

اثر میدان مغناطیسی بر جوانه‌زنی، شاخص‌های رشد و فعالیت برخی آنزیم‌ها در بذر سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.)

لطیفه پور اکبر^{۱*}، مجید اسدی سامانی^۱ و رقیه اشرفی^۲
^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
^۲ پژوهشکده زیست‌فناوری، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

چکیده

به منظور بررسی اثر میدان مغناطیسی بر صفات جوانه‌زنی، بذرهاى گیاه سیاه‌دانه در معرض میدان مغناطیسی با شدت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌تسلا به مدت صفر، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه قرار گرفتند. نتایج نشان داد که اعمال میدان مغناطیسی عملکرد بذرها را در محیط کشت آزمایشگاه افزایش می‌دهد. درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه، طول کل دانه‌رست‌ها، وزن خشک، شاخص بنیه گیاهی I و شاخص بنیه گیاهی II به طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت. در طی ترکیب شدت میدان مغناطیسی و مدت زمان، میدان مغناطیسی با شدت ۲۵ میلی‌تسلا و به مدت ۶۰ دقیقه نتایج بهتری نشان داد. همچنین، در بذرهاى در حال جوانه‌زنی تحت تأثیر میدان‌های مغناطیسی فعالیت آنزیم‌های آلfa آمیلاز، دهیدروژناز و پروتئاز به طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بود. فعالیت آنزیمی بیشتر در بذرهاى در حال جوانه‌زنی تیمار شده با میدان مغناطیسی ممکن است به عنوان محرکی برای جوانه‌زنی سریع و نیروی ابتدایی جوانه‌زنی به کار رود.

واژه‌های کلیدی: سیاه‌دانه، جوانه‌زنی بذر، آلfa آمیلاز، دهیدروژناز، پروتئاز، میدان مغناطیسی

مقدمه

کشت گیاهان دارویی و معطر از دیرباز جایگاه ویژه‌ای در نظام‌های سنتی کشاورزی در ایران داشته، این نظام‌ها از نظر ایجاد تنوع و پایداری این گیاهان نقش مهمی ایفا کرده‌اند. سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) گیاهی دولپه، علفی و یک ساله متعلق به خانواده آلاله

است که در زبان انگلیسی Black cumin و در زبان عربی به آن شونیز گفته می‌شود (زرگری، ۱۳۶۸). برای دانه این گیاه خواصی مانند شیرآوری، ضد نفخ، مسهل، ضد انگل، ضد صرع، ضد ویروس، ضد باکتری، ضد تومور، مسکن و کاهش‌دهنده قند خون را ذکر کرده‌اند (Bassim, 2003). سیاه‌دانه به طور خودرو از جنوب

بیشتری به آن داشته‌اند. از روش‌های فیزیکی می‌توان به یونیزه کردن، لیزر، اشعه ماورای بنفش و میدان‌های الکتریکی و مغناطیسی اشاره کرد که بر خلاف روش‌های شیمیایی آسیب کمتری به محیط زیست وارد می‌کنند (Dorna *et al.*, 2010).

نخستین کوشش‌های مفید برای بهبود کیفیت بذر با اعمال میدان‌های مغناطیسی و الکترومغناطیسی از سال ۱۹۳۰ شروع شد (Dorna *et al.*, 2010). بسیاری از دانشمندان افزایش بنیه بذر و جوانه‌زنی گونه‌های مختلف توسط تیمار با میدان الکترومغناطیسی و مغناطیس را نشان داده‌اند (Martinez *et al.*, 2000; Nagarajan و Vashisth. Carbonell *et al.*, 2008) (۲۰۰۸) گزارش کرده‌اند که میدان مغناطیسی باعث افزایش ۴۶-۷۱ درصدی بنیه بذر نخود شده، طول دانه‌رست‌ها را به میزان ۵۸-۹۰ درصد و وزن خشک دانه‌رست‌ها را به میزان ۲۵-۴۷ درصد بهبود بخشید. همچنین، Aladjadjian (۲۰۰۲) نشان داد که اعمال میدان مغناطیسی به شدت ۱۵۰ میلی‌تسلا جوانه‌زنی، وزن تر و طول ساقه و در نتیجه توسعه ساقه را در گیاه ذرت افزایش می‌دهد.

تأثیر میدان مغناطیسی در رفتار سیستم‌های زنده برای مدت‌های طولانی مورد مطالعه قرار گرفته، اما آثار آن بر گیاهان تنها در طی دهه‌های اخیر مطالعه شده است، با این حال هنوز مکانیسم عمل میدان‌های مغناطیسی بر گیاهان ناشناخته باقی مانده است؛ از آنجایی که گیاهان دارویی نقش مهمی در سیستم سلامتی جمعیت بزرگی از مردم جهان دارند تحقیقات و به کارگیری روش‌هایی برای بهبود تکثیر و به کارگیری آنها اهمیت زیادی

اروپا تا خاورمیانه و شبه قاره هند دیده می‌شود، ولی محققان منشأ آن را خاورمیانه و غرب آسیا می‌دانند. این گیاه در بسیاری از مناطق کشور ایران به شکل خودرو وجود دارد و در برخی نقاط نیز کشت می‌شود (Bassim, 2003).

