



Different Responses of Redox System of *Glycine max* to 20mT and 30mT Static Magnetic Fields

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Shokrollahi S.¹ PhD,
Ghanati F.*¹ PhD,
Hassan Sajedi R.² PhD

How to cite this article

Shokrollahi S, Ghanati F, Hassan Sajedi R. Different Responses of Redox System of *Glycine max* to 20mT and 30mT Static Magnetic Fields. Modares Journal of Biotechnology. 2018;9(4):643-652.

¹Plant Biology Department, Biological Science Faculty, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

²Biochemistry Department, Biological Science Faculty, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

*Correspondence

Address: Tarbiat Modares University, Nasr Bridge, Jalal-Al-Ahmad Highway, Tehran, Iran
Phone: +98 (21) 82884403
Fax: -
ghangia@modares.ac.ir

Article History

Received: October 05, 2016

Accepted: February 1, 2018

ePublished: December 21, 2018

ABSTRACT

Aims As a naturally occurring environmental factor as well as an external factor resulting from burgeoning technology, static magnetic field (SMF) has considerable effects on plants physiology. The effects of SMF on production of reactive oxygen species (ROS) have been shown in plant cells. The aim of the present research was to evaluate the redox system responses of soybean (*Glycine max*) to different intensities of SMF.

Materials & Methods In the present experimental research, M7 soybean seeds in their vegetative phase (14 days) were treated with 20 and 30mT SMF for 4 day, 5 hours daily. The experiments were carried out in a completely randomized design with factorial and at least 3 replications. The data were analyzed by SPSS software, using one-way ANOVA.

Findings The treatment of 30mT resulted in a reduction in fresh weight, total antioxidant activity, and total regenerative capacity and increased hydrogen peroxide, but did not affect the total contents of phenolic compounds and flavonoids. In the treatment of 20mT, the level of peroxide decreased, but the fresh weight, hydroxyl radical level, antioxidant activity, total phenolic compound, and flavonoids contents increased. The amounts of Fe²⁺ decreased in 20mT but increased with 30mT.

Conclusion In the Soybean redox system, SMF of 20mT leads the electrons toward useful redox compounds like phenolic compounds and results in growth stimulation, while SMF of 30mT leads the surplus electrons to destructive compounds such as Fe²⁺, which results in decrease of the plant growth.

Keywords Redox System; Soybean; Static Magnetic Field

CITATION LINKS

[1] Magnetic field effects on plant growth, development, and ... [2] Effects of low-intensity AC and/or DC electromagnetic fields on cell attachment and induction of ... [3] Redox signals as a language of interorganellar communication in plant ... [4] Oxidative metabolism, ROS and NO under oxygen ... [5] The cellular redox state in plant stress biology--a charging ... [6] Effect of magnetic field on peroxidase activation and isozyme ... [7] Effects of magnetic field on the antioxidant enzyme activities of suspension-cultured tobacco ... [8] Effects of a 60 Hz magnetic field on photosynthetic CO₂ uptake and early growth of ... [9] Alternating magnetic field effects on yield and plant nutrient element composition of strawberry ... [10] Study of stationary magnetic fields on initial growth of pea ... [11] Exposure of seeds to static magnetic field enhances germination and early growth characteristics in chickpea ... [12] Increase of seed germination, growth and membrane integrity of wheat seedlings by exposure to static and a 10-KHz ... [13] Antioxidant capacity of parsley cells (*Petroselinum crispum* L.) in relation to iron-induced ferritin levels and static ... [14] The water-culture method for growing plants ... [15] Colorimetric method for determination of sugars and related ... [16] Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in ... [17] Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: Protective role of ... [18] Evidence for a primary role of active oxygen species in induction of host cell death during infection of bean leaves with *Botrytis* ... [19] Growth promotion and a decrease of oxidative stress in maize seedlings by a combination of geomagnetic and weak ... [20] A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of ... [21] Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of ... [22] Peroxidase activity, lignification and promotion of cell death in tobacco cells exposed to ... [23] Changes in anthocyanin and phenolics content of grapevine leaf and fruit tissues treated with sucrose, nitrate, and ... [24] Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth ... [25] Studies on products of browning reaction--antioxidative activities of products of browning reaction prepared from ... [26] A new technique of plant analysis to resolve iron ...

پاسخ‌های متفاوت سیستم ردوکس گیاه سویا به میدان‌های مغناطیسی ایستای ۲۰ و ۳۰ میلی‌تسلا

سازش شکرالهی PhD

گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

فائزه قناتی PhD

گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

رضا حسن‌ساجدی PhD

گروه بیوشیمی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

چکیده

اهداف: میدان‌های مغناطیسی ایستا (SMF) به‌عنوان یک عامل طبیعی محیطی و نیز عامل خارجی حاصل از پیشرفت تکنولوژی تأثیرات قابل ملاحظه‌ای بر فیزیولوژی گیاهان دارند. تأثیر این میدان‌ها بر تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در سلول گیاهی مشخص شده است. پژوهش حاضر با هدف بررسی الگوی پاسخ سیستم ردوکس سویا (*Glycine max*) به دو شدت مختلف میدان مغناطیسی ۲۰ و ۳۰ میلی‌تسلا و تعیین سرنوشت جریان الکترون در این میدان‌ها انجام شد.

مواد و روش‌ها: در مطالعه تجربی حاضر بذره‌های گیاه سویا رقم M7 در فاز رویشی (۴روزه) به‌مدت چهار روز، روزانه ۵ ساعت تحت تیمار با میدان مغناطیسی ایستای ۲۰ و ۳۰ میلی‌تسلا قرار گرفتند. آزمایش‌ها به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی حداقل با سه تکرار انجام شدند. به‌منظور تحلیل داده‌ها آنالیز واریانس یک‌طرفه و نرم‌افزار SPSS به کار رفتند.

یافته‌ها: تیمار ۳۰ میلی‌تسلا منجر به کاهش میزان وزن تر، توان کلی فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی و توان کلی احیا و افزایش پراکسید هیدروژن شد، اما تأثیری بر مقدار کلی ترکیبات فنلی و فلاونوئید نداشت. در تیمار ۲۰ میلی‌تسلا سطح پراکسید هیدروژن کاهش، اما وزن تر، سطح رادیکال هیدروکسیل، فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی، مقدار کلی ترکیبات فنلی و فلاونوئید افزایش یافت. مقدار آهن فرو در میدان ۲۰ میلی‌تسلا کاهش و در میدان ۳۰ میلی‌تسلا افزایش نشان داد.

نتیجه‌گیری: در سیستم ردوکس سویا میدان ۲۰ میلی‌تسلا مسیر جریان الکترون‌ها را به سمت ترکیبات احیاکننده مفید مثل ترکیبات فنلی هدایت می‌کند و سبب تحریک رشد می‌شود، در صورتی که میدان ۳۰ میلی‌تسلا سبب گسیل الکترون‌های مازاد به سمت ترکیبات مخرب مثل آهن فرو شده و رشد را کاهش می‌دهد.

کلیدواژه‌ها: سطح ردوکس، سویا، میدان مغناطیسی ایستا

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۷/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۱۲

*نویسنده مسئول: ghangia@modares.ac.ir

مقدمه

میدان‌های مغناطیسی ایستا (SMF)، به‌صورت طبیعی (میدان مغناطیسی زمین با شدتی معادل ۳۵ تا ۷۰ میکروتسلا) در محیط زندگی گیاهان وجود دارند. علاوه بر این ابزارهای متعددی حاوی آهنربا، اتوبوس‌های برقی، خطوط ریلی، دستگاه‌های تصفیه الکتریکی و سیم‌های انتقال برق فشار قوی، می‌توانند SMF تولید کنند [1, 2].

