Archive OF SID

مجله علمی – پژوهشی دانشگاه اصفهان (علوم پایه)
جلد سی و پنجم، شماره ٦، سال ١٣٨٧
صص ٢٠٨-١٩٥

بررسی اثر میدان مغناطیسی ایستا بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و محتوای فلاوونوئیدی در گیاه باقلا *(Vicia faba L.)*

فاطمه جوانی جونی*، پرویز عبدالمالکی*، فائزه قناتی**

* دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم زیستی، بخش بیوفیزیک

** دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم زیستی، بخش علوم گیاهی

چکیده

در سالهای اخیر، مطالعات زیادی برای ارزیابی تاثیرات زیستی احتمالی میدان های مغناطیسی انجام شده‌است، اما علی رغم این مطالعات، مکانیسم این تأثیرات هنوز ناشناخته مانده است. در تحقیق حاضر، تأثیرات اعمال میدان مغناطیسی ایستا با شدت ١٥ میلی تسلا بر روی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و محتوای فلاونوییدی گیاه باقلا (*Vicia faba L.*) بررسی شده است. نتایج، تغییرات معنی داری را در نمونه‌هایی که تحت تأثیر میدان مغناطیسی ایستا قرار گرفته بودند، نسبت به نمونه‌های شاهد نشان داد. این نتایج مؤید آن است که میدان مغناطیسی ایستا می تواند در سیستم دفاعی آنتی اکسیدان اختلال ایجاد کند و باعث ایجاد استرس اکسیداتیو در گیاه گردد. در گیاهان تیمار شده با میدان مغناطیسی، کاهش محتوای فلاوونویید و کاهش فعالیت آنزیمهای جاروب کننده گونه های فعال اکسیژن و رادیکال های آزاد سبب تغییر عملکردهای حیاتی سلول می‌شود.

واژه های کلیدی : استرس اکسیداتیو، باقلا، محتوای فلاوونوییدی، میدان مغناطیسی ایستا

www.SID.ir

Archive OF SID

مقدمه

در جوامع پیشرفته امروزی، انسان ها و گیاهان در معرض میدان های مغناطیسی(MF) هستند، که معمولاً توسط خطوط انتقال برق فشار قوی و بسیاری از دستگاه های الکتریکی ایجاد می شود. یکی از مسائل امروز این است که آیا میدان مغناطیسی می تواند بر سیستم های زیستی اثر داشته باشد (۲و۱).

تأثیر میدان های الکتریکی، الکترومغناطیسی و میدان های مغناطیسی ایستا بر سلولها و بافت های گیاهان و انسان در آزمایشگاه و در محیط به طور قابل ملاحظه ای مورد توجه است (۲). در گزارشی نشان داده شد که تجمع آلانین در گیاهان در پاسخ به شرایط استرس زا، همانند میدانهای مغناطیسی سینوسی متغیر(SVMF, Sinusoidally varying magnetic fields) افزایش می یابد. بعلاوه نشان داده شد که اضافه کردن ویتامین C (یک جاروب کننده رادیکال آزاد)، تولید آلانین را تا ۸۲٪ کاهش می دهد، که نشان از نقش رادیکالهای آزاد در این فرایند دارد. پیشنهاد می شود که تشدید تولید آلانین و تجمع آن درهنگام استرس اولین سیگنال است(۳).

در مطالعات انجام شده بر روی اپی کوتیل های گیاه نخود، فشاراسمزی شیره سلولی در میدان مغناطیسی با شدت ۰/۵ میلی تسلا، به طور معنی‌داری بالاتر از شرایط کنترل بود(۵, ٤). در یک مطالعه آزمایشگاهی، بذرهای گیاه کاهو در میدان مغناطیسی ۱۰ میلی تسلا، افزایش عمده ای در سرعت جذب آب نشان دادند. محققین نتیجه گرفتند که میدان مغناطیسی روابط آبی را در دانه تغییر می‌دهد و این اثر ممکن است تغییر در سرعت جوانه زنی بذرهای تحت تیمار با میدان مغناطیسی را تا حدی توجیه کند (۱,۲). مطالعه خصوصیات تنفسی دانه رست های گیاه جو تحت تیمار با میدان مغناطیسی با شدت ۱۰ میلی تسلا نشان داد که شدت و میزان خروج CO_2 در شرایط تیمار حدود ۷۰ تا ۱۰۰ درصد افزایش می یابد (۲). شواهدی وجود دارد که میدان مغناطیسی منجر به کاهش در محتوای پیگمان های فتوسنتزی (کلروفیل a وb) در برگهای لوبیا شده است (۲).

بعضی گزارش ها نشان داده است که میدان های مغناطیسی سبب استرس اکسیداتیو می شوند(۱,۵,٦). استرس اکسیداتیو حالت فیزیولوژیک است که در آن مقدار گونه های فعال اکسیژن (ROS, Reactive Oxygen Species) افزایش می‌یابد و به آسیب سلولی و تغییر عملکردهای حیاتی منجر می شود. مقدار اضافی رادیکال های آزاد اکسیژن سبب پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود. استرس اکسیداتیو در تعدادی از بیماری ها مانند سرطان و... دخالت دارد.

گونه های فعال اکسیژن و رادیکال های آزاد موجب تغییر در فعالیت آنزیم‌ها، تغییر بیان ژن و اثر بر ساختمان غشاها و همچنین آسیب DNA می‌شوند(٦,۷). اکثر مطالعاتی که در خصوص تأثیر میدان مغناطیسی انجام شده‌است، بر این موضوع تأکید دارد که آیا اساساً میدان های الکترومغناطیسی آثار مضر یا مفیدی بر روی سلامتی انسان دارند؛ (۸)

رادیکال های آزاد به عنوان حد واسط در متابولیسم تولید می شوند و ممکن است به لیپیدها، پروتئین ها و DNA حمله کنند. رادیکال های آزاد معمولاً حیاتی کوتاه ($<10^{-3}S$) دارند و توسط واکنش با دیگر رادیکال ها از بین می روند و یا توسط واکنش با مولکول ها رادیکال آزاد جدیدی

www.SID.ir

Archive OF SID

تولید می‌کنند.

