دهد.

گیاهان جهت کاهش تنش اکسیداتیو و رشد و نمو طبیعی تحت شرایط تنش خشکی، فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی خود را افزایش می‌دهند. در گیاهان سیستم آنتی اکسیدانی شامل دو نوع آنزیمی و غیرآنزیمی است. از متابولیت‌های آنتی اکسیدانی غیرآنزیمی می‌توان از بتا کاروتن، آلفا توکوفرول، آسکوربات و کاهنده گلوکاتیون نام برد. آنتی اکسیدانهای آنزیمی نیز عبارتند از سوپر دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) گایاکول پراکسیداز (POX)، گلوکاتیون ردوکتاز (GR)، آسکوربات پراکسیداز (APX) (Farooq *et al.*, 2012).

گیاه دان‌سیاه به اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر میدان مغناطیسی بر برخی پارامترهای مورفولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دان‌سیاه تحت شرایط تنش خشکی، آزمایش فاکتوریل 5×3 در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۴ در گلخانه پژوهشی دانشگاه شهرکرد (در محدوده دمایی 25 ± 2 در طول آزمایش) اجرا شد. بذرهاى دان‌سیاه در دانشگاه شهرکرد با طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۵۱ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۲۰ دقیقه شمالی و ارتفاع $2016/4$ متر از سطح دریا در بخش مرکزی رشته کوه‌های زاگرس جمع‌آوری شد.

میدان مغناطیسی با ۵ شدت میدان (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌تسلا) در مدت زمان ۵ دقیقه به عنوان پیش تیمار فیزیکی با استفاده از دستگاه مولد میدان مغناطیسی (سیم پیچ هلمهولتز با سیم مسی روکشدار ۴۰۰۰ دور ساخت آلمان با فاصله ۵ میلی‌متر بین دو سیم پیچ و مدل تسلا متر PHYWE و جریان برق DC) بر روی بذرها اعمال شد (شکل ۱).

سپس بذرها با استفاده از الکال ۷۰ درصد به مدت ۱۰ ثانیه و محلول ۱۰ درصد هیپوکلریت سدیم به مدت ۵ دقیقه ضدعفونی و پس از سه بار شستشو با آب مقطر استریل شد. سپس ۱۴ عدد بذر در گلدان‌هایی با قطر ۲۵ و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر، حاوی ۵ کیلوگرم خاک، در عمق $1/5$ سانتی‌متری از سطح خاک در هر گلدان کشت داده شد (جدول ۱). بعد از استقرار گیاهان در مرحله ۶ برگی تعداد گیاهان به ۶ عدد در هر گلدان تنک گردید و تیمار تنش خشکی در سه سطح دور آبیاری (۲، ۴ و ۶ روز) تا ۶۰ روزگی بر گیاهان اعمال شد.

برای تعیین میزان آب آبیاری تیمارها، ابتدا نقاط پتانسیلی مهم (FC و PWP) با استفاده از آزمون خاک به دست آمد، سپس با استفاده از رابطه زیر حد پایینی رطوبت سهل الوصول مشخص گردید (فرشی و همکاران، ۱۳۸۲).

$$\Theta_{MAD} = \Theta_{FC} - (\Theta_{FC} - \Theta_{PWP}) \cdot MAD$$

Θ_{FC} : رطوبت حجمی در ظرفیت زراعی مزرعه (درصد)،

Θ_{PWP} : رطوبت حجمی در نقطه پژمردگی دائم (درصد)،

MAD: ضریب تخلیه مجاز

سپس برای تعیین عمق آبیاری و اعمال حجم آب مورد نیاز برای هر دور آبیاری، رطوبت خاک با استفاده از دستگاه رطوبت سنج لترون اندازه‌گیری شد. عمق آبیاری و حجم آب آبیاری بر اساس کمبود رطوبت خاک به ترتیب مطابق روابط زیر محاسبه و اعمال شد.

$$d = (\Theta_{FC} - \Theta_{soil}) \cdot D$$

d: عمق آب مورد نیاز (متر)، D: عمق موثر ریشه گیاه (متر)

$$V = d \times A \times 100$$

V: حجم آب آبیاری (سانتی‌متر مکعب)، A: مساحت سطح گلدان (سانتی‌متر مربع)

اندازه‌گیری وزن خشک برگ، ساقه، گل و ریشه: ابتدا

دو عدد از گیاهان هر گلدان کاملاً از خاک بیرون آورده و سپس اجزای مورد بررسی از هم جدا گردید و در دمای $72^\circ C$ به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد. وزن خشک هر یک از قسمت‌های مختلف جداگانه با ترازوی دیجیتال با دقت $0/001$ گرم اندازه‌گیری شد و میانگین وزن دو گیاه بعنوان داده‌های اولیه مورد آنالیز قرار گرفت.

قطر ساقه: قطر ساقه دو عدد از گیاهان هر تیمار از محل

طوقه با دستگاه کولیس دیجیتال اندازه‌گیری شد و میانگین قطر دو گیاه بعنوان داده‌های اولیه مورد آنالیز قرار گرفت.

حجم ریشه: پس از شستشوی کامل ریشه‌ها طبق قانون

ارشمیدس از تغییر حجم آب در ظروف مدرج پس از وارد کردن ریشه‌های شسته شده به داخل آن محاسبه گردید.

اندازه‌گیری نشت الکترولیتی غشاء: قطعه برگگی به وزن

$0/2$ گرم در ظرف شیشه‌ای درپوش‌دار حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب

دیونیزه به مدت ۳ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در

حمام آب گرم قرار داده و سپس نشت الکترولیتی نمونه با

استفاده از دستگاه هدایت‌سنج الکتریکی اندازه‌گیری شد (C_1).

مجدداً نمونه‌ها به مدت ۲ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد

در حمام آب گرم قرار داده و پس از سرد شدن نمونه‌ها، برای

بار دوم هدایت الکتریکی آنها اندازه‌گیری شد (C_2). سپس

درصد نشت الکترولیتی غشاء مطابق فرمول زیر محاسبه شد

(Dionisio-Sese and Tobita, 1998):



شکل ۱- سیم پیچ هلم هولتز ساخت آلمان

جدول ۱- خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک مورد استفاده

بافت خاک	رس	سیلت	ریت	آهن	منگنز	روی	مس	پتاسیم	فسفر	کربن آلی	ازت کل	اسیدیته کل اشباع	هدایت الکتریکی
	%			mg/kg						%		pH	dS/m
لومی رسی	۳۹	۴۰	۲۱	۶/۶۴	۸/۲۲	۰/۵۴	۱/۵۴	۴۵۰	۱۶۷	۰/۶۲	۰/۰۶	۷/۷	۰/۵

بعد از قرار گرفتن در آب مقطر

استخراج عصاره پروتئینی از نمونه برگ: ۰/۱ گرم از بافت تازه برگ درون هاون چینی با استفاده از ازت مایع به صورت پودر نرمی ساییده شد. سپس ۱ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار (pH ۶) به آن اضافه و به خوبی مخلوط گردید. عصاره حاصل به اپندروف ۲ میلی لیتری منتقل و به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور بر دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد، سانتریفوژ و روششست به عنوان عصاره پروتئینی جدا شد. کل مراحل استخراج در دمای کمتر از چهار درجه سانتی گراد انجام و عصاره حاصل در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد (Stoll and Blanchard, 1990).

