زیست‌شناسی گیاهی، سال پنجم، شماره پانزدهم، بهار ۱۳۹۲، صفحه ۵۹-۶۸
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۰۳/۳۱
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۱/۰۶/۲۷
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۱/۰۷/۲۶

پاسخ‌های فیزیولوژیک سلول‌های جداکشت گیاه جعفری به میدان مغناطیسی ایستا

الهام رجب‌بیگی [۱]، فائزه قناتی [۱]* و پرویز عبدالمالکی [۲]
[۱] گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
[۲] گروه بیوفیزیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

چکیده

سلول‌های زنده دارای بار الکتریکی هستند که به واسطه حضور یون‌ها و رادیکال‌های آزاد ایجاد می‌شوند. میدان‌های مغناطیسی با برهم‌کنش با یون‌ها و به ویژه مواد فرّومگنتیک نظیر آهن بر سلول‌های زنده تأثیر می‌گذارند. میدان‌های مغناطیسی از جمله عوامل محیطی هستند که می‌توانند آثار درخور توجهی را حتی در مدت زمان اندک و شدت‌های پایین بر سیستم‌های زنده داشته باشند. در این بررسی، سلول‌های گیاه جعفری (*Petroselinum crispum*) در کشت تعلیقی به مدت ۴ ساعت در معرض میدان مغناطیسی ۳۰ میلی‌تسلا قرار گرفتند و محتوای آهن کل سلول، محتوای فرّیتین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی آسکوربات پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز بررسی شد. بر مبنای نتایج به دست آمده میدان مغناطیسی باعث کاهش جذب آهن و به دنبال آن کاهش محتوای فرّیتین گشت. فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز نیز کاهش یافت که این کاهش می‌تواند نتیجه کاهش مشارکت آهن به عنوان واحد ساختاری در آنزیم‌های فوق باشد، در حالی که فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: آسکوربات پراکسیداز، آهن، سوپر اکسید دیسموتاز، فرّیتین، کاتالاز، میدان مغناطیسی

مقدمه

میدان‌های مغناطیسی از جمله تنش‌های غیرزیستی هستند که حاصل عصر تکنولوژی بوده، امروزه توجه بسیاری از محققان را به خود جلب کرده‌اند. این میدان‌ها هم به صورت طبیعی و هم به صورت نتیجه‌ای از تکنولوژی بشر امروزی، در زندگی روزمره انسان حضور داشته‌اند (Belyavskaya, 2004). در مورد آثار میدان‌های مغناطیسی بر سیستم‌های زنده، گزارش‌های ضد و نقیضی وجود دارد. از گذشته‌های بسیار دور انسان به تأثیر میدان مغناطیسی بر سیستم گردش خون

*نویسنده مسؤول: نشانی پست الکترونیک: ghangia@modares.ac.ir، شماره تماس: ۰۲۱۸۲۸۸۴۴۰۳

واقف بود و برای درمان برخی از بیماری های خونی از آن بهره می‌برده است (Santwani, 1981). تحقیقات دیگری نشان داده‌اند که میدان‌های مغناطیسی شدید باعث ابتلا به لوسمی در کودکان شده که با تخریب ملاتونین (melatonin) غده صنوبری (pineal) همراه است (Henshaw and Reiter, 2005). گزارش‌هایی نیز در زمینه تأثیر میدان در عالم پروکاریوتی و نیز گیاهی وجود دارد. در ۶۷ درصد مطالعات انجام شده، میدان مغناطیسی باعث کاهش درصد جوانه‌زنی شده است (Belyavskaya, 2004). در گیاه توتون درصد جوانه‌زنی بذرها، تحت تأثیر میدان مغناطیسی ۰/۱۵ تسلا (T) افزایش نشان می‌دهد. جوانه‌زنی بذرهای کاهو تحت تأثیر میدان مغناطیسی صفر تا ۱۰ میلی‌تسلا افزایش یافت (Aladjadjiyan, 2002). با این حال، مکانیسم تأثیر میدان‌های مغناطیسی بر سلول‌های زنده هنوز به طور دقیق مشخص نشده است، ولی باید گفت که آثار مهاری یا تحریکی میدان مغناطیسی بر رشد بافت‌ها به عواملی نظیر گونه و اندام گیاهی، فرکانس و نوع میدان، مدت زمان تیمار و سایر عوامل تنش‌زا بستگی دارد (Kato *et al.*, 1989). برخی تحقیقات نشان داده است که میدان مغناطیسی می‌تواند به تولید و یا افزایش طول عمر رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) منجر شود. تجمع این رادیکال‌ها می‌تواند به تنش اکسیداتیو منجر شود (Belyavskaya, 2004; Sahebjamei *et al.*, 2007). تنش اکسیداتیو باعث تغییر در فعالیت آنزیم‌ها، بیان ژن و آزاد سازی کلسیم از ذخایر سلولی می‌شود. همچنین، این تنش می‌تواند بر ساختار غشا، رشد سلول و مرگ سلول‌ها تأثیرگذار باشد (Green *et al.*, 1999). این رادیکال‌ها می‌توانند نقش دوگانه‌ای داشته باشند. به طوری که از یک سو باعث تخریب در سلول شود و از سوی دیگر، خود به عنوان مولکول سیگنال باعث به راه افتادن مکانیسم‌های دفاعی در سلول می‌شوند (Belyavskaya, 2004; Ghanati *et al.*, 2007). میدان مغناطیسی در سطح آنزیمی می تواند باعث افزایش فعالیت آنزیم‌هایی چون کاتالاز، کاتالاز، پلی فنل اکسیداز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز شود (Pandolfini *et al.*, 1992).