سطح ردوکس (اکسید-احیا) یک سلول با مجموع ترکیبات فعال احیا تعریف می‌شود. در شرایط تنش زیستی یا غیرزیستی الکترون‌ها از جریان‌های اصلی خود خارج شده (از جمله در زنجیره انتقال الکترون فتوسنتز و تنفس، در پراکسی‌زوم، آپوپلاست و غشای پلاسمایی)، سپس سبب احیای مولکول اکسیژن و شکل‌گیری گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌شوند [3]. گونه‌های فعال اکسیژن در شرایط بدون تنش نیز شکل می‌گیرند، بنابراین بین میزان شکل‌گیری آنها و سطح فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های

زیست‌فناوری دانشگاه تربیت مدرس

سلول توازن برقرار است. اولین ROS ایجادشده، رادیکال سوپراکسید است، سپس طی سلسله واکنش‌های اکسیداتیو و انتقال الکترون، سایر گونه‌های فعال شامل رادیکال هیدروکسیل، پراکسیل، آلکوکسیل و هیدروژن پراکسید (H_2O_2) در سلول شکل می‌گیرند [4].

مطالعات نشان می‌دهد که ROS نقشی دوگانه دارد، به‌طوری که یا با ایجاد تنش اکسیداتیو، دارای نقشی مخرب است، یا به‌عنوان مولکول پیام‌رسان، بسیاری از مسیرهای فیزیولوژیک را راه‌اندازی و به‌صورت یک محرک عمل می‌کند. سیگنال‌های ردوکس و ROS می‌توانند در چرخه سلولی، تکامل اندام‌ها، تغییر ساختار دیواره، فتوسنتز، بازشدن روزنه‌ها، پیری و مرگ برنامه‌ریزی‌شده مشارکت کنند [3].

سلول‌های گیاهی به‌صورت طبیعی ترکیباتی با خاصیت احیاکنندگی قوی دارند. این ترکیبات مخازن الکترون و هیدروژن سلول بوده و به خودی خود قادر به اهدای الکترون برای جفت‌نمودن الکترون‌های تکی آزاد هستند و به‌نوعی از واکنش‌های اکسیداتیو جلوگیری می‌کنند. از جمله این ترکیبات می‌توان به گروه وسیعی از ترکیبات فنلی، آسکوربات، گلوکاتینون، پیریدین نوکلئوتیدها (NADPH و NADH)، کارتنوئیدها، گلیکوزید کوئرستین و کمپفرول، سیتوکروم‌ها، توکوفرول، توکوترینول، پلی‌آمین‌ها و پروتئین‌های گوگرددار اشاره کرد [5].

زمانی که گیاه تحت شرایط تنش قرار می‌گیرد، توازن بین جای‌گیری الکترون و هیدروژن در میان مخازن احیاکننده طبیعی سلول و ROS آن بر هم می‌خورد و این امر می‌تواند بر سرنوشت یک سلول اثرگذار باشد. در صورتی که الکترون‌ها به سمت ترکیبات احیاکننده سوق یابند، به‌دلیل خاموش‌سازی فرآیندهای اکسیداتیو معمولاً وضعیت سلول بهبود می‌یابد، از طرف دیگر زمانی که الکترون‌ها به سمت ترکیبات اکسیداتیو و فعال از جمله ROS جریان یابند، ممکن است موجب مرگ سلول شوند.

از میان ترکیبات احیاکننده طبیعی، گروه ترکیبات فنلی به‌عنوان بزرگ‌ترین گروه ترکیبات ثانویه نقش ویژه‌ای در خاموش‌سازی فرآیندهای اکسیداتیو به عهده دارند. پلی‌فنل‌ها به‌دلیل ساختار خاص شیمیایی خود توان بالایی در اهدای الکترون و پروتون به ROS دارند و با ایجاد رادیکال مشتق‌شده از پلی‌فنل‌ها، زنجیره تولید ROS را قطع می‌کنند. به علاوه ترکیبات فنلی با قابلیت کلات‌کردن یون‌های آهن از جمله فرو (Fe^{2+}) از واکنش فنتون و تولید رادیکال هیدروکسیل ممانعت می‌کنند. این رادیکال بسیار واکنش‌زا بوده و می‌تواند به غشا آسیب بزند [4].

براساس مطالعات پیشین میدان مغناطیسی منجر به تولید ROS در گیاهان می‌شود [6, 7]. به نظر می‌رسد در مطالعاتی که میدان موجب افزایش رشد گیاه شده، ROS در نهایت به‌صورت یک محرک رشد (الیستور) عمل کرده و در مواردی که رشد کاهش یافته، ROS منجر به ایجاد تنش اکسیداتیو شده است. گونه گیاهی، دوره نمو گیاه، نوع میدان، شدت و فرکانس آن و مدت قرارگرفتن گیاه در معرض میدان می‌تواند بر نتیجه مطالعات تأثیرگذار باشد [8-11].

نتایج تحقیقات قبلی [7, 12, 13] تأثیر منفی میدان مغناطیسی ۳۰ میلی‌تسلا بر سلول‌های جدا کشت توتون و گندم، با واسطه تولید زیاد ROS از یک سو و کاهش توان آنتی‌اکسیدانی گیاه از سوی دیگر، را نشان داده‌اند. در پژوهش حاضر تأثیر میدان ایستای ۳۰ میلی‌تسلا بر روند تولید ROS در گیاه سویا (*Glycine max* L.) (Merrill) مطالعه شد. استفاده از یک میدان با شدت کمتر (۲۰ میلی‌تسلا) می‌تواند نقش حساس شدت میدان (حتی در مقادیر

۱۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفتند. پس از خنک شدن لوله‌ها، جذب نمونه‌ها در ۴۹۰ نانومتر خوانده شد. مقدار قند کل محلول با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز صفر تا ۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد [15].

سنجش محتوای کلروفیل و کاروتنوئید: نمونه‌ها در استون ۸۰٪ ساییده و از قیف حاوی کاغذ صافی عبور و سپس در بالن ژوژه ۲۵ میلی‌لیتری با استن ۸۰٪ به حجم رسانده شدند. جذب عصاره در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۷ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد [16].

میلی‌گرم کلروفیل a در گرم وزن تر نمونه = $W \times V / 1000 \times (12.7 - 2.12 \times \text{د جذب } 663)$
میلی‌گرم کلروفیل b در گرم وزن تر نمونه = $W \times V / 1000 \times (21.1 - 5.1 \times \text{د جذب } 663)$
کاروتنوئید

(کاروتن + گزانتوفیل) = $W \times V / 1000 \times (19.8 \times 85 - 10.2 \times \text{کلروفیل } b)$
(۱۸۲ × کلروفیل a) - (۴۷۰ × جذب ۶۴۷)

حجم نهایی عصاره = V، وزن تر بافت برگ = W (گرم)

سنجش محتوای هیدروژن پراکسید: نمونه‌ها در محلول ۰/۱٪ تری‌کلرواستیک اسید (حجم/وزن) عصاره‌گیری و سپس در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴°C سانتریفیوژ شدند. به محلول روشناور، بافر فسفات ۱۰ میلی‌مولار و یدیدپتاسیم یک‌مولار اضافه و جذب آن در طول موج ۳۹۰ نانومتر خوانده شد. مقدار هیدروژن پراکسید با استفاده از منحنی استاندارد H_2O_2 در غلظت‌های صفر تا ۱۰ میکرومول محاسبه شد [17].

سنجش مقدار پراکسیداسیون لیپید: نمونه‌ها در محلول تری‌کلرواستیک اسید ۱۰٪ (وزن/حجم) عصاره‌گیری و در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. به بخش روشناور حاصل، تیوباربتوریک اسید ۵٪ افزوده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب ۱۰۰°C قرار گرفت. پس از سرد شدن لوله‌ها، جذب آنها در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر خوانده شد. مقدار مالون‌دی‌آلدئید (MDA) به عنوان محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدهای غشا با استفاده از ضریب خاموشی $155 \text{ cm} \cdot \text{mM}^{-1}$ محاسبه شد [17].