میدان‌های مغناطیسی بیشتر از ۱ میلی تسلا (mT) می توانند در واکنش‌های شیمیایی و بعضی آنزیم های حاوی حد واسط جفت رادیکالی تأثیر بگذارند (۹). آنزیمهایی که از ویتامین B_{12} به عنوان کوفاکتور استفاده می‌کنند، نظیر ethanolamine ammonialyase، همچنین برخی آنزیمهای مهم شرکت کننده در واکنش های اکسیداسیون احیا، نظیر Cytochrome p-450 , FAD- and (4Fe-4S)-containing 4-hydroxybutyryl-CoA dehydratase, pyruvate:ferrodoxin oxidoreductase, ATP-dependent benzoyl-CoA reductase ، از جمله این آنزیمها هستند .(۱۰,۱۱)

رادیکال های آزاد مانند سوپراکسید($O^{\cdot}_2{}^-$)، نیتریک اکسید ($NO^{\cdot}$)، هیدرو پروکسیل($HOO^{\cdot}$) و هیدروکسیل($OH^{\cdot}$) الکترون جفت نشده دارند. رادیکال های آزاد به احتمال زیاد یکی از عوامل آسیب سلولی هستند و بویژه رادیکال های آزاد مشتق شده از اکسیژن آثار شدیدتری دارند. رادیکال ها از نزدیکترین مولکول یا اتم، الکترون می گیرند و موجب آسیب و ناپایداری آن ها می شوند. در ارگانیسم هایی که برای تنفس سلولی اکسیژن مصرف می کنند، آنزیم ها رادیکال های آزاد را به گونه های خنثی تبدیل می کنند.

وقتی گیاهان در معرض استرس قرار می گیرند، مقدار زیادی گونه های فعال اکسیژن، مانند سوپراکسید آنیون ($O^{\cdot}_2{}^-$)، رادیکال هیدروکسیل ($OH^{\cdot}$) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) تولید می کنند. گیاهان برای از بین بردن این گونه های فعال، دارای سیستم های دفاع آنزیمی، همانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) هستند. اثر استرس‌های محیطی در گیاهان از طریق تغییر در فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان مشخص شده است . (۱۲,۱۳)

هدف مطالعه حاضر مشخص کردن تأثیر میدان مغناطیسی ایستا (میدان مغناطیسی) بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، میزان پراکسیداسیون لیپید غشا و محتوای فلاونوییدها (جمع کنندهٔ غیر آنزیمی رادیکال های آزاد) در ریشه گیاه باقلاست. بررسی در این زمینه می تواند به ارائه راهکارهایی جهت تعریف استانداردهای زیستی در خصوص ارزیابی میزان خطر این میدان ها منتهی گردد. همچنین ممکن است به بهبود دانش عمومی در مورد مکانیسم‌های پاسخ سیستم های زنده به میدان‌های مغناطیسی کمک کند.

مواد و روش ها

بذرهای باقلا (به عنوان یک گیاه مدل با رشد سریع) در خاک گلدان کاشته شدند . تعدادی از گلدان ها از روز دوم تحت تأثیر میدان مغناطیسی ایستا و تعدادی از گلدان ها نیز به عنوان کنترل در محیطی که از نظر عوامل محیطی مشابه محیط قبلی بود، ولی بدون حضور میدان در نظر گرفته شدند. در محیط زندگی ما میدان های مغناطیسی با فرکانس بسیار ضعیف در دامنه شدت ۰/۰۱ تا ۱mT متغیر است. شدت در نزدیک خطوط انتقال نیرو به mT ۱۰ و ۳۰mT می‌رسد (۱٤). شدت میدان استفاده شده در تحقیق حاضر ۱۵ میلی تسلا؛ یعنی در حد متوسط مقادیر فوق بود.جوانه زنی بذرهای کاشته شده در گلدان در معرض میدان مغناطیسی ایستا با شدت ۱۵ میلی تسلا از روز سوم کاشت آغاز شد که در مقایسه با گروه شاهد با یک روز تأخیر همراه بود.

www.SID.ir

Archive OF SID

گیاهان حاصل برای هفت روز دیگر، روزانه به مدت ۸ ساعت به طور پیوسته در معرض این میدان قرار گرفتند. تأثیر بازدارنده میدانهای ایستا با شدتهای ۱۰و ۳۰ میلی تسلا بر فعالیت انزیمهای آنتی اکسیدان در ریشه گیاه نخود و نیز در سلولهای جداکشت توتون در کشت تعلیقی مطالعه شده است (۵,۱٤). تأثیر میدان مغناطیسی بر فعالیت سیستم آنتی اکسیدان در ریشه نخود بارزتر از تأثیر آن بر اندام هوایی بود که احتمالا به تأثیر میدان بر جذب آب و تغییر روابط آبی بر می‌گردد. کاهش فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان در توتون، در کشت تعلیقی در تیماربا میدان ۳۰ میلی تسلایی بسیار بالاتر از کاهش فعالیت آنها در تیمار ۱۰ میلی تسلایی بود؟ با شدت ۱۵ میلی تسلا قرار گرفتند (۵,۱٤). به همین علت، در تحقیق حاضرتأثیر میدان مغناطیسی بر فعالیت سیستم آنتی اکسیدان در ریشه گیاه بررسی شد.