ارزیابی میزان کل پروتئین محلول عصاره: به منظور ارزیابی کل پروتئین محلول از روش برادفورد (Bradford, 1976) استفاده شد. بدین منظور پنج میکرولیتر از عصاره پروتئینی مورد نظر به سه میلی لیتر معرف برادفورد در لوله

$$EC = [(C_1/C_2) \times 100]$$

C1: هدایت الکتریکی محلول قبل از جوشاندن، C2: هدایت الکتریکی محلول بعد از جوشاندن

محتوای نسبی آب برگ (RWC): جوانترین برگ توسعه یافته از هر تیمار جدا و بلافاصله توزین شد. سپس تمامی نمونه‌ها در آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت در در دمای ۴ درجه سانتی گراد قرار گرفتند، بعد از ۲۴ ساعت وزن اشباع برگ‌ها اندازه‌گیری شد و برگ‌ها به مدت ۲۴ ساعت دیگر در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد در آون قرار گرفتند و وزن خشک هر کدام اندازه‌گیری شد. با قرار دادن اعداد حاصل از توزین با ترازوی دارای دقت ۰/۰۰۱ در فرمول زیر RWC محاسبه شد (Ritchie and, 1990).

$$RWC = (F_w - D_w / S_w - D_w) \times 100$$

F_w: وزن تر برگ بلافاصله بعد از نمونه برداری، D_w: وزن خشک برگ بعد از قرار گرفتن در آون، S_w: وزن اشباع برگ

هیدروژن ۲۶۴ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره با هم مخلوط گردید و جذب این مخلوط در طول موج ۲۴۰ نانومتر در مدت زمان ۱۰۰ ثانیه با فاز تأخیری ۵ ثانیه ثبت گردید. سپس فعالیت کاتالاز براساس فرمول زیر محاسبه شد (Narwal et al, 2009).

$$\text{CAT} (\text{mmol}_{\text{H}_2\text{O}_2} \text{ minute}^{-1} \text{mg}_{\text{protein}}^{-1}) = \frac{(\Delta A_{240} / \Delta t) V_{\text{mix}}}{\epsilon d \text{PV}_{\text{extr}}}$$

ΔA : میزان جذب، Δt : زمان واکنش (دقیقه)، V_{mix} : حجم نهایی واکنش (لیتر)، ϵ : ضریب خاموشی H_2O_2 (مولار) در ۲۴۰ نانومتر که برابر است با $4.0 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ، d : عرض کوت (سانتی‌متر)، V_{extr} : حجم عصاره مورد استفاده در آزمایش (میلی‌لیتر)، P : غلظت پروتئین کل در نمونه (mg ml^{-1}).

سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز: برای سنجش فعالیت گایاکول پراکسیداز در بخش هوایی، ابتدا محلول ۰/۱ مولار فسفات پتاسیم (۶ pH)، محلول ۴۴ میلی‌مولار H_2O_2 و ۴۵ میلی‌مولار گایاکول تهیه شد. سپس مخلوط واکنش بصورت زیر تهیه گردید:

۱۳۵۰ میکرولیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار، ۵۰۰ میکرولیتر H_2O_2 ۴۴ میلی‌مولار، ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول ۴۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره گیاه با یکدیگر مخلوط گردید و جذب مخلوط واکنش در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۳۰۰ ثانیه با فاز تأخیری ۱۰ ثانیه ثبت گردید. سپس فعالیت گایاکول پراکسیداز براساس فرمول زیر محاسبه شد (Narwal et al, 2009):

$$\text{POX} (\text{mmol}_{\text{tetraquaiacol}} \text{ minute}^{-1} \text{mg}_{\text{protein}}^{-1}) = \frac{(\Delta A_{470} / \Delta t) V_{\text{mix}}}{\epsilon d \text{PV}_{\text{extr}}}$$

ΔA : میزان جذب، Δt : مدت زمان واکنش (دقیقه)، V_{mix} : حجم نهایی مخلوط واکنش (لیتر)، ϵ : ضریب خاموشی اکسید شدن گایاکول در ۴۷۰ نانومتر ($2.67 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)، d : عرض کوت (سانتی‌متر)، V_{extr} : حجم عصاره نمونه مورد استفاده در آزمایش (میلی‌لیتر)، P : غلظت پروتئین کل در عصاره نمونه (mg ml^{-1}).

آنالیز آماری: آنالیز آماری داده‌ها با نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد و رسم نمودارها نیز با استفاده از برنامه Excel انجام شد.

آزمایش در سه تکرار اضافه شد و پس از اختلاط کامل، بلافاصله میزان جذب نور در طول موج حداکثر ۵۹۵ نانومتر (محدوده طول موج نور مرئی) با دستگاه اسپکتروفتومتری قرائت شد. سپس میانگین قرائت‌های جذب نور عصاره محاسبه و به کمک منحنی استاندارد، مقدار کل پروتئین محلول هر نمونه گیاهی به صورت میلی‌گرم پروتئین اسید گالیک در هر گرم بافت تازه محاسبه گردید.

سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیداز در اندام هوایی:

برای سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیداز در بخش هوایی، ابتدا محلول ۰/۱ مولار فسفات پتاسیم (۷ pH)، محلول ۱/۲ میلی‌مولار Na_2EDTA ، محلول ۳۵ میلی‌مولار H_2O_2 و ۱۵ میلی‌مولار L-Ascorbic acid آماده شد. سپس مخلوط واکنش بصورت زیر تهیه گردید:

۲۴۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (۷ pH)، ۲۵۰ میکرولیتر محلول Na_2EDTA ۱/۲ میلی‌مولار، ۵۰ میکرولیتر محلول H_2O_2 ۳۵ میلی‌مولار، ۱۰۰ میکرولیتر آسکوربیک اسید ۱۵ میلی‌مولار و ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره پروتئینی با یکدیگر مخلوط گردید و جذب مخلوط واکنش در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت ۵۰۰ ثانیه با فاز تأخیری ۱۰ ثانیه ثبت گردید. سپس فعالیت آسکوربات پراکسیداز براساس فرمول زیر محاسبه شد (Narwal et al, 2009).

$$\text{APX} (\text{mmol}_{\text{vitc}} \text{ minute}^{-1} \text{mg}_{\text{protein}}^{-1}) = \frac{(\Delta A_{290} / \Delta t) V_{\text{mix}}}{\epsilon d \text{PV}_{\text{extr}}}$$

ΔA : میزان جذب نمونه، Δt : مدت زمان واکنش (دقیقه)، V_{mix} : حجم نهایی واکنش (لیتر)، ϵ : ضریب خاموشی اسید آسکوربیک (مولار) در ۲۹۰ نانومتر برابر است با $1 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ، d : عرض کوت (سانتی‌متر)، V_{extr} : حجم عصاره نمونه مورد استفاده در آزمایش (میلی‌لیتر)، P : غلظت پروتئین کل در عصاره نمونه (mg ml^{-1}).

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ:

سنجش فعالیت کاتالاز در برگ، ابتدا محلول ۰/۱ مولار فسفات پتاسیم (۷ pH) و محلول H_2O_2 با غلظت ۲۴۶ میلی‌مولار آماده شد. سپس مخلوط واکنش به صورت زیر تهیه گردید:

۱۹۵۰ میکرولیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار، ۱۰۰ میکرولیتر پراکسید

نتایج و بحث

وزن خشک برگ: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که سطوح مختلف شدت میدان مغناطیسی، تنش خشکی (دور آبیاری) و اثرات متقابل آنها در سطح احتمال ۱ درصد بر وزن خشک برگ معنی‌دار شد (جدول ۲). مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که شدت میدان ۱۰۰ میلی‌تسلا تحت دور آبیاری ۲ روز بیشترین و شدت میدان ۲۰۰ میلی‌تسلا تحت دور آبیاری ۴ روز کمترین وزن خشک برگ را در بین تیمارها به خود اختصاص داد (شکل ۲a). با افزایش دور آبیاری از ۲ به ۴ روز در شدت میدان‌های صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌تسلا از میزان وزن خشک برگ کاسته و از ۴ به ۶ روز بر میزان آن افزوده شد، این در حالی است که با افزایش دور آبیاری در شدت میدان‌های ۵۰ و ۱۵۰ میلی‌تسلا وزن خشک برگ روند کاهشی را نشان داد. برای دور آبیاری ۲ روز بیشترین وزن خشک برگ در شدت میدان ۱۰۰ میلی‌تسلا حاصل شد در حالی‌که برای دور آبیاری ۴ و ۶ روز بیشترین وزن خشک برگ به ترتیب در شدت میدان‌های ۱۵۰ و ۱۰۰ میلی‌تسلا حاصل شد.

وزن خشک ساقه: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که سطوح مختلف شدت میدان مغناطیسی و تنش خشکی در سطح احتمال ۱ درصد و اثرات متقابل آنها در سطح احتمال ۵ درصد بر وزن خشک ساقه موثر واقع شد (جدول ۲). مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که شدت میدان ۲۰۰ میلی‌تسلا تحت دور آبیاری ۲ روز بیشترین وزن خشک ساقه را به خود اختصاص داد این در حالی است که کمترین وزن خشک ساقه در شدت میدان ۵۰ میلی‌تسلا تحت دور آبیاری ۶ روز حاصل شد (شکل ۲b). با افزایش دور آبیاری در تمام شدت‌های میدان مغناطیسی از میزان وزن خشک ساقه کاسته شد. برای دور آبیاری ۲ روز بیشترین وزن خشک ساقه در شدت میدان ۲۰۰ میلی‌تسلا حاصل شد در حالی‌که برای دور آبیاری ۴ و ۶ روز، شدت‌های میدان مغناطیسی تاثیر بهبود دهنده‌ای را بر وزن خشک ساقه نشان ندادند.