مکانیسم پیشنهادی دیگر برای نحوه عمل میدان مغناطیسی از طریق تأثیر بر مواد دارای خاصیت مغناطیسی است که مهم‌ترین این مواد عبارتند از مواد فرّومگنتیک نظیر آهن و مواد دیامگنتیک نظیر نشاسته. آهن به عنوان عنصری ضروری برای گیاهان دارای نقش دوگانه‌ایست، به طوری که از یک طرف در واکنش‌های اکسیداسیون-احیا و ساختار بسیاری از آنزیم‌های داخل سلولی نظیر کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز شرکت می کند و از سوی دیگر، از طریق واکنش هابر-وایس گونه‌های فعال اکسیژن تولید می کند (Dat *et al.*, 2000). بنابراین، تنظیم محتوای آهن سلولی بسیار حایز اهمیّت است. فرّیتین از جمله مولکول‌های مهم دخیل در تنظیم هموستازی آهن است که در تمام سلسله‌های موجودات زنده یافت می‌شود (Theil, 1987; Briat *et al.*, 1995; Chasteen and Harrison, 1999). فرّیتین با اکسید کردن Fe^{+2} به Fe^{+3}، آهن را در هسته مرکزی خود ذخیره می کند (Laulhère and Briat, 1993) و همچنین به عنوان ماده‌ای با گشتاور مغناطیسی (magnetic moment) نامزد مناسبی برای مطالعه برهم کنش آهن و میدان مغناطیسی در سلول‌های زنده

است (Cespedes and Ueno, 2009). تأثیر میدان مغناطیسی ۳۰ میلی تسلا بر سیستم‌های زیستی در گذشته روی سلول‌های گیاهی و جانوری بررسی شده است (Ghanati *et al.*, 2007; Ishiwata *et al.*, 2008). شدت میدان ۳۰ میلی تسلا به عنوان کمترین آستانه شدت میدان برای جابجایی مواد مغناطیسی در موجودات زنده معرفی شده است (Takashima *et al.*, 2003).

گیاه جعفری (*Ptroselinum crispum*) از خانواده چتریان (Apiaceae) است که در بسیاری از نقاط جهان و ایران دارای اهمیّت غذایی و دارویی است (Ozsoy-Sacan *et al.*, 2006). این گیاه حاوی مقادیر بالای آهن، کلسیم، منیزیم، ویتامین C و A است (Pennington and Church, 1985).

هدف این مطالعه بررسی تأثیر میدان مغناطیسی بر محتوای آهن و فرّیتین در سلول‌های جداکشت گیاه جعفری است. علاوه بر این، فعالیت سه آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز نیز بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

شرایط رشد سلولی و تیمار سلول‌ها با میدان مغناطیسی ایستا

پس از نگهداری سلول‌ها در محیط کشت‌های مختلف و چند بار واکشت آنها وزن کالوس‌ها اندازه‌گیری و نتایج به دست آمده با هم مقایسه شد. بر اساس نتایج به دست آمده، محیط کشت LS تغییر یافته (Sahebjamei *et al.*, 2007) به عنوان بهترین محیط انتخاب شد. برای تولید کالوس از بذرهای گیاه جعفری کشت شده در محیط کشت LS تغییر یافته (محیط کشت حاوی ۰/۱۵ mgL^{-1} کینتین، ۱/۵ mgL^{-1} تیامین، ۰/۷۵ mgL^{-1} پیریدوکسین، ۰/۷۵ mgL^{-1} نیکوتینیک اسید، و اسیدیته ۵/۸) استفاده شد. کالوس‌های به دست آمده از بخش هوایی چندین بار واکشت شد. برای تهیه کشت تعلیقی حدود ۲ گرم کالوس به ۳۰ میلی‌لیتر محیط کشت LS مایع اضافه و هر دو هفته واکشت شد.