دستگاه مولد میدان مغناطیسی ایستا

دستگاه تولید میدان مغناطیسی ایستا با توان یک کیلو وات و ماکزیمم جریان عبوری ۵۰ آمپر و قابلیت تولید میدان مغناطیسی مستقیم تا ۳۰ میلی تسلا (شدت بهینه شده ۲۵ میلی تسلا) است. یک یکسو کننده متصل به دستگاه جریان الکتریسیته یکسویی با بیشینه ۳۰ آمپر را برای دستگاه فراهم می‌کند. براساس منحنی کالیبراسیون به دست آمده برای ایجاد یک میدان مغناطیسی به شدت۱۵mT، جریان معادل ۸ آمپر از مدار عبور داده شد.

هنگام روشن بودن دستگاه و تولید میدان مغناطیسی دمای دستگاه افزایش پیدا می کند و این دما ممکن است بر نمونه ها و دستگاه تأثیر سوء داشته باشد و آزمایش را از حالت کنترل خارج کند. بدین منظور، لوله ای مسی حاوی جریانی از آب برای کاهش دما تعبیه گردیده که اطراف سیم پیچ ها را می پوشاند و با جریان یافتن آب در داخل لوله ها، دمای دستگاه افزایش نمی یابد.

گلدان ها به مدت هشت روز و هر روز ۸ ساعت در میدان مغناطیسی ایستا قرار گرفتند. سپس ریشه ها با نیتروژن مایع تثبیت و در فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد برای استفاده در آنالیزهای بیوشیمیایی نگهداری شدند.

آنالیزهای بیوشیمیایی

به منظور انجام آنالیزهای بیوشیمیایی، نظیر سنجش فعالیت آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (PO) و غیره از نمونه های منجمد شده ریشه استفاده گردید. در کلیه موارد، پروتئین با روش برادفورد با استفاده از آلبومین سرم گاوی (BSA) به عنوان استاندارد (در محدوده غلظت های ۲۵ تا ۱۰۰ میکروگرم در ۱۰۰ میکرولیتر) اندازه گیری شد(۱٤). همهٔ مراحل استخراج دردمای ٤-۰ درجه سانتیگراد انجام شد.

استخراج و سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

برای این کار ۰/۲ گرم نمونه منجمد شده ریشه در ۳ میلی لیتر بافر HEPES-KOH ۵۰ میلی مولار با pH =۷/۸ حاوی EDTA ۰/۱ میلی مولار عصاره گیری شد. سوسپانسیون حاصل در g ×۱۵۰۰۰ ، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتیگراد سانتریفوژ شد. بخش رو شناور حاصل برای سنجش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز استفاده شد. ترکیب واکنش در حجم نهایی ۳ میلی لیتر شامل موارد زیر بود:

www.SID.ir

Archive OF SID

بافر HEPES-KOH ۵۰ میلی مولار با pH=۷/۸ حاوی ۰/۱ میلی مولار EDTA، Na_2CO_3 ۵۰ میلی مولار با pH =۱۰/۲، L-methionine ۱۲ میلی مولار، Tetrazolium Blue Nitro (NBT) ۷۵ میکرومولار، riboflavin ۱ میکرومولار و عصاره آنزیمی به مقدار مناسب.

یک واحد فعالیت SOD مقدار آنزیمی در نظر گرفته می شود که به ۵۰ درصد مهار احیای نیترو بلو تترازولیوم (NBT) در ۵۶۰ nm منجر می گردد (۱۶) و به نسبت میلی گرم پروتئین عصاره گیاهی بیان می‌شود. جذب محلول واکنش با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Cintra6 GBC ساخت استرالیا اندازه گیری شد.

استخراج و سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

۰/۲ گرم نمونه منجمد شده ریشه در ۳ میلی لیتر بافر Na-Phosphate ۲۵ میلی مولار با pH=۶/۸ عصاره‌گیری شد. سوسپانسیون حاصل در g ×۱۵۰۰۰، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتیگراد سانتریفوژ شد. از بخش رو شناور برای سنجش فعالیت کاتالاز استفاده گردید. ترکیب واکنش در حجم نهایی ۳ میلی لیتر شامل موارد زیر بود:

بافر Na-Phosphate ۲۵ میلی مولار با pH= ۶/۸، H_2O_2 ۱۰ میلی مولار و عصاره آنزیمی به مقدار مناسب.

فعالیت آنزیمی با اندازه گیری میزان تجزیه H_2O_2 به صورت کاهش جذب در طول موج ۲٤۰ nm و به ازای هر میلی گرم پروتئین در عصاره آنزیمی محاسبه شد(۱۷).

استخراج و سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز(PO)

نمونه های منجمد شده ریشه به میزان ۰/۲ گرم در ۳ میلی لیتر بافر Na-Phosphate ۶۰ میلی مولار با pH =۶/۱ عصاره گیری شدند. سوسپانسیون حاصل در g ×۱۵۰۰۰ ، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتیگراد سانتریفوژ شدند.

از بخش رو شناور برای اندازه گیری فعالیت پراکسیداز استفاده گردید. ترکیب واکنش در حجم نهایی ۳ میلی لیتر شامل موارد زیر بود:

بافر Na-Phosphate ۶۰ میلی مولار با pH= ۶/۱، Guaiacol ۲۸ میلی مولار، H_2O_2 ۵ میلی مولار و عصاره آنزیمی به مقدار مناسب.

فعالیت آنزیمی به صورت افزایش جذب در طول موج ٤۷۰nm در دقیقه به ازای هر میلی گرم پروتئین نمونه محاسبه گردید (۱۸).

استخراج و سنجش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (PPO)

نمونه های منجمد شده ریشه به میزان ۰/۲ گرم در ۳ میلی لیتر بافر Na-Phosphate ۱۰۰ میلی مولار با pH= ۶/۸ عصاره گیری شدند. سوسپانسیون حاصل در g ×۱۵۰۰۰ ، به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتیگراد سانتریفوژ شدند (۱۹).