وزن خشک گل: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که سطوح مختلف شدت میدان مغناطیسی، تنش خشکی و اثرات متقابل

آنها در سطح احتمال ۱ درصد بر وزن خشک گل موثر واقع شد (جدول ۲). مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که شدت میدان ۱۵۰ میلی‌تسلا تحت دور آبیاری ۲ و ۴ روز بیشترین و تیمار شدت میدان ۲۰۰ میلی‌تسلا تحت دور آبیاری ۶ روز کمترین میزان وزن خشک ساقه را به خود اختصاص دادند (شکل ۳a). با افزایش دور آبیاری در شدت میدان‌های صفر، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌تسلا وزن خشک گل روند کاهشی را نشان داد در حالیکه برای شدت میدان‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌تسلا روند خاصی مشاهده نشد. برای دور آبیاری ۲ روز بیشترین وزن خشک گل در شدت میدان ۱۵۰ میلی‌تسلا حاصل شد در حالیکه برای دور آبیاری ۴ و ۶ روز بیشترین میزان وزن خشک گل در شدت میدان‌های ۱۵۰ و ۱۰۰ میلی‌تسلا مشاهده گردید.

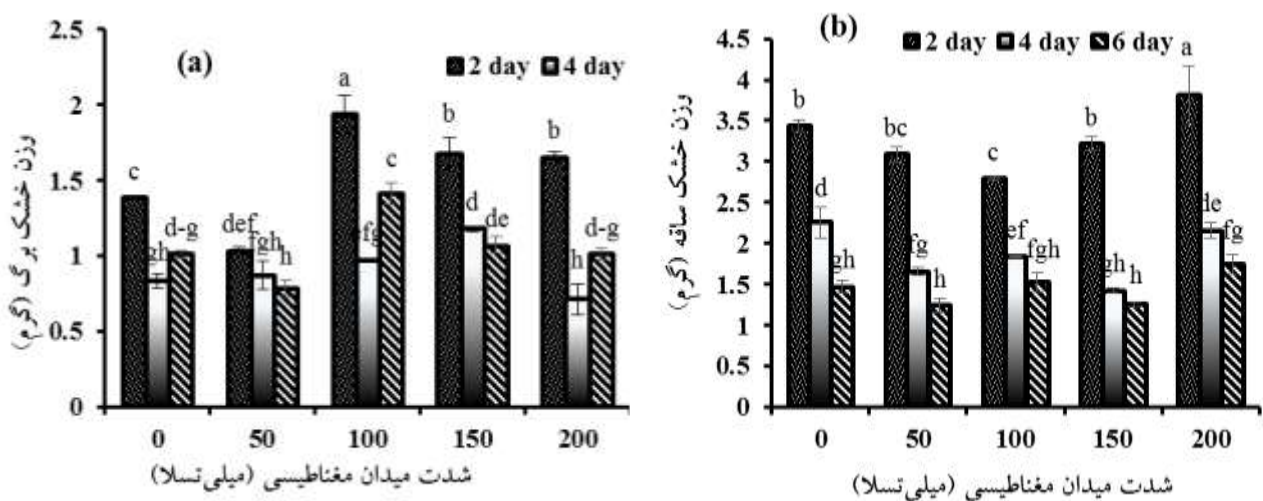
وزن خشک ریشه: براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس، سطوح مختلف شدت میدان مغناطیسی، تنش خشکی و اثرات متقابل آنها در سطح احتمال ۱ درصد تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک ریشه داشتند (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که شدت میدان ۱۵۰ میلی‌تسلا تحت دور آبیاری ۲ روز بیشترین و شدت میدان ۵۰ میلی‌تسلا تحت دور آبیاری ۶ روز کمترین میزان وزن خشک ریشه را نشان دادند (شکل ۳b). به طور کلی با افزایش دور آبیاری در شدت‌های مختلف میدان مغناطیسی وزن خشک ریشه روند کاهشی را نشان داد. برای دور آبیاری ۲ روز بیشترین وزن خشک ریشه در شدت میدان ۱۵۰ میلی‌تسلا مشاهده گردید در حالیکه برای دور آبیاری ۴ و ۶ روز بیشترین وزن خشک ریشه در شدت میدان‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌تسلا حاصل شد.

قطر ساقه: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که فاکتور شدت میدان مغناطیسی بر قطر ساقه تأثیر معنی‌داری نداشت این در حالی است که سطوح مختلف تنش خشکی در سطح احتمال ۱ درصد و اثرات متقابل شدت میدان مغناطیسی و تنش خشکی در سطح احتمال ۵ درصد بر قطر ساقه معنی‌دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که تیمار شدت میدان صفر تحت دور آبیاری ۲ روز بیشترین و شدت

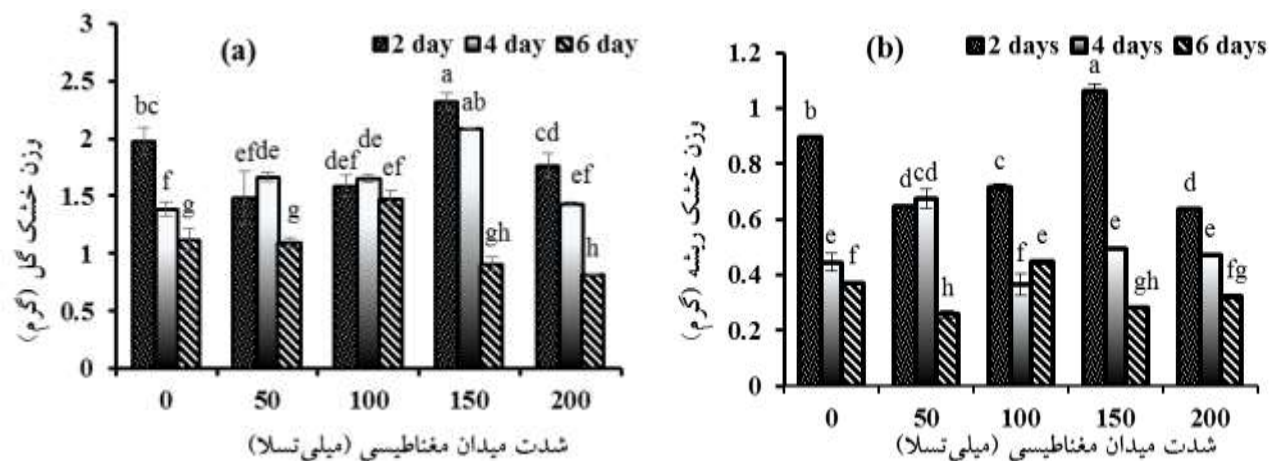
جدول ۲- تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف شدت میدان مغناطیسی و تنش خشکی بر صفات مورفولوژیکی گیاه دان‌سیاه

میانگین مربعات				درجه آزادی	منابع تغییر
وزن خشک ریشه	وزن خشک گل	وزن خشک ساقه	وزن خشک برگ		
۰/۰۲**	۰/۲۵**	۰/۶۵**	۰/۴۰**	۴	شدت میدان مغناطیسی
۰/۸۰**	۲/۲۵**	۱۳/۵۹**	۱/۶۰**	۲	تنش خشکی
۰/۰۶**	۰/۲۵**	۰/۱۳*	۰/۱۰**	۸	شدت میدان مغناطیسی × تنش خشکی
۰/۰۰۴	۰/۰۲	۰/۰۵	۰/۰۱	۳۰	خطا
۵/۹۸	۱۰/۲۱	۹/۹۹	۹/۶۰	-	ضریب تغییرات %

** و * به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد را نشان می‌دهد.



شکل ۲- مقایسه میانگین اثرات متقابل سطوح مختلف شدت میدان مغناطیسی و تنش خشکی بر وزن خشک برگ (a) و ساقه (b) گیاه دان‌سیاه. میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