به منظور تعیین وزن خشک گونه‌های مورد بررسی، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون ۷۰ درجه سانتیگراد نگهداری و سپس وزن خشک آنها اندازه‌گیری شد.

در بررسی حاضر، سلول‌ها در روز دهم پس از واکشت، مشابه تحقیقات گذشته (Shabrangi *et al.*, 2011)، به مدت ۴ ساعت، تحت تأثیر میدان مغناطیسی ایستا (۳۰ میلی تسلا) قرار گرفتند. پس از اتمام تیمار، سلول‌ها برداشت شده و برای انجام تحلیل‌های بیوشیمیایی در نیتروژن مایع (۸۰-درجه سانتیگراد) فریز و نگهداری شدند.

اندازه‌گیری محتوای آهن کل

۲ گرم نمونه گیاهی در کوره به مدت ۲ ساعت در دمای ۲۵۰ درجه سانتیگراد و سپس ۲ ساعت در دمای ۵۵۰ درجه سانتیگراد خاکستر شد. خاکستر حاصل در مخلوط کلریدریک اسید غلیظ و آب (۱:۱) هضم و سپس روی شن داغ (۱۱۰ درجه سانتیگراد) خشک شد. ۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۱ نرمال به آن اضافه شد تا کل محتوای آهن هضم شده و آهن کل با دستگاه جذب اتمی سنجیده شد (Katyal and Sharma, 1980).

اندازه‌گیری محتوای فرّیتین

نمونه‌های فریز شده روی یخ در بافر استخراج ساییده شدند (Lukac *et al.*, 2009) و با استفاده از کیت الایزا (ELISA) طبق روش Flowers و همکاران (۱۹۸۶) ارزیابی شدند. به طور خلاصه، یک گرم

نمونه روی یخ و در بافر استخراج (۱۰ میلی‌مولار بافر سدیم فسفات، ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، پلی وینیل پیرولیدین ۲ درصد و یک میلی‌مولار فنیل متان سولفونیل فلورایـد، اسیدیته ۷/۲) ساییده، سپس در دمای ۴ درجه سانتیگراد (دور g ۱۵۰۰۰ و به مدت ۱۰ دقیقه) سانتریفیوژ شد. ۵۰ میکرولیتر از محلول رویی و استاندارد به پلیتی که با آنتی‌بادی آنتی‌فرّیتین پوشیده شده بود، افزوده و سایر مراحل بر اساس دستورالعمل شرکت پیشتاز-طب انجام شد. محتوای فرّیتین بر اساس برهم کنش آنتی‌ژن-آنتی‌بادی و جذب در ۴۵۰ نانومتر با استفاده از الایزا ریدر (ELISA reader) سنجیده شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

به منظور استخراج آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (Giannopolitis and Ries, 1977) سلول‌های منجمد شده در بافر HEPES-KOH با اسیدیته ۷/۸، حاوی EDTA (۰/۱میلی‌مولار) عصاره‌گیری شد. همگنای حاصل در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شد (۱۵۰۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه). بخش رویی حاصل برای سنجش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز استفاده شد. به عصاره آنزیمی حاصل برای سنجش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز بافر HEPES-KOH (۵۰ میلی‌مولار) با اسدیته ۷/۸ حاوی EDTA (۰/۱ میلی مولار)، Na_2CO_3 (۵۰ میلی‌مولار) با اسیدیته ۱۰/۲، L-متیونین (۱۲ میلی‌مولار)، (NBT) نیترو بلو تترازولیوم (۷۵ میلی مولار)، ریبوفلاوین (یک میکرومولار) اضافه شد. عصاره آنزیمی به مقدار مناسب یک واحد فعالیت SOD به عنوان مقدار آنزیمی در نظر گرفته شد که منجر به مهار ۵۰ درصدی نیترو بلو تترازولیوم (NBT) در ۵۶۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (Sahebjamei *et al.*, 2007).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