به بخش رو شناور بافر ۱۰۰Na-phosphate میلی مولار با PH= ۶/۵ و٤-methylcatecol تازه با غلظت نهایی ۰/۰۲ M اضافه شد.

فعالیت آنزیمی به صورت افزایش جذب در طول موج ٤۱۰nm در دقیقه به ازای هر میلی گرم پروتئین نمونه محاسبه گردید.

www.SID.ir

Archive OF SID

استخراج و سنجش محتوای فلاونوئید

نمونه های منجمد شده ریشه به میزان ۰/۱ گرم در ۱۰ میلی لیتر اتیل الکل: استیک اسید (۹۹:۱,v:v) عصاره گیری شدند. سپس لوله های آزمایش به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۸۰ درجه سانتیگراد قرار گرفتند و سپس سرد شدند. آنگاه جذب آن ها در طول موج های ۲۷۰ و ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر UV-VIS اندازه گیری شد. محتوای فلاوونوئید با استفاده از ضریب خاموشی $۳۳۰۰۰ \ cm^{-1}M^{-1}$ محاسبه گردید (۲۰) .

تعیین پراکسیداسیون لیپیدهای غشا (LPO)

این آزمایش با استفاده از اندازه گیری مالون دی آلدئید (MDA)، به عنوان فراوردهٔ نهایی پراکسیداسیون لیپید غشا انجام شد. نمونه‌های منجمد شده ریشه به میزان ۰/۵ گرم در ۳ میلی لیتر TCA (Trichloroacetic Acid) ۱۰ درصد عصاره گیری شدند. به ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون صاف شده ۱ میلی لیتر TBA (Thiobarbituric Acid) ۰/۵ درصد اضافه شده و در حمام آبگرم ۱۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه قرارگرفت. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه، لوله ها از حمام خارج شدند و پس از سرد شدن میزان MDA با اندازه‌گیری جذب در طول موج های ۵۳۲ nm و ٦۰۰ nm با استفاده از ضریب ثابت ($\varepsilon = ۱۵۵ \ mM^{-۱}cm^{-۱}$) محاسبه گردید (۷).

روش های آماری

کلیه آنالیزهای بیوشیمیایی فوق با سه بار تکرار مستقل و هر یک حداقل با سه نمونه صورت گرفت. برای تمام داده‌ها میانگین و انحراف معیار (SD) محاسبه شد. معنی دار بودن یافته های حاصل با استفاده از t.Test در سطح $P \leq 0/05$ ارزیابی شد.

نتایج

همان گونه که اشاره شد، جوانه زنی بذرهای کاشته شده در گلدان در معرض میدان مغناطیسی ایستا با شدت ۱۵ میلی تسلا از روز سوم کاشت آغاز شد که در مقایسه با گروه شاهد با یک روز تأخیر همراه بود.

فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در ریشه گیاهان هر دو گروه شاهد و تیمار شده با میدان مغناطیسی اندازه گیری شد. در گیاهان کاشته شده در گلدان در معرض میدان مغناطیسی ایستا در مقایسه با گروه شاهد، فعالیت آنزیم SOD به طور قابل توجهی بیشتر از گیاهان شاهد بود (شکل ۱).

در شدت mT ۱۵ در مقایسه با گروه شاهد فعالیت آنزیم CAT در گیاه باقلا کاهش یافته بود. البته، این کاهش در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی داری را نشان نمی داد (شکل ۲).

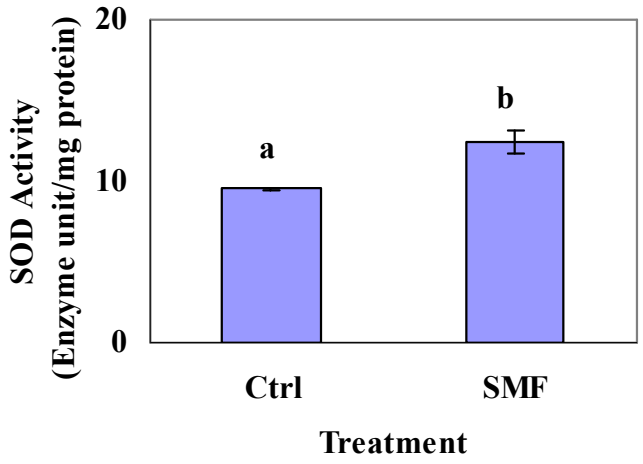
سنجش فعالیت آنزیمهای پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز نشان داد که در تیمار گیاهان با میدان مغناطیسی ایستا فعالیت پراکسیداز (PO) و پلی فنل اکسیداز (PPO) نسبت به گروه شاهد کاهش یافته است (شکل ٤ و ۳).

محتوای فلاوونویید کل در گیاهان تیمار شده با میدان مغناطیسی به طور معنی داری کمتر از گروه کنترل بود (شکل ۵). همان گونه که در قسمت روشها توضیح داده شد، میزان پراکسیداسیون لیپید توسط تشکیل مالون دی آلدئید(MDA) (محصول نهایی پراکسیداسیون لیپید غشا) در روش (TBA) Thiobarbituric Acid تخمین زده شد.