کشاورزی بوم‌شناسی (اکولوژیک)، یک سیستم کشاورزی تلفیقی مبنی بر اصول اکولوژیکی است که در آن کیفیت محصولات مهم‌تر از کمیت آنهاست. نظام‌های کشاورزی بوم‌شناسی و کم‌نهاد می‌توانند به عنوان جایگزینی برای سیستم‌های رایج در نظر گرفته شده، باعث توسعه کشاورزی پایدار و حفظ سلامت محیط زیست شوند (Arun, 2002). تمایل به تولید گیاهان دارویی و معطر و تقاضا برای محصولات طبیعی به خصوص در شرایط کشت بوم‌شناختی در جهان رو به افزایش است (Carrubba *et al.*, 2002). کشت بوم‌شناسی گیاهان دارویی، کیفیت آنها را تضمین کرده و احتمال آثار منفی بر کیفیت دارویی و عملکرد آنها را نیز کاهش می‌دهد (Griffe *et al.*, 2003).

در علوم کشاورزی به روش‌هایی که موجب افزایش عملکرد گیاهان می‌شود، توجه شده، در کنار آن ارزان بودن، اکولوژیک بودن و در نتیجه عدم آسیب‌رسانی به محیط زیست نیز در نظر گرفته می‌شود. از سوی دیگر، تقاضای تولید محصول زیستی به واسطه کیفیت بالای بذرها نسبت به کشاورزی سنتی بسیار بالاست (Dorna *et al.*, 2010). برای کشاورزانی که از روش زیستی استفاده می‌کنند، سلامت بذر از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. روش‌های فیزیکی توانسته است کیفیت بذر را بهبود بخشد و در همین راستا محققان توجه

رطوبت، آب مقطر به آنها اضافه شد. در طی این مدت، هر روز تعداد بذرهای جوانه زده شمارش شد. پس از ۱۰ روز، پتری‌دیش‌ها از انکوباتور خارج و درصد و شاخص جوانه‌زنی، ضریب سرعت جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه، وزن تر و خشک دانه‌رست‌ها اندازه‌گیری شد. شاخص بنیه دانه‌رست‌ها با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد:

$$\text{درصد جوانه‌زنی} = \frac{\text{تعداد کل بذرهای جوانه زده پس از روز دهم}}{\text{تعداد کل بذرهای کشت شده در هر پتری}} \times 100$$

$$\text{ضریب سرعت جوانه‌زنی} = \frac{\sum ni}{\sum niTi} \times 100$$

$$\text{شاخص جوانه‌زنی} = \frac{\sum niTi}{N}$$

$ni =$ تعداد بذر جوانه زده در روز Ti

$N =$ تعداد کل بذرهای کشت شده

همچنین، شاخص بنیه دانه‌رست‌ها (Vigor) بر اساس فرمول Abdul-Baki و Anderson (۱۹۷۳) محاسبه شد:

$$\text{طول کل (سانتی‌متر)} \times \text{درصد جوانه‌زنی} = \text{شاخص بنیه گیاهچه I}$$

$$\text{وزن خشک (گرم)} \times \text{درصد جوانه‌زنی} = \text{شاخص بنیه گیاهچه II}$$

میزان فعالیت آنزیم‌های مرتبط با فرآیندهای جوانه‌زنی در بذر گیاهان شاهد و تیمار یافته با میدان مغناطیسی، ۲۴ ساعت پس از جذب آب مقطر در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری فعالیت آلفا آمیلاز از روش Roberts و White house (۱۹۷۶) استفاده شد. یک گرم بذر جوانه زده توزین و با ۳ میلی‌لیتر آب مقطر سرد شده با یخ، در داخل هاون سرد ساییده شد. ماده همگن حاصل از یک پارچه تنظیف عبور داده، سپس