سلول‌های منجمد شده گیاه جعفری در بافر سدیم فسفات (۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۷/۸) حاوی آسکوربات ۵ میلی‌مولار، دی تیو تریتول (DTT) ۵ میلی‌مولار، EDTA (۵ میلی‌مولار)، کلرید سدیم (۱۰۰ میلی‌مولار) و ۲ درصد Polyvinylpyrrolidin (PVP) عصاره‌گیری شد. همگنای حاصل در دور ۱۵۰۰۰g، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شد. از بخش رویی برای سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیداز استفاده شد. ترکیب واکنش شامل بافر سدیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار حاوی همه ترکیبات بالا، H_2O_2 (۴۴ میکرومولار) و عصاره آنزیمی به مقدار مناسب بود. فعالیت آنزیمی APX توسط کاهش در جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر با استفاده از ضریب ثابت ۲/۸ مول بر سانتی‌متر و به ازای هر میلی گرم پروتئین در عصاره آنزیمی محاسبه شد (Nakano and Asada, 1987).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز

مقدار ۲۰۰ میلی گرم از سلول جداکشت منجمد شده، در بافر سدیم فسفات ۲۵ میلی‌مولار (اسیدیته ۶/۱) عصاره‌گیری و مخلوط حاصل در ۱۲۰۰۰g و دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. از محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیمی استفاده شد. به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی بافر فسفات ۲۵ میلی‌مولار (اسیدیته ۶/۸) و H_2O_2 (۱۰ میلی‌مولار)

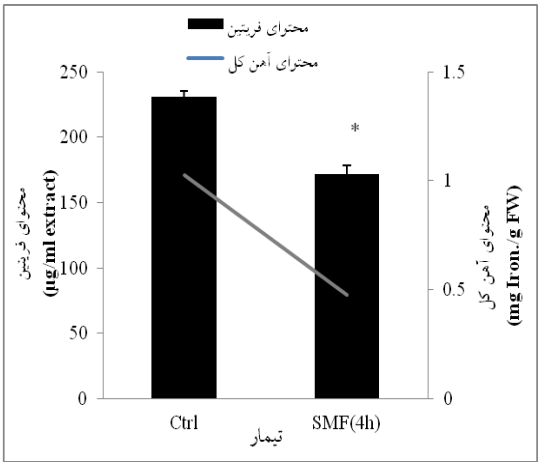
اضافه شد. فعالیت کاتالاز با توجه به روند تجزیه H_2O_2 و در نتیجه، کاهش جذب در ۲۴۰ نانومتر سنجیده، به ازای میلی گرم پروتئین عصاره آنزیمی محاسبه شد (Cakmak and Horst, 1991).

تحلیل داده‌ها

تمامی آزمایش‌ها با ۳ تکرار از حداقل ۳ نمونه مستقل انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ و آزمون توکی (Tukey) برای تعیین معنی‌دار بودن تفاوت‌ها در سطح $P\leq۰/۰۵$ انجام شد. ضریب همبستگی با استفاده از اندکس پیرسون تعیین شد.

نتایج و بحث

افزایش آهن در داخل سلول از یک سو از طریق واکنش فنتون، مقدار Fe^{+2} و رادیکال‌های آزاد داخل سلول را افزایش می‌دهد که این رادیکال‌ها می‌توانند به تخریب غشاها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک منجر شوند (Becana and Moran, 1998) و از سوی دیگر، افزایش آهن باعث به راه افتادن مکانیسم‌های دفاعی در داخل سلول می‌شود که حاصل آن کاهش محتوای آهن و حفظ هموستازی آن است. از جمله این مکانیسم‌ها ریال ذخیره شدن آهن در اندامک‌هایی نظیر واکوئل و یا در مولکول‌هایی نظیر فیتوفرّیتین است (Briat *et al.*, 1995؛ Chasteen and Harrison, 1999). علاوه بر این، آهن به عنوان ماده‌ای فرّومگنتیک تحت تأثیر میدان مغناطیسی قرار می‌گیرد. تحقیقات گذشته نشان داده است که میدان‌های مغناطیسی با افزایش اکسیداسیون لیپیدهای غشایی قادر به تغییر نفوذپذیری یون‌ها از خلال غشای سلول‌ها هستند (Vaezzadeh *et al.*, 2006). با وجود این، تحقیقات انجام شده روی تغییر محتوای آهن تحت تأثیر میدان‌های مغناطیسی اندک است (Dhawi and Al-Khayri, 2009). در این آزمایش، جذب آهن در پاسخ به میدان مغناطیسی کاهش یافت (شکل ۱). این کاهش می‌تواند ناشی از تغییر نفوذپذیری غشای سلولی و یا تغییر در عملکرد کانال‌های یونی تحت تأثیر میدان مغناطیسی باشد، به طوری که احتمالاً فسفولیپیدهای موجود در غشای پلاسمایی (که دارای خاصیت دیامگنتیک هستند)، تحت تأثیر میدان مغناطیسی قرار گرفته، جهت قرارگیری آنها در غشا تغییر کرده، در نتیجه، شیوه قرارگیری کانال‌های موجود در غشا نیز تغییر می‌کند (Yao *et al.*, 2005; Hajnorouzi *et al.*, 2011; Radhakrishnan and Kumari, 2012). از سوی دیگر نتایج نشان داد که به دنبال کاهش محتوای آهن سلولی، میزان فیتوفرّیتین نیز کاهش می‌یابد (شکل ۱).