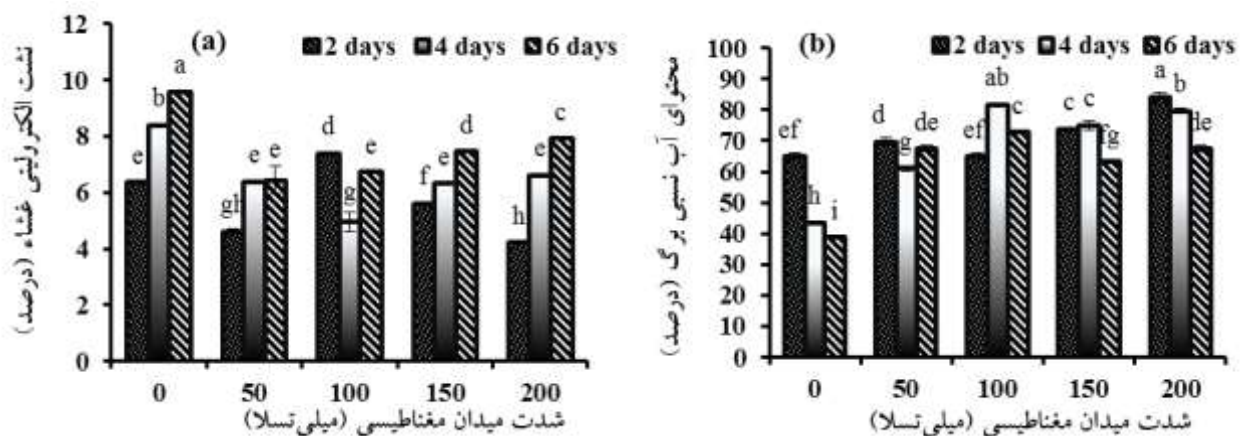


شکل ۳- مقایسه میانگین اثرات متقابل سطوح مختلف شدت میدان مغناطیسی و تنش خشکی بر وزن خشک گل (a) و ریشه (b) گیاه دان‌سیاه. میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

جدول ۴- تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف شدت میدان مغناطیسی و تنش خشکی بر صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دان‌سیاه

میانگین مربعات			درجه	منابع تغییر
فعالیت آنزیم پراکسیداز	فعالیت آنزیم کاتالاز	فعالیت آنزیم آسکوربات	آزادی	
۲۳۸۵۰/۷۴**	۶۵۷۳/۱۱**	۹۸۳۸۱/۶۰**	۴	شدت میدان مغناطیسی
۱۱۴۷۸/۹۰**	۲۶۶۹/۰۰**	۶۸۱۲۳/۴۳**	۲	تنش خشکی
۷۲۹۹/۵۳**	۲۸۴۷/۱۳۷**	۳۸۷۷۴/۲۴**	۸	شدت میدان مغناطیسی × تنش خشکی
۸۳/۷۸	۴۰/۳۰	۴۰۲/۸۳	۳۰	خطا
۴/۶۷۹	۴/۹۳	۴/۶۷	-	ضریب تغییرات %

** معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد را نشان می‌دهد.



شکل ۵- مقایسه میانگین اثرات متقابل سطوح مختلف شدت میدان مغناطیسی و تنش خشکی بر نشت الکترولیتی غشاء (a) و محتوای نسبی آب برگ (b). میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

شدت میدان ۱۰۰ میلی‌تسلا و برای دور آبیاری ۶ روز در شدت میدان ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌تسلا مشاهده شد.

محتوای نسبی آب برگ (RWC): با توجه به نتایج حاصل از تجزیه واریانس محتوای نسبی آب برگ در سطح احتمال ۱ درصد به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر شدت میدان مغناطیسی، تنش خشکی و اثرات متقابل آنها قرار گرفت (جدول ۳). براساس نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل، تیمار شدت میدان ۲۰۰ میلی‌تسلا تحت دور آبیاری ۲ روز بیش‌ترین و تیمار شدت میدان صفر تحت دور آبیاری ۶ روز کمترین محتوای نسبی آب برگ را به خود اختصاص دادند (شکل ۵b). با افزایش دور آبیاری در شدت میدان‌های صفر و ۲۰۰ میلی‌تسلا از محتوای نسبی آب برگ کاسته شد این در حالی است که

نشت الکترولیتی غشاء (EC): نتایج تجزیه واریانس نشان داد که سطوح مختلف شدت میدان مغناطیسی، تنش خشکی و اثرات متقابل آنها بر نشت الکترولیتی غشاء در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که تیمار شدت میدان صفر تحت دور آبیاری ۶ روز بیشترین و تیمار شدت میدان ۲۰۰ میلی‌تسلا تحت دور آبیاری ۲ روز کمترین نشت الکترولیتی غشاء را به خود اختصاص دادند (شکل ۵a). به‌طور کلی با افزایش دور آبیاری در شدت‌های مختلف میدان مغناطیسی نشت الکترولیتی غشاء روند افزایشی را نشان داد. برای دور آبیاری ۲ روز کمترین نشت غشاء در شدت میدان ۲۰۰ و ۵۰ میلی‌تسلا حاصل شد در حالیکه برای دور آبیاری ۴ روز کمترین نشت غشاء در

روز در شدت میدان‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌تسلا بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز افزوده شد و از ۴ به ۶ روز از میزان آن کاسته شد این در حالی است که برای سایر شدت‌های میدان مغناطیسی روند خاصی مشاهده نشد. برای دور آبیاری ۲ روز بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در شدت میدان ۲۰۰ میلی‌تسلا حاصل شد در حالیکه برای دور آبیاری ۴ و ۶ روز بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در شدت میدان ۱۰۰ میلی‌تسلا مشاهده گردید.

گایاکول پراکسیداز: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان

داد که فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز به طور معنی‌داری تحت تأثیر شدت میدان مغناطیسی، تنش خشکی و اثرات متقابل آن‌ها در سطح احتمال ۱ درصد قرار گرفت (جدول ۴). با توجه به نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل، شدت میدان ۲۰۰ میلی‌تسلا تحت دور آبیاری ۲ روز بیشترین و تیمار شدت میدان صفر میلی‌تسلا تحت دور آبیاری ۲ روز کمترین میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز را دارد (شکل ۷). با افزایش دور آبیاری از ۲ به ۴ روز در شدت میدان‌های صفر و ۱۰۰ میلی‌تسلا بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز افزوده شد و از ۴ به ۶ روز از میزان فعالیت آن کاسته شد این در حالی است که برای سایر شدت‌های میدان مغناطیسی روند خاصی مشاهده نشد. برای دور آبیاری ۲ روز بیشترین میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در شدت میدان ۲۰۰ میلی‌تسلا حاصل شد در حالیکه برای دور آبیاری ۴ روز بیشترین میزان فعالیت گایاکول پراکسیداز در شدت میدان ۱۰۰ میلی‌تسلا و برای دور آبیاری ۶ روز بیشترین میزان آن در شدت میدان‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌تسلا مشاهده گردید.

بحث

تنش خشکی به عنوان یکی از تنش‌های محیطی بوده که می‌تواند منجر به کاهش رشد و تولیدات گیاهی با تأثیر بر کاهش رشد و نمو سلول، کاهش اندازه برگ، کاهش طول شدن ساقه، کاهش تکثیر ریشه، مختل شدن فعالیت روزنه، کاهش تعداد برگ، کاهش آماس، کاهش مواد غذایی و تقلیل راندمان مصرف آب گردد (Farooq *et al.*, 2012). با این حال، گیاهان پاسخ‌های