دارد. در این راستا، از اهداف این مطالعه بررسی آثار احتمالی دو شدت مختلف میدان مغناطیسی و مدت زمان مختلف اعمال آن بر بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی، شاخص‌های رشد و فعالیت آنزیم‌های دخیل در جوانه‌زنی بذر گیاه سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) بود.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر میدان‌های مغناطیسی بر صفات جوانه‌زنی بذرهای سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) آزمایشی در سال ۱۳۸۹ در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشکده علوم ارومیه انجام شد. بذرهای مراکز فروش بذرهای گیاهان دارویی تأیید شده توسط جهاد کشاورزی تهیه و به مدت صفر، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه در معرض شدت میدان الکترومغناطیسی صفر، ۲۵ و ۵۰ میلی‌تسلا در آزمایشگاه ابر رسانایی دانشگاه ارومیه قرار گرفت. برای اعمال تیمار از تولید کننده میدان مغناطیسی ساخت ایران با قدرت تولید میدان مغناطیسی تا ۲ تسلا، برای ایجاد شدت میدان‌های یاد شده از منبع تغذیه AP 10090 (DC power supply) ساخت انگلیس و برای سنجش میدان مغناطیسی ایجاد شده از دستگاه تسلا متر مدل PHYWE ساخت آلمان با قابلیت اندازه‌گیری ۲۰-۲۰۰ میلی‌تسلا استفاده شد. بذرهای پس از قرار گرفتن در تیمارهای مورد نظر، با هیپوکلریت ۵ درصد ضد عفونی شدند. سپس دستجات ۲۰ تایی از بذرهای یاد شده تهیه و درون ظروف پتری‌دیش استریل به قطر ۱۷ سانتی‌متر که حاوی کاغذ صافی واتمن شماره ۱ و آب مقطر بود در ۳ تکرار قرار گرفته، به مدت ۱۰ روز درون انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتیگراد قرار داده شد. در این مدت در صورت کمبود

آغاز شد. پس از انکوبه کردن لوله‌ها در دمای ۵۰ درجه به مدت ۲ ساعت واکنش با اضافه کردن ۳ میلی‌لیتر محلول TCA (تری کلرو استیک اسید) ۵ درصد متوقف شد. سپس در دور ۱۴۰۰۰ و دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. مقدار پروتئین محلول رویی توسط روش Lowry و همکاران (۱۹۵۱) با استفاده از آلبومین سرم گاوی به عنوان استاندارد اندازه‌گیری شد.

فعالیت آنزیم دهیدروژناز با استفاده از روش Kitzcock و Law (۱۹۶۸) اندازه‌گیری شد. برای تعیین فعالیت دهیدروژناز، دانه‌ها به دو بخش برش داده شدند. ۵ محور جنینی از هر کدام از دانه‌ها در ۴ سری آماده و یک میلی‌لیتر محلول ۲، ۳ و ۵ تری فنیل تترازولیوم کلراید ۱ درصد در داخل بافر فسفات ۰/۱ مولار اضافه شده، لوله‌های نمونه در تاریکی در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲ ساعت انکوبه شدند. سپس محلول اضافه شده تخلیه و محورهای دانه با استفاده از آب مقطر شستشو داده شدند. در ادامه محورهای دانه در متیل سلوسولو (methyl cellosolve) ۸۰ درصد به مدت یک شبانه روز خیسانده، تا استخراج فورمازان (formazan) قرمز رنگ شده به هم زده شد. در پایان، شدت رنگ تولید شده با استفاده از اسپکتروفتومتر در ۴۸۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

مطالعات آماری

برای تحلیل داده‌ها و رسم نمودارها از نرم‌افزارهای SPSS نسخه ۱۶ و Excel استفاده شد. در همه نمودارها نتایج به صورت مقادیر میانگین سه تکرار بیان شد. بارهای عمودی نشان دهنده $\pm SE$ برای سه تکرار است.

محلول حاصل به مدت ۵ دقیقه با نیروی ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از عمل سانتریفیوژ، محلول صاف رویی برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده گردید. به تعداد لوله‌های حاوی آنزیم (تکرار \times تیمار) ظرف تهیه و به هر کدام ۰/۵ میلی‌لیتر معرف ید و یدور پتاسیم (I_2 و KI) و ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. سپس سیستم زیر برقرار گردید. محلول ۱ درصد نشاسته آماده شد و در هر لوله آزمایش ۳ میلی‌لیتر محلول نشاسته ۱ درصد، ۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۲ میلی‌لیتر محلول آنزیم استخراجی اضافه گردید و سریع به هم زده شد. پس از گذشت ۵ دقیقه ۱ میلی‌لیتر از محلول فوق برداشته و به داخل ظرف محتوی ۰/۵ میلی‌لیتر ید و ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شد. نشاسته در مجاورت محلول فوق رنگ آبی را ظاهر نمود. جذب تمام نمونه‌ها در طول موج ۶۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل KLB ساخت انگلیس) اندازه‌گیری شد. میزان آمیلاز در نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد نشاسته و بر حسب میزان نشاسته هیدرولیز شده محاسبه شد.