شکل ۱- محتوای آهن کل سلولی و میزان فرّیتین در سلول‌های جداکشت گیاه جعفری در پاسخ به تأثیر میدان مغناطیسی ایستای ۳۰ میلی تسلا به مدت ۴ ساعت مقادیر، میانگین کمینه ۳ تکرار ± SD است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq۰/۰۵$ است. ضریب همبستگی میان محتوای آهن و محتوای فرّیتین در این آزمایش بیش از ۸۸ درصد است.

برخی مطالعات نشان می‌دهد که رابطه مستقیمی بین محتوای فرّیتین و mRNA فرّیتین با میزان آهن سلول وجود دارد (Van der Mark *et al.*, 1983; Lescure *et al.*, 1991)، بنابراین، کاهش جذب آهن خود می تواند علتی برای کاهش میزان فرّیتین باشد. به طوری که مطالعات آماری نشان می‌دهد که ضریب همبستگی میان محتوای آهن و محتوای فرّیتین حدود ۸۸ درصد است. از طرفی Belyavskaya (۱۹۸۱) پیشنهاد می کند که کاهش محتوای فیتوفرّیتین تحت تأثیر میدان مغناطیسی احتمالاً به علت مهار بیوسنتز فیتوفرّیتین باشد و یا از فیتوفرّیتین برای سنتز سایر پروتئین‌های حاوی آهن استفاده شده باشد.

علاوه بر فیتوفرّیتین که با جمع‌آوری آهن آزاد سلولی باعث کاهش احتمال وقوع واکنش فنتون و در نتیجه کاهش تولید ROS می‌شود، سلول‌ها قادرند از طریق آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نیز محتوای رادیکال‌های آزاد داخل سلولی را کاهش دهند (Kos *et al.*, 2008). مطالعات دیگر نشان می‌دهد که جمع‌آوری رادیکال‌های اکسیژن تولید شده توسط SOD یا سایر مسیرها، علاوه بر سیستم غیر آنزیمی می تواند از طریق آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر کاتالاز یا APX انجام شود (Sahebjamei *et al.*, 2007). میدان‌های مغناطیسی همچنین می‌توانند بر الکترون‌های جفت نشده فلزات موجود در ساختار این آنزیم‌ها و تغییر ساختار فضایی آنها بر فعالیت زیستی آنزیم‌ها تأثیر گذارند. SOD و APX و کاتالاز از جمله آنزیم‌هایی هستند که به علت داشتن آهن در ساختار خود می‌توانند تحت تأثیر میدان مغناطیسی قرار گیرند (Sahebjamei *et al.*, 2007; Celik *et al.*, 2010).

نتایج به دست آمده در این بررسی نشان داد که در شرایط مورد آزمایش در سلول‌های جعفری، فعالیت آنزیم SOD از ۳±۲۷ در گروه شاهد به ۲±۳۶ در گروه تیمار شده با میدان مغناطیسی افزایش یافته است (جدول ۱) که مشابه نتایجی است که Celik و همکاران (۲۰۱۰) به دست آوردند. نتایج آنها نشان داد که طی تیمار با میدان مغناطیسی مقدار رادیکال‌های آزاد افزایش می یابد و این افزایش خود می تواند به افزایش فعالیت SOD منجر شود. افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز احتمالاً موجب افزایش H_2O_2 می‌شود. به منظور جلوگیری از آثار نامطلوب افزایش H_2O_2، سلول با استفاده از سایر آنزیم‌ها یا سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی H_2O_2 را جاروب می کند.

جدول ۱- فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز در پاسخ به میدان مغناطیسی ۳۰ میلی‌تسلا. میزان فعالیت آنزیم SOD و APX به ترتیب بر اساس اختلاف جذب در ۵۶۰ و ۲۹۰ نانومتر بر میلی‌گرم پروتئین بیان شد. * نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح P≤۰/۰۵ است.