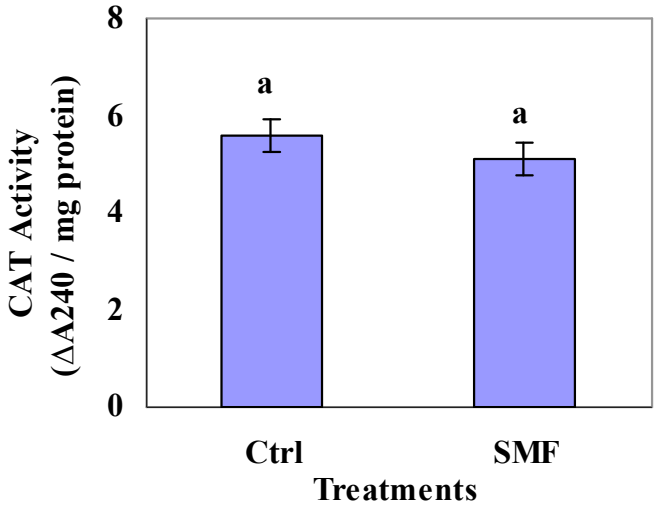
www.SID.ir

Archive OF SID

همان گونه که در قسمت روشها توضیح داده شد، میزان پراکسیداسیون لیپید توسط تشکیل مالون دی آلدئید (MDA) (محصول نهایی پراکسیداسیون لیپید غشا) در روش Thiobarbituric (TBA) Acid تخمین زده شد. نتایج به دست آمده افزایش معنی داری در میزان تولید مالون دی‌آلدئید(MDA) را در ریشه گیاه باقلای در معرض میدان مغناطیسی در مقایسه با گروه شاهد نشان داد (شکل٦). این نتایج نشان می دهد که اعمال میدان ایستا با شدت ۱۵ میلی تسلا سبب ایجاد استرس اکسیداتیو شده، با ایجاد رادیکالهای آزاد سبب پراکسیداسیون لیپید های غشا در گیاه باقلا می شود.



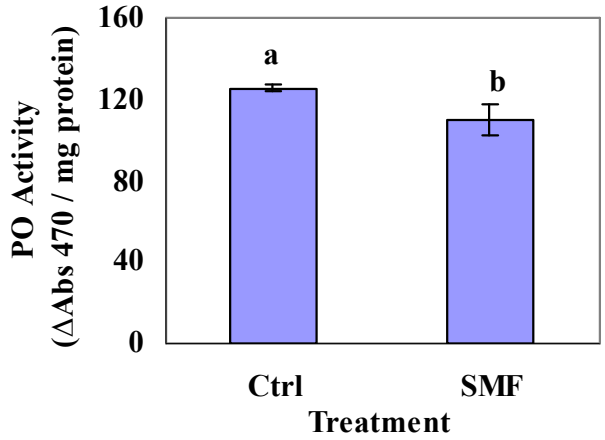
شکل ۱) تغییر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در ریشه گیاه باقلا در اثر میدان مغناطیسی ایستا. داده ها حاصل میانگین حداقل سه تکرار مستقل هستند. خطوط عمودی نشان دهنده انحراف معیار است. حروف غیر یکسان نماینده معنی داربودن تفاوت در سطح $P<0/05$ است.



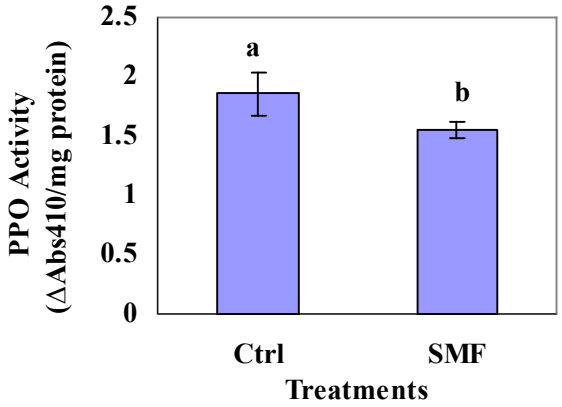
شکل ۲) تغییر فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) در ریشه گیاه باقلا در اثر میدان مغناطیسی ایستا. داده ها حاصل میانگین حداقل سه تکرار مستقل هستند. خطوط عمودی نشان دهندهٔ انحراف معیار است. حروف غیر یکسان نماینده معنی‌دار بودن تفاوت در سطح $P<0/05$ است.

www.SID.ir

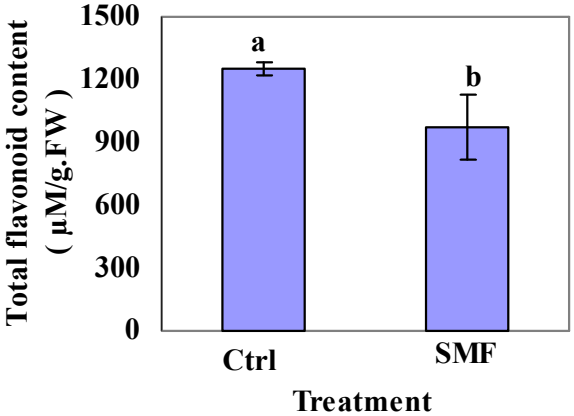
Archive OF SID



شکل ۳) تغییر فعالیت آنزیم پراکسیداز (PO) در ریشه گیاه باقلا در اثر میدان مغناطیسی ایستا. داده‌ها حاصل میانگین حداقل سه تکرار مستقل هستند. خطوط عمودی نشان دهندهٔ انحراف معیار است. حروف غیر یکسان نماینده معنی‌دار بودن تفاوت در سطح P<0/05 است.



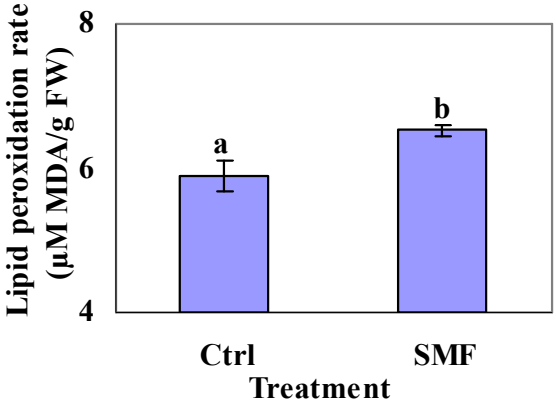
شکل ٤) تغییر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (PPO) در ریشه گیاه باقلا در اثر میدان مغناطیسی ایستا. داده‌ها حاصل میانگین حداقل سه تکرار مستقل هستند. خطوط عمودی نشان دهندهٔ انحراف معیار است. حروف غیر یکسان نماینده معنی‌دار بودن تفاوت در سطح P<0/05 است.