سنجش محتوای رادیکال هیدوکسیل: نمونه‌ها در دئوکسی‌ریبوز یک میلی‌مولار ساییده و به مدت ۴۵ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند. سپس در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴°C سانتریفیوژ شدند. مخلوط واکنش حاوی عصاره، در تیوباربتوریک اسید ۱٪، سدیم هیدروکسید ۰/۵ مولار و تری‌کلریک اسید ۲/۸٪ به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم ۱۰۰°C جوشانده شد. سپس نمونه‌ها روی یخ سریعاً سرد و جذب در ۵۴۰ نانومتر خوانده شد [18].

سنجش توان کلی جاروبگری رادیکال‌های آزاد (RSC): نمونه‌ها در متانول مطلق عصاره‌گیری و در ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. به مقدار مناسبی از بخش روشناور، رادیکال پایدار ۱ و ۱ دی‌فنیل-۲-پیکریل هیدرازیل (DPPH) با غلظت ۰/۰۰۲٪ اضافه شد. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند و سپس جذب آنها در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد [19].

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT): نمونه‌ها در بافر فسفات سدیم ۲۵ میلی‌مولار با pH برابر ۶/۸، عصاره‌گیری و در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴°C سانتریفیوژ شدند. از بخش روشناور برای سنجش فعالیت CAT استفاده شد. مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات سدیم ۲۵ میلی‌مولار با pH برابر ۶/۸، ۱۰ میلی‌مولار هیدروژن پراکسید و عصاره آنزیمی به مقدار مناسب

نزدیک به هم) و راه‌اندازی مکانیزم‌های مختلف پاسخ گیاه در شدت‌های مختلف را روشن سازد. در این راستا بخشی از مجموعه آنزیم‌ها و ترکیبات آنتی‌اکسیدان از جمله کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها بررسی شدند. پژوهش حاضر با هدف بررسی الگوی پاسخ سیستم ردوکس سویا به دو شدت مختلف میدان مغناطیسی ۲۰ و ۳۰ میلی‌تسلا و تعیین سرنوشت جریان الکترون در این میدان‌ها انجام شد.

مواد و روش‌ها

در مطالعه تجربی حاضر بذر سویا رقم M7 از مرکز تهیه نهال و بذر کرج تهیه شد. بذرها پس از استریل شدن سطحی به مدت ۲۰ دقیقه با سدیم هیپوکلریت (حاوی ۵٪ کلرین فعال)، ۲۰ ثانیه با اتانول ۷۰٪ و ۱۲ ساعت در آب مقطر خیسانده شدند، سپس برای جوانه‌زنی بین دو لایه کاغذ صافی مرطوب قرار گرفتند. گیاهچه‌های سه‌روزه سویا به محیط هیدروپونیک حاوی محلول غذایی نیم هوگلند انتقال یافتند [14].

گیاهچه‌های ۱۰ روزه سویا به مدت ۴ روز، روزانه ۵ ساعت در دمای ۲۵°C تحت تیمار SMF با دو شدت ۲۰ و ۳۰ میلی‌تسلا قرار گرفتند. میدان مغناطیسی فوق به وسیله سیستمی با توان یک کیلووات و ماکزیمم جریان عبوری ۵۰ آمپر تولید شد. جریان برق شهر قبل از ورود به مولد از یک سوکننده عبور و میدان مغناطیسی ایستایی را در سیم‌پیچ‌های اطراف یک هسته آهنی U شکل ایجاد کرد. چهار صفحه مدور به شاخه‌های هسته متصل و سبب یکنواخت شدن میدان در فضای بین دایره‌ها شدند. شدت میدان با تسلا متر سنجش و منحنی کالیبراسیون نسبت جریان عبوری با شدت میدان رسم شد [7, 12, 13].

شکل ۱ دستگاه مولد میدان و نحوه قرارگرفتن سویا در معرض میدان را نشان می‌دهد. برداشت در روز اول به محض پایان تیمار و در روزهای بعد به فاصله ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از شروع تیمار صورت گرفت.



شکل ۱) دستگاه مولد میدان مغناطیسی ایستا و گیاهان تحت تیمار در آن

سنجش نرخ رشد و میزان رشد طولی ریشه و بخش هوایی: سنجش تغییرات در وزن تر، وزن خشک، طول ریشه و بخش هوایی با اندازه‌گیری اختلاف این پارامترها قبل و ۹۶ ساعت بعد از اعمال تیمار به دست آمد.

سنجش محتوای قند کل محلول: نمونه‌ها در بافر فسفات سدیم ۱۰ میلی‌مولار با pH برابر ۶/۸، عصاره‌گیری و سپس در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. قسمت روشناور به منظور سنجش قند کل استفاده شد. به لوله‌های آزمایش محتوی عصاره، فنل ۵٪ و سولفوریک اسید غلیظ افزوده شد و لوله‌ها به مدت

حداقل با سه تکرار انجام شدند. به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها آنالیز واریانس یک طرفه و نرم افزار SPSS به کار رفتند.

یافته‌ها

میدان مغناطیسی ۲۰ میلی‌تسلا سبب افزایش معنی‌دار وزن خشک، وزن تر، طول ریشه و بخش هوایی سویا در مقایسه با گیاهان شاهد شد.

در تیمار ۳۰ میلی‌تسلا تنها کاهش معنی‌دار وزن تر و افزایش معنی‌دار طول اندام هوایی مشاهده شد (جدول ۱). سطح قند کل در هر دو تیمار ۲۰ و ۳۰ میلی‌تسلا به طور معنی‌داری افزایش یافت (نمودار ۱- a و b).

در گیاهان تیمار شده تحت میدان با شدت ۳۰ میلی‌تسلا افزایش معنی‌داری در میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل کل (۷۷٪) و کاروتنوئید (۲۹٪)، ۲۴ ساعت پس از قرار گرفتن در معرض میدان در مقایسه با گیاهان شاهد مشاهده شد (نمودار ۱- d و f). در حالی که در گیاهان تیمار شده با میدان ۲۰ میلی‌تسلا افزایش معنی‌داری در این دو رنگیزه مشاهده نشد (نمودار ۱- c و e).

دو شدت متفاوت SMF منجر به پاسخ‌های متفاوتی در تولید پایدارترین گونه فعال اکسیژن یعنی هیدروژن پراکسید در گیاهچه‌های سویا شدند، به طوری که تیمار ۲۰ میلی‌تسلا پس از ۴۸ ساعت منجر به کاهش معنی‌دار میزان هیدروژن پراکسید شد، در حالی که در تیمار ۳۰ میلی‌تسلا افزایش معنی‌دار محتوای هیدروژن پراکسید در تمامی ساعات تحت میدان، به ویژه در ۵ ساعت اول (۱۴۳/۸۱٪) در مقایسه با گیاهان شاهد مشاهده شد (نمودار ۲- a و b).

در گیاهان تیمار شده با میدان ۲۰ میلی‌تسلا افزایش معنی‌دار هیدروکسیل از ۲۴ تا ۷۲ ساعت پس از اعمال تیمار در مقایسه با گیاهان شاهد مشاهده شد. در گیاهان تیمار شده با میدان ۳۰ میلی‌تسلا تنها ۴۸ ساعت پس از اعمال تیمار افزایش رادیکال هیدروکسیل مشاهده شد (نمودار ۲- c و d).

در گیاهچه‌های تیمار شده با میدان ۲۰ میلی‌تسلا در بازه ۲۴ الی ۷۲ ساعت بیشترین میزان هیدروکسیل با بیشترین میزان تولید MDA همراه بود (نمودار ۲- e). در گیاهان تیمار شده با ۳۰ میلی‌تسلا افزایش MDA ۴۸ ساعت پس از تیمار مشاهده شد (نمودار ۲- f).

پاسخ کلی فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی در دو شدت SMF مورد آزمایش، متفاوت بود. به طوری که RSC در تیمار ۲۰ میلی‌تسلا تنها در ۵ ساعت اول تیمار افزایش معنی‌داری نشان داد (نمودار ۳- a). در حالی که در گیاهان تیمار شده با میدان ۳۰ میلی‌تسلا، در مقایسه با گیاهان شاهد، کاهش RSC در بازه ۴۸ تا ۷۲ ساعت مشاهده شد (نمودار ۳- b).