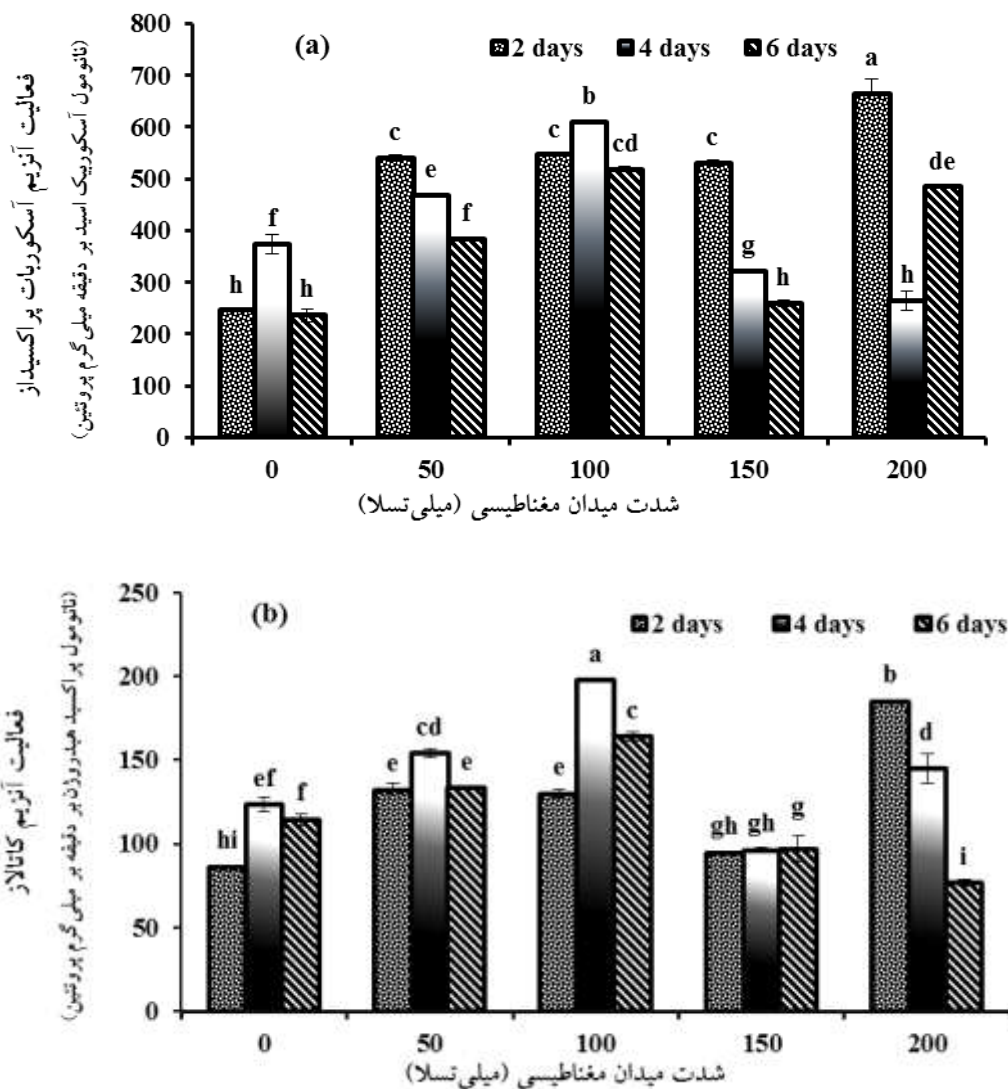
برای سایر شدت‌های میدان مغناطیسی روند خاصی مشاهده نگردید. برای دور آبیاری ۲ روز بیشترین محتوای نسبی آب برگ در شدت میدان ۲۰۰ میلی‌تسلا حاصل شد در حالیکه برای دور آبیاری ۴ روز بیشترین محتوای نسبی آب برگ در شدت میدان ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌تسلا و برای دور آبیاری ۶ روز بیشترین میزان آن در شدت میدان ۱۰۰ میلی‌تسلا مشاهده گردید.

آسکوربات پراکسیداز: نتایج حاصل از تجزیه واریانس

نشان داد میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به طور معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد، تحت تأثیر شدت میدان مغناطیسی، تنش خشکی و اثرات متقابل آن‌ها قرار گرفت (جدول ۴). با توجه به نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل، تیمار شدت میدان ۲۰۰ میلی‌تسلا تحت دور آبیاری ۲ روز بیشترین و تیمار شدت میدان صفر تحت دور آبیاری ۶ روز کمترین سطح فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را دارد (شکل ۶a). با افزایش دور آبیاری از ۲ به ۴ روز در شدت میدان‌های صفر و ۱۰۰ میلی‌تسلا بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز افزوده شد و از ۴ به ۶ روز از میزان آن کاسته شد این در حالی است که با افزایش دور آبیاری در شدت میدان‌های ۵۰ و ۱۵۰ میلی‌تسلا از میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز کاسته شد. برای دور آبیاری ۲ روز بیشترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در شدت میدان ۲۰۰ میلی‌تسلا حاصل شد در حالیکه برای دور آبیاری ۴ روز بیشترین فعالیت این آنزیم در شدت میدان ۱۰۰ میلی‌تسلا و برای دور آبیاری ۶ روز در شدت میدان‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌تسلا مشاهده گردید.

کاتالاز: براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس، میزان

فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تأثیر شدت میدان مغناطیسی، دور آبیاری و اثرات متقابل آن‌ها در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد بیشترین سطح فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار شدت میدان ۱۰۰ میلی‌تسلا تحت دور آبیاری ۴ روز و کمترین سطح فعالیت این آنزیم در تیمار شدت میدان ۲۰۰ میلی‌تسلا تحت دور آبیاری ۶ روز حاصل شد (شکل ۶b). با افزایش دور آبیاری از ۲ به ۴



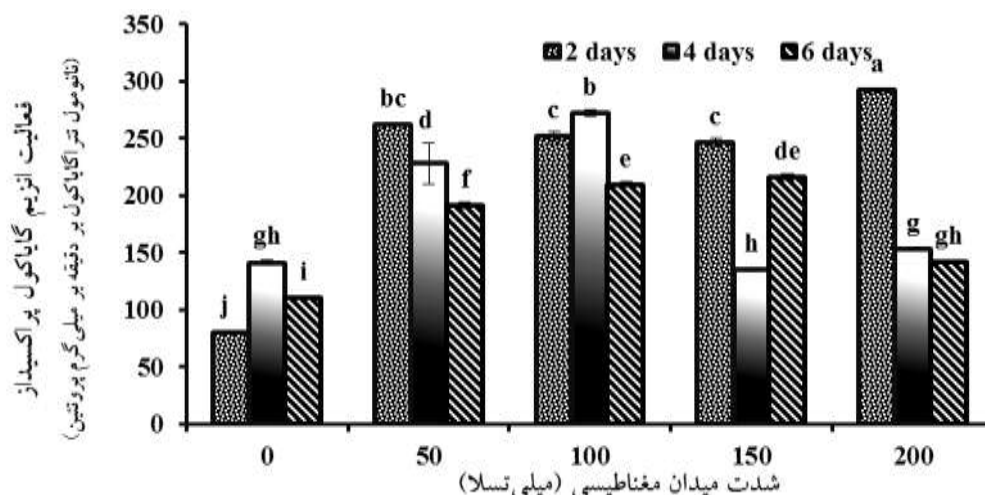
شکل ۶- مقایسه میانگین اثرات متقابل سطوح مختلف شدت میدان مغناطیسی و تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز (a)، کاتالاز (b) و گاپاکول پراکسیداز گیاه دان‌سیاه. میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند

فشار تورژسانس، متعاقباً باعث افزایش غلظت نمک‌ها در سلول و ضخیم‌تر و فشرده‌تر شدن غشاء پلاسمایی می‌شود، زیرا سطح آن نسبت به حالت تورژسانس کامل کمتر می‌گردد (Tiaz and Zeiger, 2006) و نهایتاً کاهش رشد و توسعه سلول به ویژه در ساقه و برگ را به همراه دارد. با کاهش رشد سلول از میزان اندازه اندام کاسته می‌شود (حسینی، ۱۳۸۵).

در این تحقیق نتایج حاکی از کاهش وزن خشک برگ و ساقه تحت تنش خشکی بود، زیرا زمانی که گیاه با خشکی مواجه می‌شود از شاخ و برگ خود که منابع اصلی تبخیر و

فیزیولوژیک و بیوشیمیایی متفاوتی در سطح سلول و تمامی سطوح خود می‌دهند (Smirnoff, 2005).

میزان فتوسنتز به طور عمده با بسته شدن روزنه‌ها، آسیب غشاء و تخریب آنزیم‌های مختلف به ویژه آنهایی که در سنتز ATP دخالت دارند، کاهش می‌یابد (Smirnoff, 2005). در نتیجه موجب کاهش تجمع ماده خشک در تمام اندام گیاهی می‌شود. طبیعتاً زمانی که محتوی آب گیاه کاهش یابد سلول‌ها شروع به چروکیدگی نموده و فشار تورژسانس در مقابل دیواره سلولی کاهش می‌یابد. این کاهش در حجم سلول ناشی از کاهش



شکل ۷- مقایسه میانگین اثرات متقابل سطوح مختلف شدت میدان مغناطیسی و تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز گیاه دان‌سیاه. میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

گیاهان نسبت به میدان مغناطیسی حساسیت بالایی دارند و این گونه میدان‌ها در رشد و نمو گیاهان اهمیت دارد. همچنین محققین افزایش رویسکو و افزایش بهره‌وری از انرژی نورانی را برای بذور تحت تیمار میدان مغناطیسی بیان کرده‌اند که این امر منجر به ۴۰ و ۵۵ درصد افزایش در بیومس گیاهان تیمار شده با شدت میدان ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌تسلا شد (Baby et al., 2011). بنابراین احتمال عرضه مواد به ریشه و سایر اندام‌های هوایی در حال رشد بیشتر می‌شود و موجب افزایش بیومس آنها می‌گردد.