شکل ٥) تغییر محتوای فلاوونویید در ریشه گیاه باقلا در اثر میدان مغناطیسی ایستا. داده‌ها حاصل میانگین حداقل سه تکرار مستقل هستند. خطوط عمودی نشان دهندهٔ انحراف معیار است. حروف غیر یکسان نماینده معنی‌دار بودن تفاوت در سطح P<0/05 است.

www.SID.ir

Archive OF SID



شکل٦) پراکسیداسیون غشای ریشه گیاه باقلا در اثر میدان مغناطیسی ایستا. داده‌ها حاصل میانگین حداقل سه تکرار مستقل هستند. خطوط عمودی نشان دهندهٔ انحراف معیار است. حروف غیر یکسان نماینده معنی‌دار بودن تفاوت در سطح $P<0/05$ است.

بحث و نتیجه گیری

در محیط زندگی ما میدان‌های مغناطیسی با فرکانس بسیار ضعیف با دامنه شدت ۰/۰۱ تا ۱mT وجود دارد و شدت در نزدیک خطوط انتقال به ۱۰mT و ۳۰mT می رسد. بیشترین موارد قرار گرفتن در معرض میدانهای مغناطیسی در ارتباط با حرفه و شغل است (۲۱,۲۲).

در تحقیق حاضراز گیاه باقلا (*Vicia Faba* L.) به عنوان مدلی برای ارزیابی سیستم های دفاعی آنتی اکسیدان توسط اندازه گیری فعالیت آنزیمهای SOD و CAT و PPO و PO و سرعت پراکسیداسیون لیپیدهای غشا استفاده شده است. همچنین تغییر در محتوای فلاوونوییدها به عنوان یک جمع کننده غیر آنزیمی برای ROS و سایر رادیکالهای آزاد اندازه گیری شده است.

اثر میدانهای مغناطیسی بر فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان، شامل پراکسیداز ، پلی فنل اکسیداز ، سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز در سلولهای گیاهی مطالعه شده و نشان داده است که نظیر جانوران و انسان(۲۳,۲٤) در سلولهای گیاهی نیز میدان مغناطیسی می تواند بر سیستم آنتی اکسیدان و افزایش فعالیت رادیکالهای آزاد در سلول تأثیر بگذارد .(۱٤,۲۵) با پیشرفت‌های موجود کاربردهای میدان‌های مغناطیسی در حال افزایش است؛ حال آن که آثار این میدان ها بر ساختارهای زیستی، بویژه در سطوح سلولی هنوز دقیقاً مشخص نشده است. از طرفی، مطالعات اندکی در خصوص چگونگی تأثیر این میدان ها بر عملکرد و پاسخ سلول های گیاهی انجام شده است.

تأثیر میدان مغناطیسی بر واکنش‌های آنزیمی به کمک مکانیسم های جفت رادیکالی تفسیر شده است(۹,۱۰,۱۱). سلول باید به طور طبیعی رادیکال‌های آزاد را با مکانیسم دفاعی آنتی اکسیدان کنترل نماید. بر اثر افزایش تولید رادیکال آزاد ممکن است تعادل بین اکسیدانها و آنتی اکسیدانها به هم خورده، موجب کاهش درفعالیت آنتی اکسیدانها شود. شواهد زیادی حاکی از آن است که افزایش ROS از طریق تخریب آنتی اکسیدانها یا دیگر فرایندهای ثانویه، مانند پراکسیداسیون لیپید ایجاد شده است. تولید لیپیدهای پراکسید شده، مانند مالون دی آلدئید به عنوان نشان دهندهٔ استرس اکسیداتیو در سیستم زیستی شناخته شده است (۲۳).

www.SID.ir

Archive OF SID

گیاهان دارای چندین آنزیم آنتی اکسیدان هستند. یکی از این آنزیم ها SOD از خانواده متالوآنزیمهاست، که نقش مهمی در حفاظت در برابر رادیکال های آزاد توسط کاتالیز و دسموتاسیون آنیون سوپراکسید به اکسیژن و پراکسید هیدروژن ایفا می‌کند (۱۲).

$$2O\cdot^{-} + 2H^{+} \xrightarrow{SOD} O_2 + H_2O_2$$

به علت آنکه سوپراکسید اولین محصول احیای اکسیژن است، فعالیت آنزیمSOD به عنوان مکانیسم اولیه دفاعی سلول در مقابل رادیکال های اکسیژن شناخته شده است (۱۲, ۲٦).

محصول واکنشSOD، پراکسید هیدروژن، نیاز به سمیت زدایی بیشتر دارد. اگر چه همه آنزیم های جاروب کننده H_2O_2 تحت شرایط طبیعی برای بقای سلول به صورت هماهنگ و تعاونی عمل می‌کنند (۱۳)، در میان آنزیم‌های جاروب کننده ROS، آنزیم CAT احتمالا آنزیم اصلی حذف H_2O_2 است (۲۷).

افزایش فعالیت SOD در سلول‌ها تولید بیش از حد H_2O_2 را به همراه دارد. بدین منظور آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی یا آنزیم‌های جاروب کننده مانند کاتالازها و پراکسیدازها در حذف H_2O_2 عمل می‌کنند. از طرفی، افزایش فعالیت SOD به تنهایی باعث افزایش گونه های فعال می‌شود و برای سلول کشنده است. احتمالا این امر به علت تسریع تولید و تجمع H_2O_2 و متعاقب آن تولید بیش از حد $OH^{\cdot}$ توسط فلز کاتالیز کننده واکنش Haber-weiss یا فنتون است (۲۸).