فعالیت آنزیم CAT به عنوان جارب‌کننده کلیدی پراکسید هیدروژن در گیاهان تیمار شده با میدان در مقایسه با گیاهان شاهد، در میدان ۲۰ میلی‌تسلا کاهش معنی‌دار و در میدان ۳۰ میلی‌تسلا افزایش معنی‌داری نشان داد (نمودار ۳- c و d).

پاسخ عمومی آنزیم SOD در هر دو تیمار ۲۰ و ۳۰ میلی‌تسلا یکسان بود، به طوری که دو شدت SMF سبب کاهش معنی‌دار فعالیت این آنزیم در مقایسه با گیاهان شاهد شد (نمودار ۳- e و f). اما شدت کاهش فعالیت SOD در تیمار ۲۰ میلی‌تسلا به ویژه ۹۶ ساعت پس از تیمار بارزتر بود (نمودار ۳- e).

بیشترین افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم PO در گیاهان تیمار شده

بود. فعالیت آنزیمی با اندازه‌گیری تجزیه H_2O_2 و کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر به ازای میلی‌گرم پروتئین در عصاره آنزیمی محاسبه شد^[7]. اندازه‌گیری پروتئین با روش برادفورد با استفاده از آلبومین سرم گاوی به عنوان استاندارد صورت پذیرفت^[20].

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD): نمونه در بافر ۵۰ میلی‌مولار هپس- پتاسیم هیدروکسید و pH برابر با ۷/۸ حاوی ۱/۱ میلی‌مولار EDTA (اتیلن‌دی‌آمین‌تترا استیک اسید) عصاره‌گیری و در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴°C سانتریفیوژ شد. از بخش روشن‌آور برای سنجش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز استفاده شد. مخلوط واکنش حاوی بافر ۵۰ میلی‌مولار هپس- پتاسیم هیدروکسید و pH برابر با ۷/۸، حاوی ۱/۱ میلی‌مولار EDTA، سدیم کربنات ۵۰ میلی‌مولار، ال- متیونین ۱۲ میلی‌مولار، ۷۴ میکرومولار نیتروبول‌تترازول‌یوم کلرید (NBT) یک میکرومولار ربیوفلاوین و عصاره آنزیمی به میزان مناسب بود. لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در معرض نور قرار گرفتند. جذب آنها قبل و بعد از قرار گرفتن در معرض نور در ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. یک واحد فعالیت سوپراکسید دیسموتاز براساس مقدار آنزیم مورد نیاز برای مهار ۵۰٪ سرعت احیای NBT در نظر گرفته شد^[21].

سنجش فعالیت گایاکول پراکسیداز (PO): نمونه‌ها در بافر تریس- مالئات ۵۰ میلی‌مولار با pH برابر ۶، عصاره‌گیری و در ۱۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴°C سانتریفیوژ شدند. از بخش روشن‌آور برای اندازه‌گیری فعالیت PO استفاده شد. ترکیب واکنش حاوی بافر فسفات سدیم ۶۰ میلی‌مولار با pH برابر ۶/۱، گایاکول ۲۸ میلی‌مولار، پراکسید هیدروژن ۵ میلی‌مولار و عصاره آنزیمی به میزان مناسب بود.

فعالیت آنزیمی به صورت افزایش جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین نمونه محاسبه شد^[22].

سنجش محتوای کلی ترکیبات فنلی: نمونه در اتانول ۵۰٪ حاوی ۰/۵٪ هیدروکلریدریک اسید همگن و در ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. جذب محلول روشن‌آور در طول موج ۲۸۰ نانومتر خوانده و میزان فنل کل براساس استاندارد گالیک اسید محاسبه شد^[23].

سنجش محتوای فلاونوئید: نمونه در اتانول اسیدی (به نسبت ۹۹ به ۱ اتانول به استیک اسید) همگن و در ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد، سپس در حمام آب گرم با دمای ۸۰°C به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت و جذب آن در طول موج‌های ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد^[24].

سنجش قدرت احیاکنندگی سلول (FRAP): نمونه در متانول همگن و در ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. به عصاره حاصل، بافر فسفات ۲/۰ مولار (pH برابر ۶/۶) و محلول پتاسیم فریک سیانید ۱٪ اضافه و در حمام آب گرم ۵۰°C به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شد. سپس تری‌کلریک اسید ۱۰٪ اضافه و در ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. در پایان به میزان مناسبی محلول روشن‌آور، آب دیونیزه و فریک کلرید ۰/۱٪ اضافه و جذب آن در ۷۰۰ نانومتر خوانده شد. قدرت احیاکنندگی در مقایسه با بلانک محاسبه شد^[25].

سنجش محتوای آهن فرو (Fe^{2+}): نمونه در محلول O-فنانترولین (Phe-o) ۱/۵٪ ساییده، سپس به مدت ۱۶ ساعت در دمای اتاق نگهداری و جذب آن در ۵۱۰ نانومتر خوانده شد. درصد میزان آهن فرو در مقایسه با جذب بلانک به دست آمد^[26].

آزمایش‌ها به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی،

میزان آهن فرو پس از اعمال میدان مغناطیسی ۲۰ میلی‌تسلا کاهش معنی‌دار و در میدان ۳۰ میلی‌تسلا افزایش معنی‌داری در مقایسه با گیاهان شاهد نشان داد (نمودار ۴- g و h).

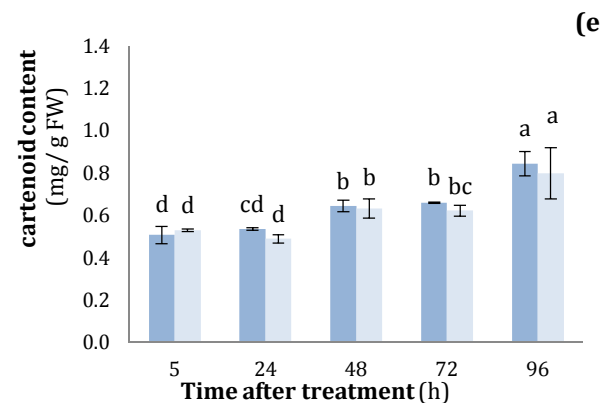
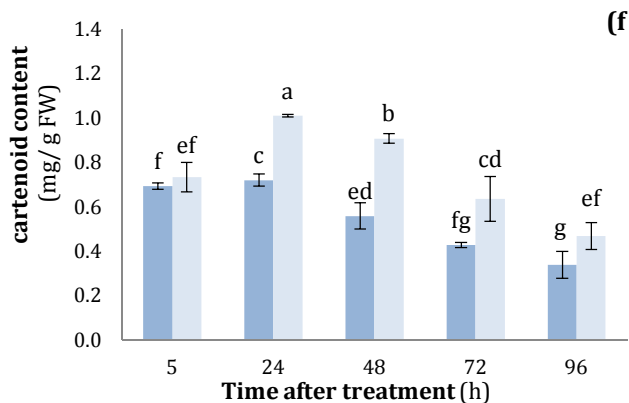
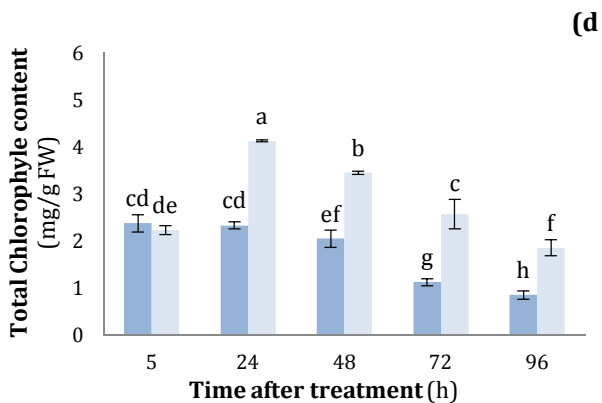
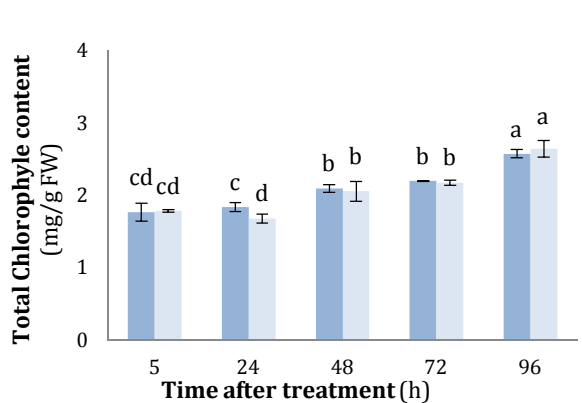
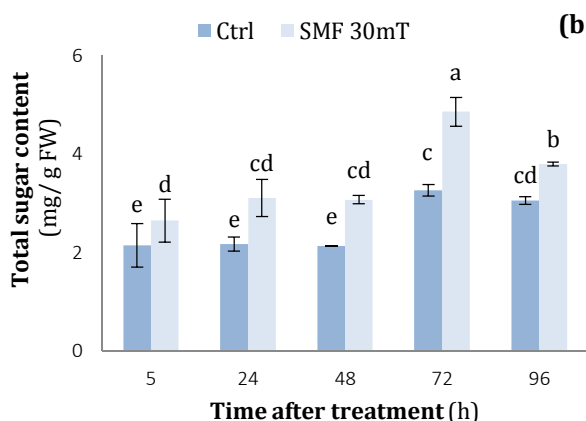
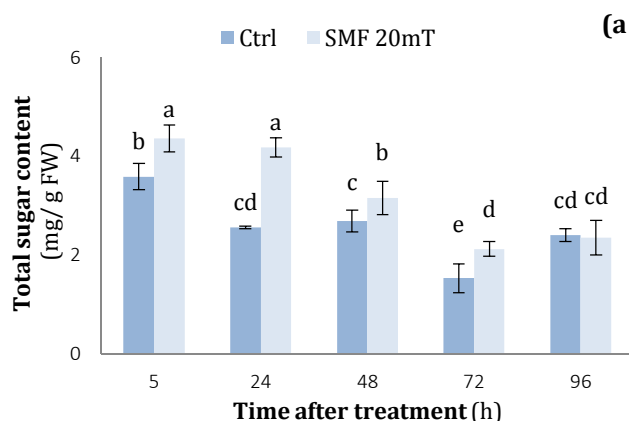
جدول ۱) رشد نسبی و رشد خالص طولی ریشه و بخش هوایی تحت میدان مغناطیسی ایستای ۲۰ و ۳۰ میلی‌تسلا در گیاهچه‌های سویا