فعالیت آنزیم پروتئاز با استفاده از روش Kunitz (۱۹۴۷) اندازه‌گیری شد. یک گرم از دانه‌های در حال جوانه‌زنی در ۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار ساییده و در دور ۱۲۰۰۰ و دمای ۴۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیمی برداشته شد. ۰/۲ میلی‌لیتر بافر فسفات به ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول رویی اضافه و حجم آن با استفاده از آب مقطر به یک میلی‌لیتر رسانده شد. واکنش با اضافه کردن یک میلی‌لیتر کازئین ۱ درصد به عنوان سوبسترا

افزایش معنی‌داری یافت که بیشینه اثر بر عوامل یاد شده در شدت ۲۵ میلی‌تسلا و بازه زمانی ۶۰ دقیقه مشاهده شد.

میدان مغناطیسی در همه شدت‌ها و بازه‌های زمانی اعمال شده اثر مثبت بر وزن تر دانه‌رُست‌ها داشت و در هر دو شدت، وزن تر نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد.

بررسی اثر میدان مغناطیسی بر وزن خشک گویای آن بود که میدان مغناطیسی در هر دو شدت اثری بر وزن خشک نسبت به شاهد ندارد و در شدت ۵۰ میلی‌تسلا و بازه زمانی ۶۰ دقیقه نسبت به شاهد وزن خشک کاهش یافت.

بررسی اثر میدان مغناطیسی بر شاخص بنیه گیاهچه I نشان داد که میدان مغناطیسی در هر دو شدت و در همه بازه‌های زمانی باعث افزایش معنی‌دار شاخص بنیه گیاهچه I نسبت به شاهد می‌شود و بیشترین اثر در این مورد در شدت ۲۵ میلی‌تسلا و در بازه زمانی ۶۰ دقیقه مشاهده شد، در حالی که میدان مغناطیسی اثری بر شاخص بنیه گیاهچه II نداشت و در هر دو شدت و در همه بازه‌های زمانی اختلاف معنی‌داری بین دانه‌رُست‌های تیمار شده و شاهد وجود نداشت.

بررسی تأثیر میدان مغناطیسی با بازه‌های مختلف زمانی بر فعالیت آنزیم‌های دخیل در جوانه‌زنی نشان داد که فعالیت هر سه آنزیم آلفا آمیلاز (شکل ۱ الف)، دهیدروژناز (شکل ۱ ب) و پروتئاز (شکل ۱ ج) با اعمال میدان مغناطیسی در همه بازه‌های زمانی افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد دارد.

اختلاف بین تیمارها با استفاده از آنالیز واریانس ANOVA در سطح آماری ۵ درصد ($P \leq 0/05$) انجام شد.

نتایج

نتایج حاصل از تأثیر میدان مغناطیسی بر درصد، شاخص، ضریب و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه، طول ساقه، طول کل دانه‌رُست‌ها و وزن تر و خشک دانه‌رُست‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. میدان مغناطیسی در هر دو شدت باعث افزایش درصد جوانه‌زنی شد، ولی بیشترین اثر را در شدت ۲۵ میلی‌تسلا در همه بازه‌های زمانی نشان داد که این افزایش نسبت به شاهد معنی‌دار بود.

بررسی تأثیر میدان مغناطیسی بر سرعت جوانه‌زنی گویای افزایش معنی‌دار این ضریب نسبت به شاهد بود که بیشترین اثر در شدت ۵۰ میلی‌تسلا در بازه زمانی ۶۰ دقیقه و کمترین اثر در شدت ۵۰ میلی‌تسلا در بازه زمان ۱۲۰ دقیقه مشاهده شد.

میدان مغناطیسی در همه شدت‌ها و بازه‌های زمانی به غیر از مدت زمان ۶۰ دقیقه در هر دو شدت ۲۵ و ۵۰ میلی‌تسلا تأثیر معنی‌داری نسبت به شاهد بر ضریب سرعت جوانه‌زنی نشان نداد.