ضرایب همبستگی صفات نشان داد که وزن خشک ریشه با وزن خشک برگ، ساقه و گل رابطه مستقیم و معنی‌داری داشت، همچنین وزن خشک برگ با وزن خشک ساقه ($r=0/56^{**}$) و قطر ساقه ($r=0/56^{**}$) رابطه مستقیم و معنی‌داری ($P \leq 0/01$) را تحت تأثیر شدت میدان مغناطیسی و دور آبیاری نشان دادند. تمامی صفات مورفولوژیکی با یکدیگر رابطه مستقیم و معنی‌داری را نشان دادند به طوری که افزایش در هر کدام از صفات تحت میدان مغناطیسی و بهبود شرایط تنش خشکی به شدت موجب بهبود سایر صفات گردید و بالعکس (جدول ۵).

یکی دیگر از آسیب‌های تنش خشکی خسارت به غشاء و رها سازی یون‌ها از سلول به فضای بین سلولی است، این

تعلق در گیاه هستند می‌کاهد و روزنه‌های آنها نیمه‌بسته و بسته می‌گردد. این موضوع موجب کاهش جذب CO_2 و کاهش تولید مواد فتوسنتزی می‌شود و از طرفی گیاه برای جذب آب انرژی زیادی مصرف می‌کند. بدین سبب وزن خشک برگ، ساقه (محمدی البرزی، ۱۳۹۱) و گل در گیاه کاهش می‌یابد، از طرف دیگر افزایش در وزن خشک گل می‌تواند به افزایش تعداد گل در بوته نیز بستگی داشته باشد. ریشه گیاهان تا زمانی رشد خواهد نمود که تقاضای آن برای دریافت مواد فتوسنتزی با مقدار عرضه آن از اندام هوایی مساوی شود. این تعادل عملیاتی در صورت کاهش عرضه آب تغییر می‌کند و ممانعت در توسعه برگ را بدنبال دارد که باعث کاهش در مصرف کربوهیدرات‌ها و انرژی شده و بخش بیشتری از مواد فتوسنتزی تولید شده می‌تواند به سمت ریشه‌ها هدایت شوند که تضمین کننده رشد بیشتر ریشه می‌باشد (Tiaz and Zeiger, 2006).

از آنجایی که میدان مغناطیسی بر جذب، ذخیره و یونیزاسیون آب تأثیر می‌گذارد (Taia et al., 2007) اثرات مثبت تیمار مغناطیسی بذرها بر پارامترهای رشد تحت سطوح مختلف خشکی ممکن است ناشی از تأثیر میدان مغناطیسی بر جذب یون‌ها و متعاقب آن بهبود پروسه تغذیه (Lin and Yotvat, 1990)، جذب آب و فرآیندهای شیمیایی باشد (Dhawi et al., 2009). مطالعات نشان داده است که

جدول ۵- ضرایب همبستگی بین صفات مورد بررسی گیاه دان‌سیاه

گیاکول	پراکسیداز	کاتالاز	آسکوربات	پراکسیداز	محتوای نسبی آب پسند	الکترولیتی غشاء	حجم ریشه	قطر ساقه	وزن خشک ریشه	وزن خشک گل	وزن خشک ساقه	وزن خشک ترگ
												۱
											۱	۰/۵۶**
										۱	۰/۵۲**	۰/۴۶**
									۱	۰/۷۶**	۰/۷۵**	۰/۵۹**
								۱	۰/۵۰**	۰/۳۸**	۰/۶۰**	۰/۵۶**
							۱	۰/۵۳**	۰/۸۱**	۰/۷۲**	۰/۷۱**	۰/۷۴**
						۱	۰/۳۲*	-۰/۲۷ ^{ns}	-۰/۳۷*	-۰/۵۱**	-۰/۴۹**	-۰/۲۲ ^{ns}
				۱	-۰/۸۰**	-۰/۴۱**	۰/۰۹ ^{ns}	۰/۱۶ ^{ns}	۰/۳۶*	۰/۲۶ ^{ns}	۰/۲۶ ^{ns}	۰/۲۴ ^{ns}
			۱	۰/۴۹**	-۰/۶۰**	۰/۳۹**	۰/۴۶**	۰/۲۲ ^{ns}	۰/۲۳ ^{ns}	۰/۳۸**	۰/۳۸**	۰/۴۲**
		۱	۰/۵۶**	۰/۳۸**	-۰/۴۷**	۰/۰۰ ^{ns}	۰/۰۷ ^{ns}	-۰/۱۵ ^{ns}	۰/۰۸ ^{ns}	۰/۰۶ ^{ns}	-۰/۰۱ ^{ns}	۰/۰۱ ^{ns}
۱	۰/۶۱**	۰/۸۱**	۰/۵۰**	-۰/۶۴**	۰/۳۴*	۰/۲۲ ^{ns}	۰/۱۵ ^{ns}	۰/۱۶ ^{ns}	۰/۲۷ ^{ns}	۰/۳۵*		

ns, * و ** به ترتیب غیرمعنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد را نشان می‌دهد.

۱- وزن خشک برگ، ۲- وزن خشک ساقه، ۳- وزن خشک گل، ۴- وزن خشک ریشه، ۵- قطر ساقه، ۶- حجم ریشه، ۷- نشت الکترولیتی غشاء، ۸- محتوای نسبی آب برگ، ۹- آسکوربات پراکسیداز، ۱۰- کاتالاز و ۱۱- گایاکول پراکسیداز

پارانشیمی می‌توان تأثیر منفی ناشی از خشکی را بهبود بخشید. مطالعات Majd و Farzpourmachiani (۲۰۱۳) مبنی بر تأثیر میدان مغناطیسی بر گیاه ماش نشان داد که نمونه‌های تیمار شده با شدت میدان ۱۷۰۰ گوس سلول‌های اسفنجی بزرگتر و نردبانی فشرده‌تر را نشان دادند. بزرگتر شدن سلول‌های اسفنجی می‌تواند با افزایش آب ذخیره در بافت، محتوای نسبی آب برگ را بالا ببرد و با فشرده‌تر کردن سلول‌های نردبانی سبب افزایش فتوسنتز و تولید زیست توده خشک در اندام‌های مختلف گیاه گردد. با توجه به اینکه میدان مغناطیسی بر فرآیندهای کلیدی سلول مانند رونویسی ژن تأثیر می‌گذارد، ممکن است سبب افزایش سنتز DNA و نتیجتاً افزایش سلول‌های ناحیه غشاء شده باشد. در راستای تأیید این یافته‌ها می‌توان به تحقیقات Yinana (۲۰۰۵)، مبنی بر پایداری و تمامیت بالاتر غشاء سلولی بعد از اعمال میدان مغناطیسی در انجیر که موجب تحمل صدمات مکانیکی و جلوگیری از تخریب سلول‌ها بدنبال از دست دادن آب شد اشاره کرد.

پدیده نتیجه تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن است که منجر به تخریب نفوذپذیری غشاء و خسارت به سلول می‌گردد (کبیری و همکاران، ۱۳۹۲). در پژوهش حاضر نیز در راستای اعمال تنش خشکی با افزایش شدت تنش بر میزان نشت مواد به خارج غشاء سلولی افزوده شد در حالیکه میزان نشت مواد تحت تأثیر میدان مغناطیسی در شرایط تنش خشکی کاهش معنی‌داری را نشان داد. همسو با این تحقیق بررسی تأثیر میدان مغناطیسی بر گیاه زوفا توسط محمدی میلادی (۱۳۸۹) نشان داد که شدت‌های میدان مغناطیسی ۹۰ و ۲۰۰ میلی‌تسلا، منجر به بروز کاهش معنی‌دار در میزان نشت الکترولیتی غشاء تحت شرایط دور آبیاری ۳ روز شد. تحت شرایط تنش خشکی محتوای نسبی آب برگ گیاه مرزه با افزایش شدت تنش از ۱۰۰ درصد به ۳۳ درصد ظرفیت زراعی کاهش قابل توجهی را داشت (Miranshahi and Sayyari, 2016). با توجه به اینکه تحت تنش خشکی محتوای نسبی آب برگ کاهش می‌یابد، با اعمال میدان مغناطیسی و تأثیر مثبت آن بر سلول‌های

همانطور که در جدول ۵ مشاهده می‌شود نشت الکترولیتی مواد به خارج از غشاء سلولی با محتوای نسبی آب برگ رابطه عکس ($r = -0/80^{**}$) و معنی‌دار ($P \leq 0/01$) را نشان داد، به طوریکه با بالا رفتن پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، تخریب و اختلال در قابلیت نفوذپذیری آن، از میزان محتوای نسبی آب برگ ($r = -0/80^{**}$) کاسته شد. میدان مغناطیسی با مکانیسم حفظ تمامیت غشاء و جلوگیری از تخریب آن تحت شرایط تنش خشکی به حفظ محتوای نسبی آب برگ افزود که در پی افزایش محتوای آب برگ بر صفات رشدی گیاه از جمله وزن خشک گل و حجم ریشه تأثیر مثبت و بهبود دهنده را نشان داد. همچنین تغییرات در وزن خشک اجزای اندام هوایی بی‌ارتباط با نشت الکترولیتی مواد نبود. وزن خشک ساقه، گل و ریشه به ترتیب رابطه عکس ($r = -0/37^*$ ، $r = -0/51^{**}$ و $r = -0/49^{**}$) و معنی‌داری را با تغییرات نشت مواد به خارج از غشاء سلولی نشان دادند.