میدان مغناطیسی	وزن خشک (گرم)		وزن تر (گرم)		طول (میلی‌متر)	
	شاهد	تیمار	شاهد	تیمار	شاهد	تیمار
۲۰ میلی‌تسلا						
رشد طولی ریشه	۰/۰۰۶۵ ^b	۰/۰۱۲۱ ^a	۰/۱۲۰۹ ^b	۰/۲۴۱۸ ^a	۰/۳۵ ^a	۰/۸۸ ^a
رشد اندام هوایی	۰/۰۳۳۵ ^a	۰/۰۴۹۳ ^a	۰/۱۹۱۹ ^b	۰/۷۲۵۶ ^a	۲/۴۶ ^b	۳/۹۴ ^a
۳۰ میلی‌تسلا						
ریشه	۰/۰۰۹۷ ^a	۰/۰۰۹۸ ^a	۰/۱۶۴۶ ^a	۰/۱۴۱۶ ^a	۰/۴۹ ^a	۰/۳۴ ^a
اندام هوایی	۰/۰۱۸۴ ^a	۰/۰۱۵۲ ^a	۰/۵۹۰۴ ^a	۰/۴۴۴۹ ^b	۱/۶۸ ^b	۶/۵۱ ^a

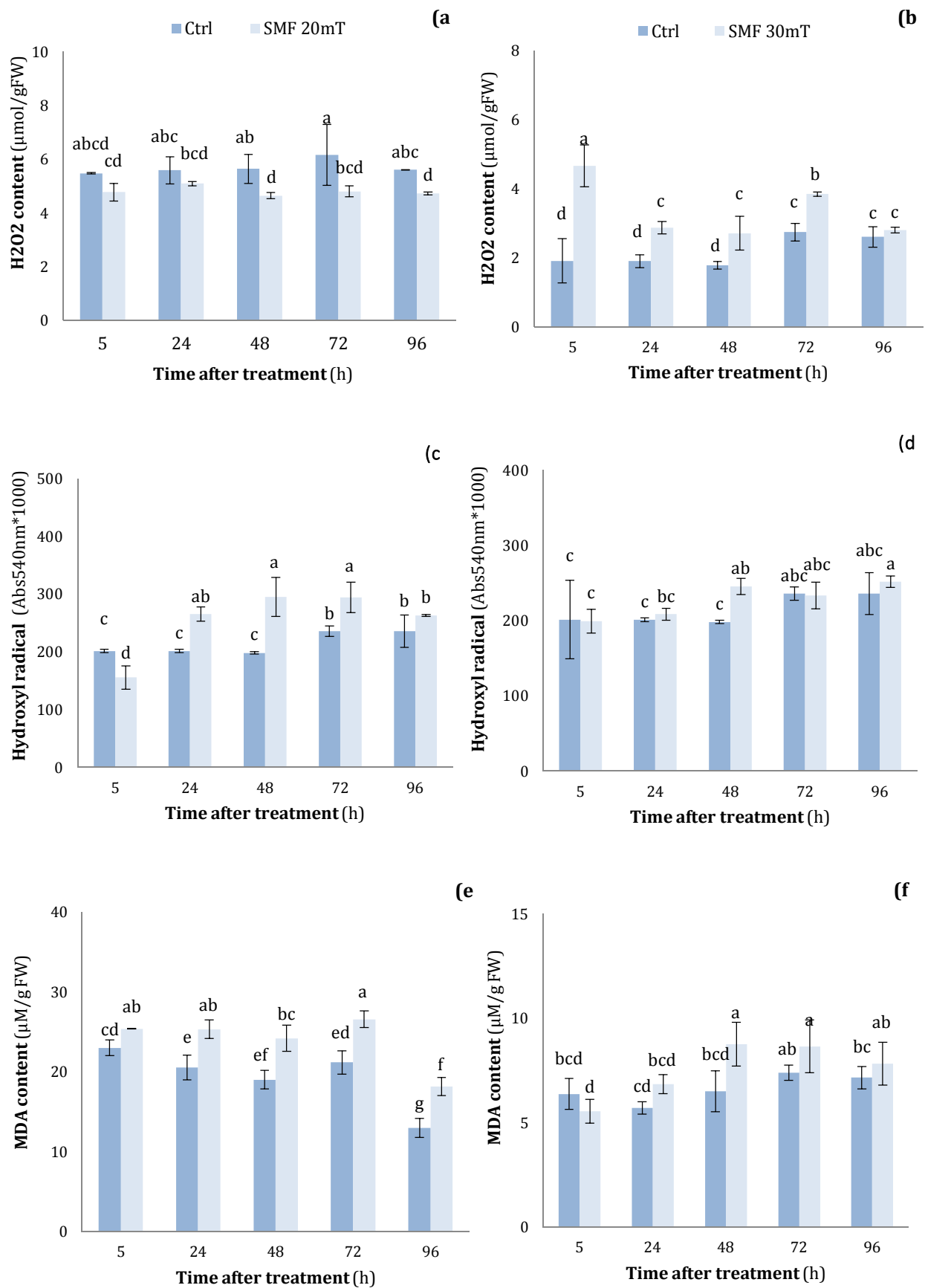
با میدان ۲۰ میلی‌تسلا در بازه زمانی ۴۸ تا ۹۶ ساعت پس از تیمار مشاهده شد (نمودار ۳- g). گیاهان تیمار شده با ۳۰ میلی‌تسلا تفاوت معنی‌داری در فعالیت PO در مقایسه با گیاهان شاهد، نشان ندادند (نمودار ۳- h).