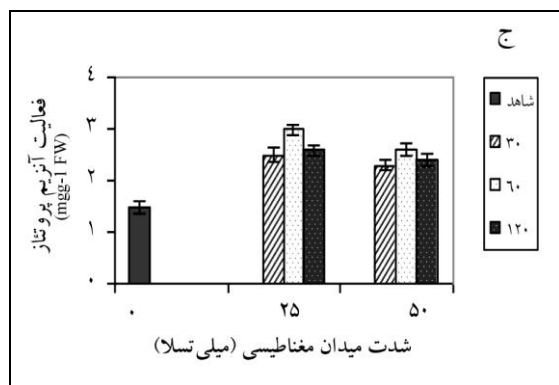
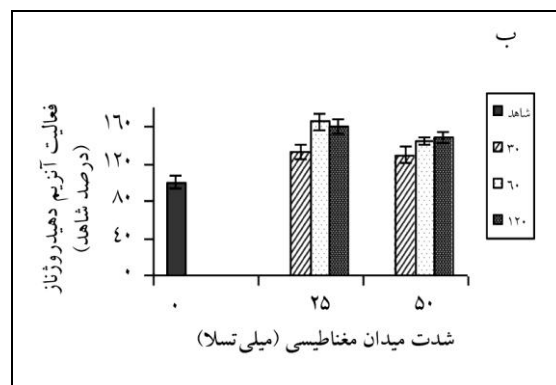
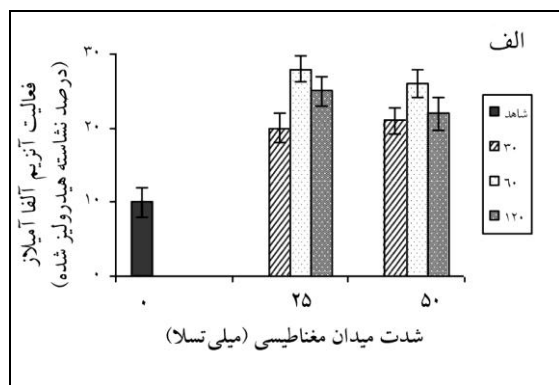
بررسی اثر میدان مغناطیسی بر طول ریشه و طول کل دانه‌رُست‌ها نشان داد که همه شدت‌های میدان مغناطیسی در کل بازه‌های زمانی اعمال شده اثر مثبت بر طول ریشه و طول کل دانه‌رُست‌ها داشته، در هر دو شدت، طول ریشه و کل دانه‌رُست‌ها نسبت به شاهد

جدول ۱- میانگین صفات جوانه‌زنی در بذر گیاه سیاه‌دانه تحت تأثیر شدت‌های میدان مغناطیسی صفر، ۲۵ و ۵۰ میلی‌تسلا در مدت زمان‌های صفر، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه. * بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ ($P \leq 0.05$) بر اساس آزمون ANOVA است.

میدان مغناطیسی	زمان	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	شاخص جوانه‌زنی	طول ریشه‌چه	طول ساقه‌چه
شاهد	۰	۹۵ ± ۱/۵	۸/۲ ± ۰/۴۵	۲/۴ ± ۰/۲	۴ ± ۰/۳۳	۲/۲۱ ± ۰/۲۸
۲۵	۳۰	۱۰۰ ± ۰*	۸/۴ ± ۰/۳۳	۲/۶۵ ± ۰/۱۳	۵/۸ ± ۰/۴۱*	۳/۲۹ ± ۰/۱*
۲۵	۶۰	۱۰۰ ± ۰*	۹/۴۲ ± ۰/۲۲*	۲/۳۰ ± ۰/۱۱	۷/۰۲ ± ۱*	۳۰/۱۲ ± ۰/۱۲*
۲۵	۱۲۰	۱۰۰ ± ۰*	۸/۳۳ ± ۰/۱۶	۲/۵۵ ± ۰/۰۸	۶/۶۲ ± ۰/۶۶*	۲/۶۶ ± ۰/۰۹
۵۰	۳۰	۹۸ ± ۲	۸/۸۳ ± ۰/۱۵	۲/۳۵ ± ۰/۰۵	۶/۶۴ ± ۰/۶۷*	۲/۱۱ ± ۰/۰۷
۵۰	۶۰	۹۸ ± ۱/۷	۹/۵۳ ± ۰/۱۹*	۲/۳ ± ۰/۰۸	۶/۰۲ ± ۰/۵۱*	۲/۶۸ ± ۰/۰۲
۰	۱۲۰	۹۸ ± ۱/۹	۸/۱۹ ± ۰/۱۰	۳/۰۵ ± ۰/۱۴	۶۰/۰۱ ± ۰/۴۴*	۳/۷۲ ± ۰/۱۳*

جدول ۱- ادامه ...

میدان مغناطیسی	زمان	طول کل دانه‌زست	وزن خشک	شاخص بنیه	شاخص بنیه
شاهد	۰	۶/۲۱ ± ۰/۲۲	۰/۰۳۷ ± ۰/۰۰۹	۵۸۹/۹ ± ۱۳/۱	۳/۵۱ ± ۰/۰۲
۲۵	۳۰	۹/۰۹ ± ۰/۴*	۰/۰۳۹ ± ۰/۰۰۶	۹۰۹ ± ۱۵/۸*	۳/۹ ± ۰/۰۲۸
۲۵	۶۰	۱۰/۱۴ ± ۰/۶*	۰/۰۳۸ ± ۰/۰۰۵	۱۰۱۴ ± ۲۰*	۳/۸ ± ۰/۰۱۵
۲۵	۱۲۰	۹/۲۸ ± ۰/۳۳*	۰/۰۳۵ ± ۰/۰۰۳	۹۲۸ ± ۱۶/۷*	۳/۵ ± ۰/۰۰۹
۵۰	۳۰	۸/۷۵ ± ۰/۵۵*	۰/۰۳۷ ± ۰/۰۰۶	۸۵۷/۵ ± ۱۸/۲*	۳/۷۲ ± ۰/۰۱۸
۵۰	۶۰	۸/۷ ± ۰/۲۲*	۰/۰۳۱ ± ۰/۰۰۶	۸۵۲ ± ۱۳/۲*	۳/۰۳ ± ۰/۰۱۶
۰	۱۲۰	۹/۳۷ ± ۰/۶۱*	۰/۰۳۶ ± ۰/۰۰۵	۹۱۸/۲۶ ± ۱۹*	۳/۵۲ ± ۰/۰۰۸