مطالعات انجام شده توسط Wang و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گونه‌های متحمل به خشکی نسبت به گونه‌های حساس به تنش بالاتر است. پژوهش‌های کبیری و همکاران (۱۳۹۲) افزایش آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و کاتالاز را تحت شرایط تنش خشکی در گیاه سیاه دانه نشان دادند. در این تحقیق نیز با افزایش تنش خشکی از ۲ به ۴ روز بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزوده شد و با بالاتر رفتن سطح تنش به ۶ روز از میزان فعالیت آنها کاسته شد. افزایش فعالیت آنزیمی در خشکی با شدت کمتر نسبت به تنش شدیدتر، نشان دهنده وجود یک مکانیزم مؤثر برای از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن توسط آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در خشکی ۴ روز و تخریب این سیستم در خشکی بالاتر احتمالاً به دلیل افزایش بیش از حد رادیکال‌های آزاد (سیروس‌مهر و همکاران، ۱۳۹۳)، مهار سنتز آنزیم و تغییر در گروهی از زیر واحدهای آنزیم و یا تخریب پروتئین است (Shao et al., 2007). تغییر در فعالیت آنزیم‌ها ارتباط مستقیم با بیان ژن دارد. تحت شرایط استرس بالا ارتباط مثبت بین مواد خشک اندام

هوایی با درصد محتوای نسبی آب برگ، ساکارز، فعالیت آنزیم کاتالاز، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و نسبت بیان ژن *CytAPX* وجود دارد. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ارتباط بین فعالیت سطح رونوشت‌برداری از ژن می‌تواند نقش حفاظتی از گیاهان در برابر آسیب اکسیداتیو در تنش خشکی را بازی کند (Hosseini et al., 2015). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با اعمال تنش خشکی بر میزان فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و گایاکول پراکسیداز جهت مقابله با خسارات رادیکال‌های آزاد افزوده شد. همسو با این تحقیق افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برنج و آنزیم کاتالاز در گوجه‌فرنگی و برخی ارقام کلزا و افزایش فعالیت گایاکول پراکسیداز برای آرابیدوپسیس، گندم و ارقام کلزا تحت شرایط تنش خشکی گزارش داده شده است (Mirzaee et al., 2013).

اعمال میدان مغناطیسی نیز به‌طور قابل توجهی فعالیت این آنزیم‌ها را تحت تنش خشکی در سطح بالاتری قرار داد. میدان مغناطیسی بر اکثر پارامترهای مورفولوژیکی تأثیر مثبت داشت و با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و گایاکول پراکسیداز سبب مقاومت گیاه به تنش خشکی شد. برخی مطالعات نشان داده است که قرار گرفتن در معرض میدان مغناطیسی میزان فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و گایاکول پراکسیداز را افزایش می‌دهد. نتایج پژوهش حاضر با یافته‌های Shabrangi و همکاران (۲۰۰۹) مبنی بر افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاه عدس با اعمال شدت میدان از ۱۸۰ به ۳۶۰ میلی‌تسلا و افزایش گایاکول پراکسیداز در برگ خردل (*Brasica chinensis*) تحت شدت میدان ۲۷۵ kv (Maziah et al., 2012) مطابقت داشت.

با توجه به نتایج همبستگی میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و گایاکول پراکسیداز به صورت همسو تغییر یافتند. علاوه بر این، محتوای نسبی آب برگ با آنزیم آسکوربات پراکسیداز ($r = 0/30^*$)، کاتالاز ($r = 0/38^{**}$) و گایاکول پراکسیداز ($r = 0/50^{**}$) رابطه مستقیم، وزن خشک

آب کمتری نیاز دارند. در گیاهان دارای مقدار پتاسیم کافی میزان تعرق به حداقل ممکن کاهش می‌یابد. نقش اصلی در این خصوص باز و بسته شدن روزنه‌هاست. از طرف دیگر با افزایش پتاسیم در برگ‌ها میزان نگهداری آب افزایش پیدا می‌کند. پتاسیم باعث افزایش هیدراسیون پروتوپلاسم شده و با افزایش هیدراسیون مقاومت گیاه به خشکی زیاد می‌شود. از طرف دیگر تقریباً در همه گیاهان زراعی پتاسیم در ساخت پروتئین نقش دارد و مؤثرترین کاتیون در فعالسازی سیستم آنزیمی می‌باشد (کریمی مریدانی، ۱۳۹۳). بنابراین احتمالاً میدان مغناطیسی با افزایش میزان پتاسیم در گیاه می‌تواند موجب بهبود کارایی صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی خصوصاً آنزیم‌ها در گیاه دان‌سیاه تحت شرایط تنش خشکی شود.

نتیجه‌گیری

تنش خشکی ناشی از افزایش دور آبیاری سبب کاهش تمامی صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی شد. این در حالی است که اعمال میدان مغناطیسی در چنین شرایطی سبب تعدیل اثرات مضر تنش خشکی گردید. با توجه به اینکه میدان مغناطیسی انواع فعالیت‌های گیاهی از جمله رشد، توسعه و فعالیت آنزیم را تحت تأثیر قرار داد می‌توان شدت میدان ۲۰۰ میلی‌تسلا برای دور آبیاری ۲ روز و شدت میدان ۱۰۰ میلی‌تسلا برای دور آبیاری ۴ و ۶ روز را جهت بهبود و ایجاد مقاومت گیاه دان‌سیاه در شرایط تنش خشکی پیشنهاد داد.

برگ با آنزیم آسکوربات پراکسیداز ($r=0/42^{**}$) و گایاکول پراکسیداز ($r=0/35^{**}$) رابطه مستقیم، وزن خشک ساقه با آنزیم آسکوربات پراکسیداز رابطه مستقیم ($r=0/38^{**}$)، قطر ساقه با آنزیم آسکوربات پراکسیداز رابطه مستقیم ($r=0/46^{**}$)، حجم ریشه با آنزیم آسکوربات پراکسیداز ($r=0/39^{**}$) و آنزیم گایاکول پراکسیداز ($r=0/34^{**}$) رابطه مستقیم و نشأت الکترولیتی غشاء با آنزیم آسکوربات پراکسیداز ($r=-0/60^{**}$)، آنزیم کاتالاز ($r=-0/47^{**}$) و گایاکول پراکسیداز ($r=-0/64^{**}$) رابطه عکس و معنی‌داری را نشان دادند (جدول ۵).