افزایش فعالیت آنزیم SOD (شکل۱) و کاهش فعالیت آنزیم CAT (شکل۲) و نیز افزایش سطح پراکسیداسیون لیپید (شکل٦) در گروه تیمار۱۵ mT نسبت به گروه کنترل ممکن است نشان دهنده اختلال در مکانیسم های آنتی اکسیدان باشد که خنثی کننده رادیکال آزاد هستند. این نتایج موید یافته های تحقیقات قبلی در مورد تأثیر میدانهای مغناطیسی بر سیستم آنتی اکسیدان گیاهان (۲۹ ,۵,۱٤) است و پیشنهاد می کند که تحت شرایط ویژه ای عمل غیر هماهنگ آنزیم های آنتی اکسیدان باعث کاهش مقاومت دربرابر استرس اکسیداتیو و کاهش طول عمر در سلولهای گیاهان می شود. اثر سمیت زدایی گونه های فعال اکسیژن ، با عمل هماهنگ SOD و CAT اتفاق می افتد. در مطالعه حاضر، فعالیت SOD به علت تأثیر میدانهای مغناطیسی افزایش و فعالیت CAT کاهش یافته است. چنین روندی می‌تواند عملکرد غیر طبیعی سیستم آنتی اکسیدان توسط میدانهای مغناطیسی را نشان دهد (۲۹).

عمل غیر هماهنگ آنزیم های آنتی اکسیدان باعث افزایش آثار زیان آور H_2O_2، افزایش خطر تشکیل $OH^{\cdot}$ و کاهش زنده ماندن و تسریع ظهور علایم پیری می گردد (۲۹ ,۲۵). در نتیجه، چنین به نظر می رسد که گیاه باقلا در معرض میدان مغناطیسی ممکن است به طور مؤثری سوپراکسید را متابولیزه کند، اما از حذف پراکسید هیدروژن ناتوان است. شواهد آزمایشگاهی نشان می دهند که واکنش‌های پراکسیداسیون لیپید غشا نقش مهمی در آسیب سلولی وابسته به رادیکال آزاد ایجاد می کنند. برای مثال، نشان داده شده است که پراکسیداسیون لیپید غشاهای زیستی به تغییرات ساختمانی منجر می‌شود. همچنین $OH^{\cdot}$ یا $O^{\cdot}\times_2^{-}$ با اسیدهای چرب غیر اشباع واکنش داده، موجب تشکیل رادیکال اسید چرب می شوند. رادیکال اسید چرب با O_2 واکنش می دهد و رادیکال اسید چرب پروکسی شکل می‌گیرد. این رادیکال می تواند با دیگر لیپیدها و یا پروتئینها واکنش دهد (۳۰) .

www.SID.ir

Archive OF SID

افزایش سطح مالون دی‌آلدئید (شکل٦) در این مطالعه بیانگر افزایش پراکسیداسیون لیپید توسط میدان‌های مغناطیسی است. افزایش پراکسیداسیون لیپید غشا می‌تواند دلیلی بر تجمع H_2O_2 و افزایش گونه‌های فعال اکسیژن دیگر در گیاه باقلا به وسیله میدان مغناطیسی باشد.

این نتایج در تطابق با مطالعات قبلی (۵,۱٤, ۲۹) تأکید می کند که میدان مغناطیسی با شدت ۱۵mT استرس اکسیداتیو ناشی از رادیکال های آزاد ایجاد می کند و باعث تشدید پراکسیداسیون لیپید می‌شود. افزایش میزان پراکسیداسیون لیپید غشا همچنین نشان می دهد که سیستم دفاعی آنتی اکسیدان از توان کافی برای حفاظت غشا در برابر آثار رادیکال‌های آزاد برخوردار نیست.

علاوه بر CAT، آنزیم پراکسیداز (PO) نیز در از بین بردن H_2O_2 نقش دارد (۱۳). بنابراین، کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تأثیر میدان مغناطیسی ایستا نیز نشان دهندهٔ تجمع H_2O_2 و کاهش توان سیستم دفاعی گیاه است.

فلاوونوییدها گروهی از ترکیبات طبیعی موجود در گیاهان هستند که دارای آثار دارویی، مانند فعالیت آنتی اکسیدانتی هستند (۲۰,۳۱). پلی فنل اکسیداز یکی از آنزیم های اصلی در مسیر بیوسنتز فلاوونوییدهاست که در اکسیداسیون ارتودی فنل به کینون و اکسیداسیون و پلیمریزاسیون پلی فنل ها نقش دارند (۱۹,۲۰,۳۲). کاهش محتوای فلاونوییدی در ریشه‌های باقلا تحت تأثیر میدان مغناطیسی (شکل ۵) می‌تواند نتیجه ای از کاهش فعالیت پلی فنل اکسیداز (شکل٤) باشد که به نوبه خود باعث کاهش بیشتر قابلیت جاروب کنندگی ROS در گیاهان شده است.

Refrecencs

A. Aladjadjiyan, Study of the influence of magnetic field on some biological characteristics of Zea mays. J, Central European Agr. 3 (2):89-94 (2002).

N. A. Belyavskaya, , Biological effects due to weak magnetic field of plants. Advances in Space Research, 34: 1566 – 1574 (2004).

E. B. Monselse, A. H. Parola, D. Kost, Low –frequency electromagnetic fields induce a stress effect upon higher plants, as evident by the universal stress signal, alanine. Biochemical and Biophysical Research Communications 302: 427-434 (2003).