مقدار کلی ترکیبات فنلی و فلاونوئید در گیاهان تیمار شده با میدان ۳۰ میلی‌تسلا تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان نداد (نمودار ۴- b و d). در حالی که در تیمار با میدان ۲۰ میلی‌تسلا افزایش معنی‌دار (۱۴٪) در مقدار کلی ترکیبات فنلی ۵ ساعت و فلاونوئید ۲۴ ساعت بعد از اعمال تیمار در مقایسه با گیاهان شاهد، مشاهده شد (نمودار ۴- a و c).

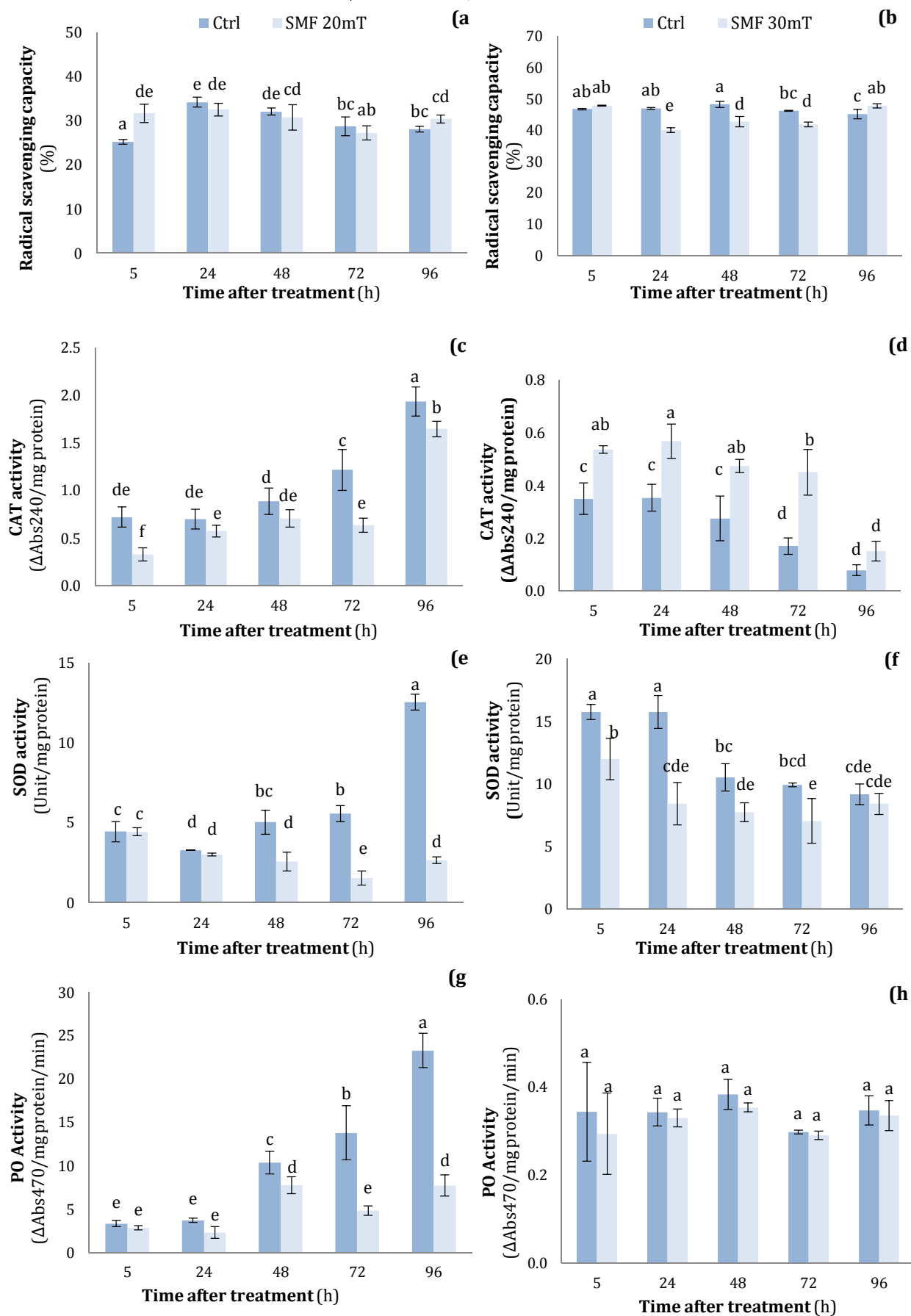
توان کلی احیاکنندگی در گیاهان تیمار شده با میدان ۲۰ میلی‌تسلا افزایش معنی‌دار و در میدان ۳۰ میلی‌تسلا کاهش معنی‌داری یافت (نمودار ۴- e و f).



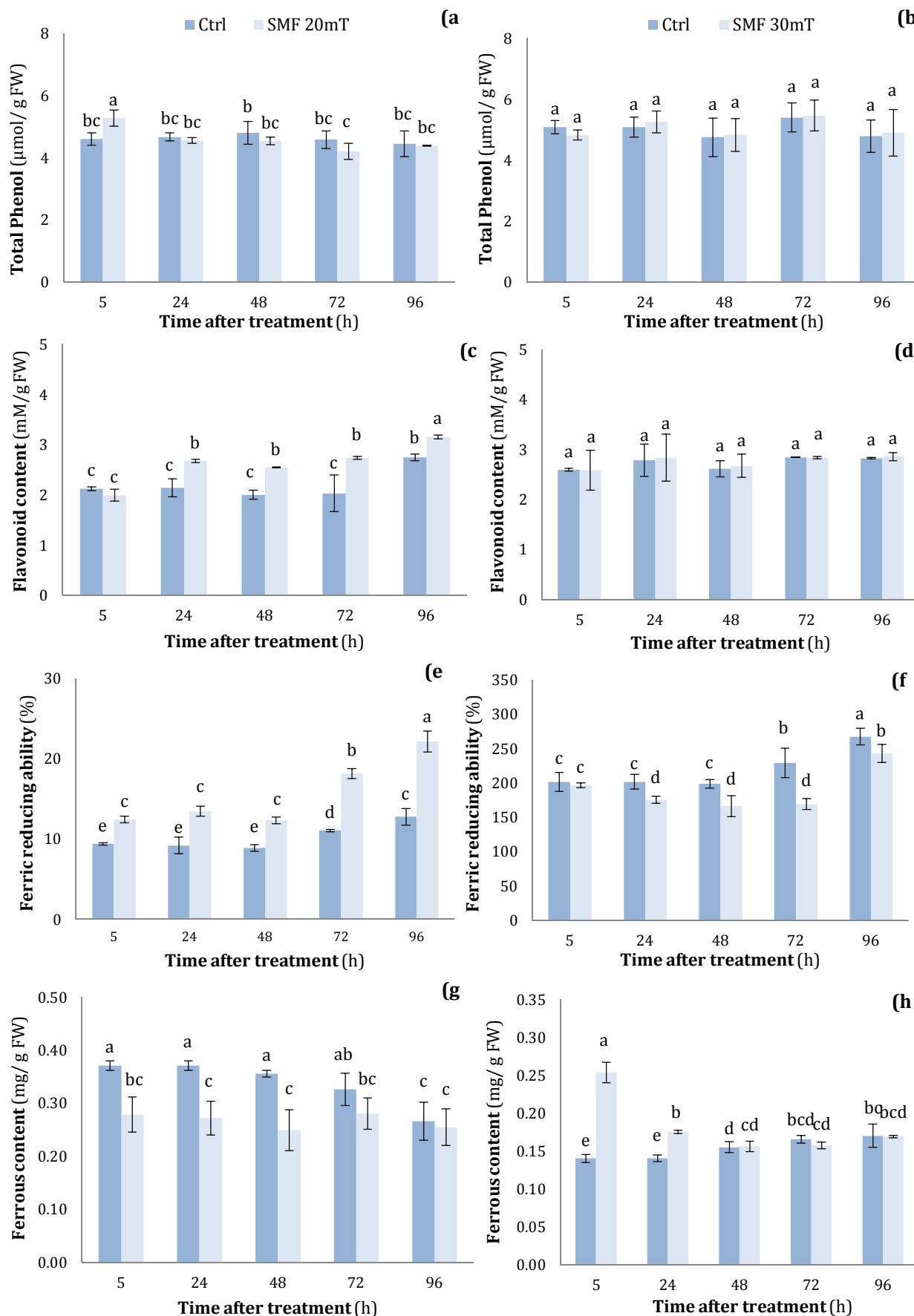
نمودار ۱) تاثیر میدان‌های مغناطیسی ایستای ۲۰ و ۳۰ میلی‌تسلا بر محتوای قند و رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه سویا؛ a و b: قند کل، c و d: کلروفیل، e و f: کارتنوئید (داده‌ها میانگین حداقل سه تکرار ± انحراف معیار (خطوط عمودی) هستند؛ حروف غیریکسان نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح کمتر از ۰/۰۵ براساس آزمون دانکن است)