تحقیقات El-Gizawy و همکاران (۲۰۱۶) نشان داد که میدان مغناطیسی ۳۰ میلی‌تسلا در مدت ۵ و ۱۰ دقیقه بر بذور سیب زمینی سبب افزایش در میزان محتوای پتاسیم در غده سیب زمینی شد. می‌توان احتمال داد که در گیاه دان‌سیاه نیز افزایش در میزان پتاسیم تحت میدان مغناطیسی صورت گرفته باشد. این افزایش در میزان پتاسیم می‌تواند بدلیل افزایش در حجم ریشه تحت میدان مغناطیسی ناشی شود. زیرا بر اساس اظهارات کریمی مریدانی (۱۳۹۳) افزایش در حجم ریشه به همان نسبت بر میزان تارهای کشنده ریشه می‌افزاید. تارهای کشنده سطح تماس ریشه را با خاک افزایش داده و در جذب آب و مواد غذایی نقش دارد. تارهای کشنده تا ۹۵ درصد جذب پتاسیم در خاک را بر عهده دارند. بنابراین میدان مغناطیسی با تأثیر بر افزایش سطح تماس ریشه با خاک میزان جذب پتاسیم را در گیاه بالا می‌برد. گیاهانی که از مقدار پتاسیم کافی برخوردارند برای ساخت ترکیبات آلی پیچیده به مقدار

منابع

- اشرفی، و. و طالبی، م. (۱۳۹۱) اصلاح مقاومت به خشکی در گیاهان زراعی. اولین همایش ملی توسعه پایدار کشاورزی و محیط زیست سالم، دانشگاه آزاد اسلامی همدان.
- دوازده امامی، س. و واقتی، آ. (۱۳۸۸) بررسی توانمندی‌های گیاه روغنی دان‌سیاه *Guizotia abyssinica* (L.F.) Cass در منطقه اصفهان، اولین همایش ملی دانه‌های روغنی، دانشگاه صنعتی اصفهان.
- سیروس مهر، ع.، باردل، ج. و محمدی، س. (۱۳۹۳) تغییرات خصوصیات جوانه‌زنی، رنگدانه‌های فتوسنتزی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گلرنگ تحت تأثیر تنش‌های خشکی و شوری، نشریه علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی ۴: ۵۳۴-۵۱۷.

- کبیری، ر.، نصیبی، ف. و فرح بخش، ح. (۱۳۹۲) مطالعه برخی پارامترهای اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی در گیاه سیاهدانه در شرایط کشت هیدروپونیک، مجله فرآیند و کارکرد گیاهی ۱: ۱۹-۱۱.
- کریمی مریدانی، م. (۱۳۹۳) اهمیت پتاسیم در حاصلخیزی خاک شالیزار، فصلنامه نظام مهندسی کشاورزی و منابع طبیعی ۴۴: ۳۳-۳۹.
- فرشی، ع.، سیادت، ح.، دربندی، ص.، انصاری، م.، خیرابی، ج.، میرلطفی، م.، سلامت، ع. و سادات میری، م. ح. (۱۳۸۲) مدیریت آب آبیاری در مزرعه، انتشارات کمیته ملی آبیاری و زهکشی ایران.
- محمدی البرزی، م.، صفی خانی، ف.ا.، مسعود سینکی، ج. و عباسزاده، ب. (۱۳۹۱) تأثیر خشکی بر عملکرد و برخی صفات مورفولوژیک گیاه دارویی انیسون (*Pimpinella anisum* L.)، مجله اکوفیزیولوژی گیاهی ۱: ۲۵-۱۴.
- محمدی میلانی، ر. (۱۳۸۹) تأثیر میدان مغناطیسی بر فیزیولوژی بذر، رشد دانه رست، ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis*) تحت تنش خشکی. پایان نامه کاشناسی ارشد، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.
- Anand, A., Nagarajan, S., Verma, A. P. S., Joshi, D. K., Pathak, P. C. and Bhardwaj, J. (2012) Pre-treatment of seeds with static magnetic field ameliorates soil water stress in seedling of maize (*Zea mays* L.). Indian Journal of Biochemistry and Biophysics 49:63-70.
- Asrar, A. W. A. and Elhindi, K. M. (2011) Alleviation of drought stress of marigold (*Tagetes erecta*) plants by using arbuscular mycorrhizal fungi. Saudi Journal of Biological Sciences 18:93-98.
- Baby, S. M., Narayanaswamy, G. K. and Anand, A. (2011) Superoxide radical production and performance index of Photosystem II in leaves from magneto primed soybean seeds. Plant Signaling and Behavior 6: 1635-1637.
- Bhattacharjee, S. (2005) Reactive oxygen species and oxidative burst: Roles in stress, senescence and signal transduction in plants. Current Science 7:1113-1121.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.
- Dhawi, F., Al-Khayri, J. M. and Hassan, E. (2009) Static magnetic field influence on elements composition in Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.). Research Journal Agriculture Biology Sciences 5: 161-166.
- Dionisio-Sese, M. L. and Tobita, S. (1998) Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. Plant Science 135: 1-9.
- EL-Gizawy A. M., Ragab M. E., Nesreen A. S., EL-Satar A. and Osman, I. H. (2016) Effect of magnetic field treatments on germination of true potato seeds, seedlings growth and potato tubers characteristics. Middle East Journal of Agriculture Research 1: 74-81.
- Farooq, M., Hussain, M., Wahid, A. and Siddique, K. H. M. (2012) Drought stress in plants: An overview. In: Plant Responses to Drought Stress. (eds. Aroca, R.) Pp. 1-33. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Hosseini, M., Hasanloo, T. and Mohammadi, S. (2015) Physiological characteristics, antioxidant enzyme activities, and gene expression in 2 spring canola (*Brassica napus* L.) cultivars under drought stress conditions. Turkish Journal of Agriculture and Forestry 3: 413-420.
- Levitte, J. (1980) Responses of plant to environmental stresses, Academic Press. New York.
- Lin, I. J. and Yotvat, J. (1990) Exposure of irrigation and drinking water to a magnetic field with controlled power and direction. Journal of Magnetism and Magnetic Material 83: 525-526.
- Majd, A. and Farzpourmachiani, S. (2013) Effect of magnetic fields on growth and anatomical structure of *Vicia sativa* L. Global Journal of Plant Ecophysiology 2: 87-95.
- Maziah, M., Ooi, B. B., Tengku, M. and Sreeramanan, S. (2012) Effects of electromagnetic field of 33 and 275 kV influences on physiological, biochemical and antioxidant system changes of leaf mustard (*Brassica chinensis*). African Journal of Biotechnology 11:13016-13029.
- Miranshahi, B. and Sayyari, M. (2016). Methyl jasmonate mitigates drought stress injuries and affects essential oil of summer savory. Journal of Agricultural Science and Technology 6: 1635-1645.
- Mirzaee, M., Moieni, A. and Ghanati, F. (2013) Effects of drought stress on the lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in two Canola (*Brassica napus* L.) cultivars, Journal of Agricultural Science and Technology 15: 593-602.
- Narwal, S. S., Bogatek, R., Zagdanska, B. M., Sampietro, D. A. and Vattuone, M. A. (2009) Plant biochemistry. Studium Press LLC.
- Nelson, R. A. (1999) Electro-culture. Journal of Extension 28:2-28.
- Pietruszewski, S. and Martinez E. (2015) Magnetic field as a method of improving the quality of sowing material: a review. International Agrophysics 29:377-389.

- Ritchie, S. W., and Nguyen, H. T. (1990) Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science* 30: 105-111.
- Rostami, A. A. and Rahemi, M. (2013) Screening drought tolerance in caprifig varieties in accordance to responses of antioxidant enzymes. *World Applied Sciences Journal* 8:1213-1219.
- Shabrangi, A. and Majd, A. (2009) Effect of magnetic fields on growth and antioxidant systems in agricultural plants, *Progress in Electromagnetics Research Symposium, Beijing, China, March 23: 23–27.*
- Shao, H. B., Chu, L. Y., Wu, G., Zhang, J. H., Lu, Z. H. and Hu, Y. C. (2007) Changes of some anti-oxidative physiological indices under soil water deficits among 10 wheats (*Triticum aestivum* L.) genotypes at tillering stage. *Colloids Surf* 54:143-149.
- Smirnoff, N. (2005) *Antioxidants and reactive oxygen species in plant.* Blackwell Publishing. UK.
- Stoll, V. S. and Blanchard, J. S. (1990) Buffers: Principles and practice. *Methods in Enzymology, Guide to Protein Purification.* (ed. Deutscher, M.P) Pp. 24 – 38. Academic Press, San Diego.
- Taia, W., Al-Zahrani, H. and Kotbi, A. (2007) The effect of static magnetic forces on Water contents and photosynthetic pigments in sweet basil *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae). *Saudi Journal Bio Science* 1:7-103.
- Tiaz, L. and Zeiger, E. (2006) *Plant physiology, Accedez directement,* New York.
- Wadas, R. (1991) *Biomagnetism.* Professional Women's Network, Warszawa.
- Wang, W. B., Kim, Y. H., Lee, H. S., Kim, K. Y., Deng, X. P. and Kwak, S. S. (2009) Analysis of Antioxidant Enzyme Activity during Germination of Alfalfa under Salt and Drought Stress. *Plant Physiology and Biochemistry* 7: 570-577.