	فعالیت آسکوربات پراکسیداز Δabs 560/mg Pr	فعالیت سوپراکسید دیسموتاز Δabs 290/mg Pr
شاهد	۸۶±۲	۲۷±۳
میدان مغناطیسی ۳۰ میلی‌تسلا	۵۰±۲ *	۳۶±۲ *

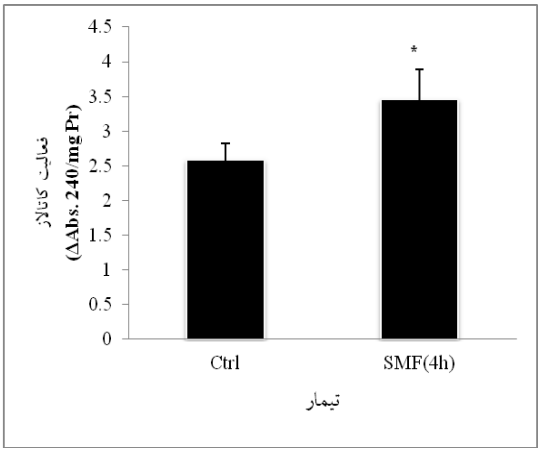
در این تحقیق، اندازه‌گیری فعالیت APX نشان داد که APX که یکی از آنزیم‌های جمع کننده ROS است، در پاسخ به میدان مغناطیسی از ۲±۸۶ در گروه شاهد به ۲±۵۰ در گروه تیمار کاهش یافت (جدول ۱). این کاهش همراه با کاهش محتوای آهن سلولی است و ضریب همبستگی آن با محتوای آهن سلول بیش از ۹۰ درصد است (جدول ۲). افزایش رادیکال‌های آزاد خود

می‌تواند به تنظیم فعالیت APX منجر شود. به طوری که پیشنهاد شده در حضور میدان مغناطیسی ۳۰ میلی‌تسلا فعالیت آنزیم APX و همچنین، بیان ژن یاد شده از طریق افزایش ROS مهار می‌شود (Sahebjamei *et al.*, 2007).

جدول ۲- همبستگی میان محتوای آهن در داخل سلول با فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (Pearson Index)

	ضریب همبستگی	سطح معناداری
محتوای آهن- کاتالاز	۰/۴۹-	۰/۰۵
محتوای آهن- آسکوربات پراکسیداز	۰/۹۱	۰/۰۵
محتوای آهن- سوپر اکسید دیسموتاز	۰/۹۶-	۰/۰۱

گزینه مناسب دیگر برای جمع‌آوری و تجزیه H_2O_2 کاتالاز است. همان طور که در شکل ۲ دیده می‌شود، فعالیت آنزیم کاتالاز در پاسخ به میدان مغناطیسی افزایش یافته است.



شکل ۲- فعالیت آنزیم کاتالاز در سلول‌های جداکشت گیاه جعفری در پاسخ به میدان مغناطیسی ایستا ۳۰ میلی‌تسلا. * نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح P≤۰/۰۵ است.

طبق واکنش‌هایی که در زیر آمده است افزایش فعالیت SOD به افزایش تولید H_2O_2 منجر می‌شود که خود پیش ماده اصلی لازم برای فعالیت کاتالاز است (Chen and Pan, 1996). بنابراین، به نظر می‌رسد در پاسخ به میدان مغناطیسی، فعالیت کاتالاز در سلول‌ها افزایش یافت تا H_2O_2 تولید شده توسط SOD را کاهش دهد و بدین ترتیب از آثار مخرب ناشی از تجمع آن جلوگیری کند (Celik *et al.*, 2010).

$$2H^{+}+2O_2 \xrightarrow{\text{کاتالاز}} H_2O_2$$

$$2\,H_2O_2 \xrightarrow[\text{SOD}]{} 2\,H_2O + O_2$$

بنابراین، همان طور که انتظار می‌رود یکی از مکانیسم‌های تأثیر میدان‌های مغناطیسی بر سیستم‌های زنده از طریق بر هم‌کنش با مولکول‌ها یا عناصر دارای ویژگی‌های مغناطیسی است که در این میان آهن و مولکول‌های زیستی حاوی آهن گزینه‌های مناسبی برای بررسی این بر هم‌کنش‌ها هستند. همچنین، میدان‌های مغناطیسی احتمالاً با تأثیر بر ساختار فضایی آنزیم و یا تغییر میزان و سرعت اتصال سوبسترا به آنزیم (Batcioglu *et al.*, 2002)، آثار خود را بر فعالیت آنزیم‌ها اعمال می‌کنند. بدین ترتیب، با توجه به حضور آهن در ساختار آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز، یکی از مکانیسم‌های احتمالی تغییر فعالیت این آنزیم‌ها در پاسخ به میدان مغناطیسی از طریق تأثیر بر آهن و به دنبال آن تغییر ساختار فضایی آنزیم است.