نمودار ۲) تاثیر میدان‌های مغناطیسی ایستای ۲۰ و ۳۰ میلی‌تسلا بر میزان هیدروژن پراکسید، رادیکال هیدروکسیل و MDA در گیاه سویا؛ a و b: میزان هیدروژن پراکسید، c و d: میزان رادیکال هیدروکسیل، e و f: میزان MDA (داده‌ها میانگین حداقل سه تکرار ± انحراف معیار (خطوط عمودی) هستند؛ حروف غیریکسان نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح کمتر از ۰/۰۵ براساس آزمون دانکن است)



نمودار ۳) تاثیر میدان‌های مغناطیسی ایستای ۲۰ و ۳۰ میلی‌تسلا بر فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی در گیاه سویا: a و b: توان کلی جاروبگری رادیکال‌های آزاد، c و d: میزان فعالیت آنزیم کاتالاز، e و f: میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، g و h: میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز محلول (داده‌ها میانگین حداقل سه تکرار $\pm$ انحراف معیار خطوط عمودی) هستند؛ حروف غیریکسان نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح کمتر از ۰/۰۵ براساس آزمون دانکن است.



نمودار ۴) تأثیر میدان‌های مغناطیسی ایستای ۲۰ و ۳۰ میلی‌تسلا بر میزان ترکیبات فنلی در گیاه سویا؛ a و b: میزان کلی ترکیبات فنلی، C و d: میزان فلاونوئید، e و f: قدرت احیاکنندگی سلول، g و h: میزان آهن فرو (داده‌ها میانگین حداقل سه تکرار؛ انحراف معیار (خطوط عمودی) هستند؛ حروف غیریکسان نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح کمتر از ۰/۰۵ براساس آزمون دانکن است)

احیایی (مجموعه ترکیبات فنلی) به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد. در واقع به نظر می‌رسد در تیمار ۳۰ میلی‌تسلا گیاه، الکترون‌های مازاد را به سمت فرم ترکیبات واکنش‌زا و مخرب مثل آهن فرو و در تیمار ۲۰ میلی‌تسلا به سمت ترکیبات احیای مفید مثل ترکیبات فنلی سوق داده است.

مقایسه پاسخ گیاهان تیمار شده در دو شدت متفاوت ۲۰ و ۳۰ میلی‌تسلا نشان داد که سطح آنزیم کاتالاز در هر دو تیمار به میزان آهن فرو موجود در گیاه وابسته است. در تیمار ۲۰ میلی‌تسلا میزان آهن فرو تحت تیمار کاهش معنی‌داری یافت و پس از آن کاهش در سطح آنزیم CAT مشاهده شد. در تیمار ۳۰ میلی‌تسلا پاسخ عکس این حالت و کاهش در دو پارامترهای مذکور مشاهده شد. احتمال تأثیرپذیری مستقیم آنزیم کاتالاز از میدان مغناطیسی، با توجه به حضور آهن در ساختار آن، را نباید از نظر دور داشت.

با توجه به تفاوت در پاسخ فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی، الگوی شکل‌گیری ROS و همچنین تفاوت کلیدی در محتوای ترکیبات احیاکننده و آهن فرو در دو تیمار ۲۰ و ۳۰ میلی‌تسلا، به نظر می‌رسد مسیر جریان الکترون و سطح ردوکس سویا در دو تیمار ۲۰ و ۳۰ میلی‌تسلا متفاوت از یکدیگر است. گونه فعال اکسیژن شکل‌گرفته در تیمار ۲۰ میلی‌تسلا به‌عنوان یک محرک عمل کرده و با هدایت الکترون‌ها به سمت ترکیبات احیاکننده طبیعی مثل ترکیبات فنلی نه‌تنها منجر به آسیب نشد بلکه رشد را نیز افزایش داد. از سوی دیگر در تیمار ۳۰ میلی‌تسلا، ROS تولیدی منجر به افزایش فرم مخرب آهن فرو، ایجاد تنش اکسیداتیو و کاهش توان احیای سلول و در نهایت منجر به کاهش رشد گیاه شد.

نتیجه‌گیری

در سیستم ردوکس سویا، میدان ۲۰ میلی‌تسلا مسیر جریان الکترون‌ها را به سمت ترکیبات احیاکننده مفید مثل ترکیبات فنلی هدایت می‌کند و سبب تحریک رشد می‌شود، در صورتی که میدان ۳۰ میلی‌تسلا سبب گسیل الکترون‌های مازاد به سمت ترکیبات مخرب مثل آهن فرو شده و رشد را کاهش می‌دهد.

تشکر و قدردانی: موردی از سوی نویسندگان گزارش نشد.

تأییدیه اخلاقی: موردی از سوی نویسندگان گزارش نشد.

تعارض منافع: موردی از سوی نویسندگان گزارش نشد.

سهم نویسندگان: ساناز شکرالهی (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی/تحلیلگر آماری (۳۵٪)؛ فائزه قناتی (نویسنده دوم)، روش‌شناس/پژوهشگر اصلی/نگارنده بحث (۳۵٪)؛ رضا حسن‌ساجدی (نویسنده سوم)، پژوهشگر کمکی/تحلیلگر آماری (۳۰٪)

منابع مالی: موردی از سوی نویسندگان گزارش نشد.

منابع

- 1- Maffei ME. Magnetic field effects on plant growth, development, and evolution. *Front Plant Sci.* 2014;5:445.
- 2- Blumenthal NC, Ricci J, Breger L, Zychlinsky A, Solomon H, Chen GG, et al. Effects of low-intensity AC and/or DC electromagnetic fields on cell attachment and induction of apoptosis. *Bioelectromagnetics.* 1997;18(3):264-72.
- 3- Kopcowski T, Kuźniak E. Redox signals as a language of interorganellar communication in plant cells. *Cent Eur J Biol.* 2013;8(12):1153-63.

پژوهش حاضر با هدف بررسی الگوی پاسخ سیستم ردوکس سویا به دو شدت مختلف میدان مغناطیسی ۲۰ و ۳۰ میلی‌تسلا و تعیین سرنوشت جریان الکترون در این میدان‌ها انجام شد.

رادیکال هیدروکسیل به‌عنوان واکنش‌زاترین گونه فعال اکسیژنی می‌تواند از طریق واکنش فنتون از اکسید هیدروژن و آهن فرو ایجاد شود و به‌عنوان مخرب‌ترین گونه فعال اکسیژن با پراکسیداسیون لیپیدهای غشا منجر به تخریب غشا و تولید MDA می‌شود.