شکل ۱- تغییرات در فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی، آلفا آمیلاز (الف)، دهیدروژناز (ب) و پروکسازاز (ج) ۲۴ ساعت پس از آماس در بذرهای شاهد و تحت تیمار شدت‌های مختلف میدان مغناطیسی به مدت صفر، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه در بذر سیاه‌دانه. مقادیر، میانگین ۳ تکرار \pm SE است. میزان معنی‌دار بودن تغییرات در گروه تجربی در مقایسه با شاهد بر اساس آزمون ANOVA در سطح ۰/۰۵ است.

بحث

اعمال میدان مغناطیسی در شدت‌ها و بازه‌های زمانی به کار رفته در این آزمایش سبب تحریک و افزایش جوانه‌زنی و عملکرد بذرهای سیاه‌دانه شد. این نتیجه با نتایج حاصل از تحقیقات انجام گرفته روی بذرهای گیاهان دیگر مانند ذرت، تربچه و نخودفرنگی همسویی نشان می‌دهد (Aladadjiyani, 2002; Yano *et al.*, 2001; Podesny *et al.*, 2005). همچنین، تحقیقات دیگر در این زمینه نشان داده است که اعمال کوتاه مدت میدان مغناطیسی به بذرها، جوانه‌زنی و رشد دانه‌رست‌های آنها را تحریک می‌کند (Martinez *et al.*, 2000; Carbonell *et al.*, 2008). مغناطیسی باعث شد که جوانه‌زنی بذرها ۲ تا ۳ روز زودتر از شاهد رخ دهد. یکی از فرضیه‌های احتمالی برای توضیح آثار مثبت مشاهده شده از میدان مغناطیسی را می‌توان در خواص پارامغناطیسی برخی از اتم‌های سلول‌های گیاهی و رنگیزه‌های کلروپلاستی یافت. اعمال میدان مغناطیسی خارجی به این اتم‌ها باعث چرخش آنها در راستای میدان مغناطیسی می‌شود. خواص مغناطیسی مولکول‌ها سبب توانایی آنها در جذب انرژی میدان مغناطیسی و تغییر آن به انواع دیگر انرژی شده و این انرژی به ساختارهای دیگر سلول‌های گیاهی منتقل شده و نهایتاً باعث فعال شدن آنها می‌شود (Aladadjiyani, 2010). از سوی دیگر، بسیاری از محققان عامل افزایش ظرفیت جوانه‌زنی و شتاب مراحل مورفولوژیک در بذرها را افزایش جذب آب بیان کرده‌اند (Reina *et al.*, 2001; Fischer *et al.*, 2004). میدان مغناطیسی نه تنها باعث نفوذ سریعتر آب به بذر می‌شود، بلکه بر سرعت واکنش‌های آنزیمی نیز

از این طریق اثر می‌گذارد. افزایش جذب آب در اولین مرحله باعث شتاب در آماس بذرها تحت تأثیر میدان مغناطیسی شده که پی‌آمد آن افزایش وزن تر آنهاست؛ به علاوه، افزایش وزن دانه‌رست‌ها ممکن است با افزایش متابولیسم سریعتر با محتوای آبی بیشتر در گیاهان ارتباط داشته باشد (Fischer *et al.*, 2004). میدان مغناطیسی باعث کاهش کشش سطحی و ویسکوزیته آب (Pang and Deng, 2008) و به همان اندازه موجب کاهش گرمای نهان تبخیر شده که نهایتاً بخار شدن سریع آب را در پی دارد (Galland and Pazur, 2005). این سه پدیده با قدرت عمل تعیین شده به عنوان پیوند هیدروژنی ارتباط می‌یابد. تغییرات در این شاخص‌ها به نفوذ سریعتر آب به داخل بذر منجر شده، جوانه‌زنی سریعتر و مؤثر بذرها را باعث می‌شود (Galland and Pazur, 2005). از آثار مثبت تحریک مغناطیسی بر بذرهای سیاه‌دانه، افزایش طول کل دانه‌رست‌ها، به ویژه طول ریشه‌ها بود (جدول ۱). بنابراین، می‌توان گفت که تغییرات ایجاد شده در بذرها در اثر اعمال میدان مغناطیسی، علتی بر برخی تغییرات در پویایی توسعه و رشد گیاهان رشد یافته از آنهاست. به نظر می‌رسد که بهبود رشد طولی ریشه در اثر تأثیر میدان مغناطیسی بر شاخص میتوزی باشد. در همین راستا، Rajendra و همکاران (۲۰۰۵) افزایش معنی‌داری در شاخص میتوزی و همچنین الحاق H-تیمیدین به DNA در بذرهای *Vicia faba* که در معرض میدان مغناطیسی با شدت ۱۰۰ میلی‌تسلا قرار گرفته‌اند، گزارش کردند. نتایج آنها نشان داد که یون کلسیم آزاد در این مورد، به عنوان نشانه‌ای در سلول برای تسریع ورود به چرخه میتوتیک افزایش می‌یابد.