منابع

Batcioglu, K., Ozturk, K., Atalay, S., Dogan, D., Bayri, N. and Demirtas, H. (2002) Investigation of time dependent magnetic field effects on superoxide dismutase and

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

catalase activity. Journal of Biological Physics and Chemistry 2: 108-112.

Becana, M. and Moran, J. F. (1998) Iturbe-Ormaetxe, I. Iron-dependent oxygen free radical generation in plants subjected to environmental stress: toxicity and antioxidant protection. Plant and Soil 201: 137-147.

Belyavskaya, N. A. (1981) Changes in plastid ultrastructure in pea meristem cells exposed to magnetic fields with conditionally zero magnetic intensity. Ukrainian Botanical Journal 37: 81-82. (in Ukrainian).

Belyavskaya, N. A. (2004) Biological effects due to weak magnetic field on plants. Advances in space Research 34(7): 1566-1574.

Briat, J. F., Fobis-Loisy, I., Grignon, N., Lobréaux, S., Pascal, N., Savino, G., Thoiron, S., Von Wirén, N. and Van Wuytswinkel, O. (1995) Cellular and molecular aspects of iron metabolism in plants. Biology of the Cell 84: 69-81.

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

Celik, H., Aşik, B., Gürel, S., and Katkat, A. (2010) Effects of potassium and iron on macro element uptake of maize. Zemdirb Agriculture 97: 11-22.

Céspedes, O. and Ueno, S. (2009) Effects of radio frequency magnetic fields on iron release from cage proteins. Bioelectromagnetics 30: 336-342.

Chasteen, N. D. and Harrison P. M. (1999) Mineralization in ferritin: an efficient means of iron storage. Journal of Structural Biology 126: 182-194.

Chen, C. and Pan, Z. (1996) Assay of superoxide dismutase activity by combining electrophoresis and densitometery. Botanical Bulletin of Academia Sinica 37: 107-111.

Dat, J., Vandenabeele, S., Vranova, E., Van Montagu, M., Inze, D. and Van Breusegem, F. (2000) Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. Cellular and Molecular, Life Sciences 57: 779-795.

Dhawi, F. and Al-Khayri, J. (2009) Magnetic fields induce changes in photosynthetic pigments content in date palm (*Phoenix dactylifera* L.) seedlings. The Open Agriculture Journal 3: 1-5

Flowers, C. A., Kuizon M., Beard J. L., Skikne B. S., Covell A. M. and Cook J. D. A. (1986) Serum ferritin assay for prevalence studies of iron-deficiency. American Journal of Hematology 23(2): 141-151.

Ghanati, F., Abdolmaleki, P., Vaezzadeh, M., Rajabbeigi, E. and Yazdani, M. (2007) Application of magnetic field and iron in order to change medicinal products of *Ocimum basilicum*. Environmentalist 27: 429-434.

Giannopolitis, C. N. and Ries S. K. (1977) Superoxide dismutase I occurrence in higher plants. Plant Physiology 59: 309-314.

Green, L. M., Miller, A. B., Agnew, D. A., Greenberg, M. L., Li, J., Villeneuve, J. P. and Tibshirani, R. (1999) Child- hood leukaemia and personal monitoring of residential exposures to electric and magnetic fields in Ontario, Canada. Cancer Causes Control 10: 233-243.

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

Henshaw, D. and Reiter, R. (2005) Do magnetic fields cause increased risk of childhood leukaemia via melatonin disruption? Bioelectromagnetics 26(S7): 86-97

Ishiwata, S., Taguchi, Y., Murakawa, H., Onose, Y. and Tokura, Y. (2008) Low-magnetic-field control of electric polarization vector in a helimagnet. Science 319: 1643-1646.

Kato, R., Kamada, H. and Asashma, M. (1989) Effect of high and very low magnetic field

on the growth of hairy roots of *Daucus carotta* and *Atropa belladonna*. Cell Physiology 30: 605-608

Katyal, K. C. and Sharma, B. D. (1980) A new technique of plant analysis to resolve iron chlorosis. Plant and Soil, 55: 105-109.