Evaluation Of Antioxidative Parameters In Roots And Shoots Of Pea Plant (Cicer Arietinum L.) In Response To Static Magnetic Field Stress, Botany and plant Biology, 2007 joint congress, July 7-11, 2007 Hilton Chicago Chicago, Illinois

H. Kabuto, I. Yokoi, N. Ogawa, A. Mori, R. P. Liburdy. Effects of magnetic fields on the accumulation of thiobarbituric acid reactive substances induced by iron salt and H_2O_2 in mouse brain homogenates or phosphotidylcholine , Pathophysiology 7: 283-288 (2001).

C. De Vos, H. Schat, M. De Waal, R. Vooijs, W. Ernst, Increased copper -induced damage of the root plasma membrane in copper tolerant *silene cucubalus*, Plant Physiol. 82: 523-528 (1991).

W. R. Hendee, The question of health effects from exposure to ELF, Health Physics 66: 127-136 (1994).

www.SID.ir

Archive OF SID

W. R. Hendee, The question of health effects from exposure to ELF, Health Physics 66: 127-136 (1994).

J. C. Scaiano, F. L. Cozens, J. Mclean, Model for the rationalization of magnetic field effects *in vivo*. Application of the radical – pair mechanism to biological systems, Photochemistry and photobiology, 59: 585-89 (1994).

VV. Lednev, Possible mechanism for the influence of weak magnetic fields on biological systems. Bioelectromagnetics) 12(2): 71 – 75 (1991).

M. Blank, L. Soo, V. Papstein, Effects of low frequency magnetic fields on Na, K-ATPase activity .Bioelectrochemistry and bioenergetics 38: 267-273 (1995).

N. Sreenivasulu, B. Grimm, U. Wobus, W. Weschke, Differential response of antioxidant compounds to salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive seedlings of foxtail millet (*Setaria italica*), Physiol. Plant. 109: 435 (2000).

C. Michiels, M. Raes, O. Toussaint, J. Remacle, Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress, Free Radic. Biol. Med. 17: 235 (1994).

H. Sahebjamei, P. Abdolmaleki, F. Ghanati, Effects of magnetic field on the antioxidant enzyme activities of suspension-cultured tobacco cells, Bioelectromagnetics 28: 42-47 (2007).

M. Bradford, A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, Anal Biochem. 72: 248-254 (1976).

C. Giannopolitis, S. Ries, Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants, Plant Physiol. 59: 309-314 (1977).

I. Cakmak, W. Horst, Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*), Plant Physiol. 83: 463-468 (1991).

H. Fukuda, A. Komamine, Lignin synthesis and its related enzymes as markers of tracheary-element differentiation in single cells isolated from the mesophyll of *Zinnia elegans*, Planta. 155: 423-430 (1982).

Kahn, V. Polyphenol oxidase activity and browning of tree Avocado varieties. J. Sci. Food. Agric. 26: 1319-1324 (1975).

T. Krizek, J. Steven, M. Roman, Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. New Red Fire lettuce, Physiologia plantarum 103: 1 -7 (1998).

http://www.isis.rl.ac.uk/largescale/crisp/documents/SEcontrol/goudsmit_electromagnet.htm

A. Lacy –Hulbert, J. C. Metcalfe , R. Hesketh, Biological responses to electromagnetic fields,FASEB J.12: 395-420 (1998).

Y. M. Moustafa, R. M. Moustafa, A. Belacy, S. H. Abou-EI-Ela, Effects of acute exposure to the radiofrequency fields of cellular phones on plasma lipid peroxide and antioxidase activities in human erythrocytes, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 26: 605-608 (2001).

B. Kula, A. Sobczak, R. Kuska, Effects of Electromagnetic Field on free–radical processes in steelworkers .part I: Magnetic field in-

www.SID.ir

Archive OF SID

fluence on the antioxidant activity in red blood cells and plasma. J. Occup. Health 44: 226-229 (2002).

M. P. Piacentini, D. Fraternale, E. Piatti, D. Ricci, F. Vetrano, Senescence delay and change of antioxidant enzyme levels in *Cucumis sativus* L. etiolated seedling by ELF magnetic fields, Plant Science 16: 145-53 (2001).

J. V. Bannister, W. H. Bannister, G. Rotilio, Aspects of the structure, function, and applications of superoxide dismutase .CRC Crit. Rev. Biochem. 22: 111-180 (1987).

F. Ghanati, A. Morita, H. Yokota, Effects of Aluminum on the Growth of Tea Plant and Activation of Antioxidant System , Plant and Soil 276: 133–141 (2005).

J. P. Spychalla, S. L. Desborough, Superoxide dismutase, catalase, and α - tocopherol content of stored potato tubers, Plant Physiol. 94: 1214-1218 (1990).

E.R. Nanushyan, V.V. Murashov, , Plant merited cell response to stress factors of the geomagnetic field (GMF) fluctuations. In Plant under Environmental Stress. Publishing House of Peoples, Friendship University of Russia, Moscow, pp: 204-205 (2001).

-C. Baker, E. Orlandi, Active oxygen in plant pathogenesis. Annu. Rev. Phytopathol, 33: 299-321 (1995).

M. F. Molina, I. Sanchez-Reus, J. Glesias Ibenedi, Quercetin, a Flavonoid Antioxidant, Prevents and Protects against Ethanol-Induced Oxidative Stress in Mouse Liver. Biol. Pharm. Bull. 26: 1398-1402 (2003).

L. Pourcel, J.M Routaboul., L. Kerhoas, M. Caboche, L. Lepiniec, I. Debeaujon. TRANSPARENT TESTA10 Encodes a Laccase-Like Enzyme Involved in Oxidative Polymerization of Flavonoids in *Arabidopsis* Seed Coat. The Plant Cell 17: 2966-2980 (2005).

www.SID.ir

Archive OF SID

www.SID.ir