پروتئین‌ها در بذره‌های در حال جوانه‌زنی می‌شود که این کاهش با فعالیت آندوپروتئازها شروع شده، این آنزیم پروتئین‌های ذخیره‌ای نامحلول در آب را به پپتیدهای محلول تبدیل می‌کند. این پپتیدها می‌توانند توسط آگزوپپتیدازها به آمینواسیدها هیدرولیز شوند (Callis, 1995). نتایج حاصل با گزارشات مختلف در این زمینه همسویی نشان می‌دهد (Vashisth and Nagarajan, 2010; Gholami and Sharafi, 2010).

به عنوان نتایج میدان مغناطیسی بر بذر سیاه‌دانه، برخی افزایش‌ها در دوره نهایی توسعه گیاه مشاهده شد. دانه‌رست‌های جوان رشد یافته از بذره‌های تحت تیمار با میدان مغناطیسی هیپوکوتیل و ریشه‌های بلندتری را نسبت به شاهد توسعه داده بودند و همچنین، باعث افزایش شاخص بینه که به عنوان قدرت رشد گیاهان شناخته می‌شود و نهایتاً میزان محصول گیاه را معین می‌کند، شد. این یافته‌ها با کارهای تحقیقی دیگران که توسط Podlesny و همکاران (۲۰۰۵)، Vashisth و Nagarajan (۲۰۱۰) و Gholami و Sharafi (۲۰۱۰) بر بذره‌های نخودفرنگی، آفتابگردان و گندم انجام گرفته است، همسویی دارد. شتاب متابولیسم بذر و تغییر مراحل بیوشیمیایی و فیزیولوژیک در بذرها نتایجی از تیمار با میدان مغناطیسی است که باعث جوانه‌زنی سریعتر در بذره‌های سیاه‌دانه گردیده است. میزان تأثیر میدان مغناطیسی بستگی به شدت و مدت زمان اعمال آن دارد و بهترین اثر بر تحریک بذرها با عوامل فیزیکی زمانی که شدت بهینه به کار گرفته شود حاصل می‌شود. طبق نتایج حاصل در این تحقیق، به نظر می‌رسد که هر دو شدت میدان مغناطیسی مورد استفاده اثر مطلوب بر بذره‌های سیاه‌دانه داشتند، ولی بهترین اثر در شدت ۲۵ میلی‌تسلا به مدت ۶۰ دقیقه مشاهده شد.

از طرف دیگر، افزایش درصد جوانه‌زنی می‌تواند به علت افزایش فعالیت برخی آنزیم‌های دخیل در این امر باشد. برای همین منظور در این تحقیق فعالیت برخی آنزیم‌های دخیل در امر جوانه‌زنی سنجش شد که طبق نتایج حاصل، افزایش در فعالیت این آنزیم‌ها مشاهده شد (شکل ۱). در تغییر فعالیت مشاهده شده در آنزیم‌ها، آب به عنوان عامل اصلی می‌تواند باشد (Dorna et al., 2010). افزایش فعالیت آنزیم‌ها تحت تأثیر میدان مغناطیسی در مورد آنزیم کاتالاز (Piacentini et al., 2001)، پراکسیداز، استراز (Galland and Pazur, 2005)، آمیلاز، پروتئاز و لیپاز (Rajendra et al., 2005) مشاهده شده است. برخی از این آنزیم‌ها در امر جوانه‌زنی بذرها شرکت می‌کنند.

فعالیت آلفا آمیلاز در بذرهایی که در معرض میدان مغناطیسی بوده‌اند نسبت به شاهد بیشتر بود (شکل ۱ الف). افزایش در سرعت جوانه‌زنی در بذره‌های تیمار شده را می‌توان در نتیجه افزایش فعالیت این آنزیم توضیح داد که این نتیجه با نتایج Rajendra و همکاران (۲۰۰۵) روی بذر باقلای مازندرانی (*Board bean*) و Vashisth و Nagarajan (۲۰۱۰) روی بذر آفتابگردان که تحت تأثیر میدان مغناطیسی بوده‌اند همخوانی نشان می‌دهد.