در پژوهش حاضر هر دو شدت ۲۰ و ۳۰ میلی‌تسلا SMF موجب شکل‌گیری گونه‌های فعال اکسیژن شدند، اما الگوی شکل‌گیری آنها، نوع عملکرد سیستم آنتی‌اکسیدانی، پاسخ‌های رشدی و به‌طور کلی پاسخ سیستم ردوکس گیاه متفاوت بودند. در تیمار ۳۰ میلی‌تسلا غالب‌ترین فرم افزایش‌یافته گونه فعال اکسیژنی هیدروژن پراکسید بود. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده علت این امر را می‌توان کاهش توان کلی فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه تحت تیمار ۳۰ میلی‌تسلا دانست. شاهد این مدعا کاهش توان کلی جاروب‌کنندگی رادیکال‌های آزاد، عدم تغییر فعالیت PO، تولید هیدروژن پراکسید بیشتر، عدم افزایش محتوای کلی ترکیبات فنلی و فلاونوئید و کاهش FRAP بود. همچنین به نظر می‌رسد که افزایش ROS در این تیمار منجر به تحریک سیستم فتوسنتزی، افزایش تولید رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل و کاروتنوئید) و قند کل در جهت تولید انرژی بیشتر شد.

در پژوهش حاضر در تیمار با میدان ۲۰ میلی‌تسلا سطح هیدروژن پراکسید به‌طور معنی‌داری کاهش یافت، این امر می‌تواند به‌طور مستقیم به‌دلیل بالارفتن فعالیت آنزیم PO و تبدیل H_2O_2 به آب و همچنین تبدیل بخش کوچکی از آن به رادیکال هیدروکسیل باشد. با توجه به پراکسیداسیون لیپیدی غشا، فرم غالب ROS شکل‌گرفته در تیمار ۲۰ میلی‌تسلا، رادیکال هیدروکسیل بود. با توجه به نتایج حاصل از پارامترهای رشد، ROS تشکیل‌شده در این تیمار با نقش سیگنالینگ خود بیشتر به‌عنوان تحریک‌کننده رشد عمل کرد. مشاهده افزایش توان کلی جاروب‌کنندگی رادیکال‌های آزاد، افزایش فعالیت PO، کاهش بیشتر آنزیم SOD (نسبت به تیمار ۳۰ میلی‌تسلا و گروه شاهد که سبب تولید کمتر هیدروژن پراکسید می‌شود)، افزایش معنی‌دار محتوای کلی ترکیبات فنلی، فلاونوئید و FRAP نقش مثبت سیگنالینگ ROS در این تیمار را تأیید کرد که نتیجه آن افزایش تولید قند و رشد در گیاهچه‌های تیمار شده با شدت ۲۰ میلی‌تسلا بود.

در پژوهش حاضر محتوای قند کل و رنگیزه‌های فتوسنتزی در هر دو تیمار ۲۰ و ۳۰ میلی‌تسلا افزایش یافت، اما با توجه به پاسخ‌های متفاوت پارامترهای رشدی (وزن‌تر، وزن خشک و طول گیاهچه)، به نظر می‌رسد قند در هر دو شدت سرنوشت متفاوتی داشت و در تیمار با میدان ۳۰ میلی‌تسلا به مصرف مقابله با تیمار درآمد. در حالی که در گیاهچه‌های تیمار شده با شدت ۲۰ میلی‌تسلا قند تولیدی صرف افزایش رشد شد.

از سوی دیگر مسیر جریان الکترون‌ها (سطح اکسید- احیا) در دو تیمار ۲۰ و ۳۰ میلی‌تسلا به‌طور متفاوتی عمل کرد. در تیمار ۳۰ میلی‌تسلا فرم فعال و احیای آهن یعنی Fe^{2+} به‌طور معنی‌داری از سطح آن در گروه‌های شاهد بالاتر بود. ترکیبات احیاکننده (مجموعه ترکیبات فنلی) در تیمار ۳۰ میلی‌تسلا تفاوت معنی‌داری را نشان نداد و FRAP نیز کاهش معنی‌داری یافت. در حالی که در تیمار ۲۰ میلی‌تسلا فرم Fe^{2+} کاهش یافت و توان احیا و ترکیبات

- related substances. *Anal Chem.* 1956;28(3):350-6.
- 16- Lichtenthaler HK, Wellburn AR. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochem Soc Trans.* 1983;11(5):591-2.
- 17- Velikova V, Yordanov I, Edreva A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. *Plant Sci.* 2000;151(1):59-66.
- 18- Tiedemann AV. Evidence for a primary role of active oxygen species in induction of host cell death during infection of bean leaves with *Botrytis cinerea*. *Physiol Mol Plant Pathol.* 1997;50(3):151-66.
- 19- Hajnorouzi A, Vaezzadeh M, Ghanati F, Jamnezhad H, Nahidian B. Growth promotion and a decrease of oxidative stress in maize seedlings by a combination of geomagnetic and weak electromagnetic fields. *J Plant Physiol.* 2011;168(10):1123-8.
- 20- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976;72(1-2):248-54.
- 21- Cakmak I, Horst WJ. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). *Physiologia Plantarum.* 1991;83(3):463-8.
- 22- Abdolmaleki P, Ghanati F, Sahebamei H, Sabet Sarvestani A. Peroxidase activity, lignification and promotion of cell death in tobacco cells exposed to static magnetic field. *Environ.* 2007;27(4):435-40.
- 23- Pirie A, Mullins MG. Changes in anthocyanin and phenolics content of grapevine leaf and fruit tissues treated with sucrose, nitrate, and abscisic acid. *Plant Physiol.* 1976;58(4):468-72.
- 24- Krizek DT, Britz SJ, Mirecki RM. Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv, new red fire lettuce. *Physiologia Plantarum.* 1998;103(1):1-7.
- 25- Oyaizu M. Studies on products of browning reaction--antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr (Eiyogaku zasshi).* 1986;44(6):307-15. [Japanese]
- 26- Katyal JC, Sharma BD. A new technique of plant analysis to resolve iron chlorosis. *Plant Soil.* 1980;55(1):105-19.
- 4- Blokhina O, Fagerstedt KV. Oxidative metabolism, ROS and NO under oxygen deprivation. *Plant Physiol Biochem.* 2010;48(5):359-73.
- 5- Potters G, Horemans N, Jansen MA. The cellular redox state in plant stress biology--a charging concept. *Plant Physiol Biochem.* 2010;48(5):292-300.
- 6- Xia L, Guo J. Effect of magnetic field on peroxidase activation and isozyme in *Leymus chinensis*. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao.* 2000;11(5):699-702. [Chinese]
- 7- Sahebamei H, Abdolmaleki P, Ghanati F. Effects of magnetic field on the antioxidant enzyme activities of suspension-cultured tobacco cells. *Bioelectromagnetics.* 2007;28(1):42-7.
- 8- Yano A, Ohashi Y, Hirasaki T, Fujiwara K. Effects of a 60 Hz magnetic field on photosynthetic CO₂ uptake and early growth of radish seedlings. *Bioelectromagnetics.* 2004;25(8):572-81.
- 9- Eşitken A, Turan M. Alternating magnetic field effects on yield and plant nutrient element composition of strawberry (*Fragaria x ananassa* cv. *camarosa*). *Acta Agric Scand Sect B Soil Plant Sci.* 2004;54(3):135-9.
- 10- Carbonell V, Flórez M, Martínez E, Maqueda R, Amaya JM. Study of stationary magnetic fields on initial growth of pea (*Pisum sativum* L.) seeds. *Seed Sci Technol.* 2011;39(3):673-9.
- 11- Vashisth A, Nagarajan S. Exposure of seeds to static magnetic field enhances germination and early growth characteristics in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Bioelectromagnetics.* 2008;29(7):571-8.
- 12- Payez A, Ghanati F, Behmanesh M, Abdolmaleki P, Hajnorouzi A, Rajabbeigi E. Increase of seed germination, growth and membrane integrity of wheat seedlings by exposure to static and a 10-KHz electromagnetic field. *Electromagn Biol Med.* 2013;32(4):417-29.
- 13- Rajabbeigi E, Ghanati F, Abdolmaleki P, Payez A. Antioxidant capacity of parsley cells (*Petroselinum crispum* L.) in relation to iron-induced ferritin levels and static magnetic field. *Electromagn Biol Med.* 2013;32(4):430-41.
- 14- Hoagland DR, Arnon DI. The water-culture method for growing plants without soil. C347th Volume. Berkeley: College of Agriculture, University of California; 1950. p. 34.
- 15- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and