Kos, P., Oláh, R., Zok, A., Horváth, G., Szegedi E., Váradi, G., Bálo, B. and Hideg, E. (2008). The role of ferritin in enhancing the stress tolerance of grapevine. Acta Biologica Szegediensis 52: 41-43

Laulhère, J. and Briat, J. (1993) Iron release and uptake by plant ferritin: effects of pH, reduction and chelation. Biochemical Journal 290: 693-699.

Lescure, A., Proudhon, D., Pesey, H., Ragland, M., Theil, E. C. and Briat, J. (1991) Ferritin gene transcription is regulated by iron in soybean cell cultures. Biochemistry 88: 8222-8226.

Lukac, R. J., Aluru, M. R. and Reddy, M. B. (2009) Quantification of ferritin from staple food crops. Journal of Agriculture and Food Chemistry 57: 2155-2161.

Nakano, Y. and Asada, K. (1987) Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts; its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. Plant Cell Physiology 28(1): 131-140.

Ozsoy-Sacan, O., Yanardag, R., Orak, H., Ozgey, Y., Yarat, A. and Tunali, T. (2006) Effects of parsley (*Petroselinum crispum*) extract versus glibornuride on the liver of streptozotocin-induced diabetic rats. Journal of Ethno Pharmacology 104: 175-181.

Pandolfini, T., Gabbrielli, R. and Comparini, C. (1992) Nikel toxicity and peroxidase activity in seedlings of *Triticum aestivum* L. Plant, Cell and Environment 15: 719-725.

Pennington, J. and Church, H. (1985) Bowes and church's food values of portions commonly used. 14th Ed, Lippincott, Williams and Wilkins, Pennsylvania.

Radhakrishnan, R. and Kumari, B. (2012) Pulsed magnetic field: a contemporary approach offers to enhance plant growth and yield of soybean. Plant Physiology and Biochemistry 51: 139-144.

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

Santwani, M. T. (1981) The Art of Magnetic Healing. B. Jain Publishers, New Delhi.

Shabrangi, A., Majd, A. and Sheidai, M. (2011) Effects of extremely low frequency electromagnetic fields on growth, cytogenetic, protein content and antioxidant system of *Zea mays* L. African Journal of Biotechnology 10: 9362-9369.

Takashima, Y., Ikehata, M., Miakoshi, J. and Koana, T. (2003) Inhibition of UV-induced G1 arrest by exposure to 50 Hz magnetic fields in repair-proficient and -deficient yeast strains. International Journal of Radiation Biology 79: 919-924.

Theil, E. C. (1987) Ferritin: structure, gene regulation, and cellular function in animals, plants, and microorganisms. Annual Review of Biochemistry 56: 289-315.

Vaezzadeh, M., Noruzifar, E., Ghanati, F., Salehkotahi, M. and Mehdian, M. (2006) Excitation of plant growth in dormant temperature by steady magnetic field. Journal of Magnetism and Magnetic Materials 302: 105-108.

Van der Mark, F., Bienfait, F. and Van den Ende, H. (1983) Variable amounts of translatable ferritin mRNA in bean leaves with various iron contents. Biochemical and Biophysical Research Communications 115: 463-469.

Yao, Y., Li, Y., Yang, Y. and Li, C. (2005) Effect of seed pretreatment by magnetic field on the sensitivity of cucumber (*Cucumis sativus*) seedlings to ultraviolet-B radiation. Environmental and Experimental Botany 54: 286-294.

Physiologic responses of suspension-cultured parsley cells to static magnetic field

Elham Rajabbeigi [1], Faezeh Ghanati [1]* and Parviz Abdolmaleki [2]

[1] Department of Plant Biology, Faculty of Biological Science, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
[2] Department of Biophysics, Faculty of Biological Science, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Abstract

Magnetic field is an environmental factor for living organisms which affects biological processes in different ways. Living cells contain electrical charges which are produced by free ions or radicals. Magnetic fields can influence cells via interaction with ions and especially ferromagnetic materials, like iron. In this study, parsley or *Petroselinum crispum* cells were treated by static magnetic field (30 mT, for 4 hours) and the total content of iron, ferritin and the activity of ascorbate peroxidase, superoxide dismutase and catalase were assayed. Results showed a significant decrease in the total iron content and it was followed by a decrease in ferritin content. Ascorbate peroxidase activity was reduced. It could be resulted by decrease of iron as a structural element. However, superoxide dismutase and catalase activity increased in response to magnetic field compared to the control cells. It seemed that catalase activities increased scavenge H_2O_2 produced by increasing superoxide dismutase activity.

Key words: Ascorbate peroxidase, Iron, Superoxide dismutase, Ferritin, Catalase, Magnetic field

* Corresponding Author: ghangia@modares.ac.ir