فعالیت آنزیم دهیدروژناز (شکل ۱ ب) در بذره‌های تحت تیمار افزایش نشان داد که با نتایج کارهای انجام گرفته بر روی بذر هویج (Nagarajan et al., 2003)، گوجه‌فرنگی (Pandita et al., 2003) و آفتابگردان (Vashisth and Nagarajan, 2010) همسویی نشان می‌دهد.

فعالیت آنزیم پروتئاز در بذره‌های تحت تیمار نسبت به شاهد بیشتر بود (شکل ۱ ج). پروتئاز باعث کاهش

افزایش فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی و شاخص‌های جوانه‌زنی اعمال میدان مغناطیسی می‌تواند به عنوان محرکی برای جوانه‌زنی سریع و نیروی اولیه جوانه‌زنی و افزایش بنیه بذرها، به ویژه بذرهای گیاهان دارویی استفاده شود.

نتایج حاصل از این مطالعه نشانگر آن بود که اعمال میدان مغناطیسی باعث افزایش شاخص‌های رشد، به ویژه طول ریشه در دانه‌رست‌های سیاه‌دانه می‌شود که این عمل می‌تواند در کسب رطوبت و مواد غذایی از محیط نقش به‌سزایی داشته باشد، از طرف دیگر با

منابع

زرگری، ع. (۱۳۶۸) گیاهان دارویی. مؤسسه چاپ و انتشارات دانشگاه تهران، تهران.

- Abdul-Baki, A. A. and Anderson, J. D. (1973) Vigour determination in soyabean by multiple criteria. *Crop Science* 10: 31-34.
- Aladjadjiyan, A. (2002) Study of the influence of magnetic field on some biological characteristics of *Zea mays*. *Journal of Central European Agriculture* 3(2): 89-94.
- Aladjadjiyan, A. (2010) Influence of stationary magnetic field on lentil seeds. *Agrophysics* 24: 321-324.
- Arun, K. S. (2002) A handbook of organic farming. Agrobios Publication, Jodhpur.
- Bassim Atta, A. (2003) Some characteristics of nigella (*Nigella sativa* L.) seed cultivated in Egypt and its lipid profile. *Food Chemistry* 83:63-68.
- Callis, J. (1995) Regulation of protein degradation. *Plant Cell* 7: 845-857.
- Carbonell, M. V., Martinez, E., Florez, M., Maqueda, R., Lopez-Pintor, A. and Amaya, J. M. (2008) Magnetic field treatments improve germination and seedling growth in *Festuca arundinacea* Schreb and *Lolium perenne* L. *Seed Science and Technology* 36: 31-37.
- Carrubba, A., La Torre, R. and Matranga, A. (2002) Cultivation trials of some aromatic and medicinal plants in a semi-arid mediterranean environment. *Proceedings of an International Conference on MAP, Acta Horticulture (ISHS)* 576: 207-213.
- Dorna, H., Gorski, R., Szopinska, D., Tylkowska, K., Jurga, J., Wosinski, S. and Tomczak, M. (2010) Effect of a permanent magnetic field together with the shielding of an alternating electric field on carrot seed vigour and germination. *Ecological Chemistry and Engineering* 17: 53-61.
- Fischer, G., Tausz, M., Kock, M. and Grill, D. (2004) Effects of weak 16 Hz magnetic fields on growth parameters of young sunflower and wheat seedlings. *Bioelectromagnetics* 25: 638-641.
- Galland, P. and Pazur, A. (2005) Magnetoreception in plants. *Journal of Plant Research* 118: 371-389.
- Gholami, A. and Sharafi, S. (2010) Effect of magnetic field on seed germination of two wheat cultivars. *World Academy of Science Engineering and Technology* 62: 279-282.
- Griffe, P., Metha, S. and Shankar, D. (2003) Organic production of medicinal, aromatic and dye-yielding plants (MADPs). forward, preface and introduction. Food and Agricultural Organisation (FAO).
- Kittock, D. L. and Law, A. G. (1968) Relationship of seedling vigour to respiration and tetrazolium chloride reduction by germinating wheat seeds. *Agronomy* 60: 286-288.

- Kunitz, M. (1947) Crystalline soybean trypsin inhibitors II general properties. *General Physiology* 30: 291-310.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randal, R. J. (1951) Folin Cioalleu. *Biochemistry* 193: 265-267.
- Martinez, E., Carbonell, M. V. and Amaya, J. M. (2000) A static magnetic field of 125 mT stimulates the initial growth stages of barley (*Hordenum vulgare* L.). *Electro and Magnet* 19(3): 271-277.
- Nagarajan, S., Pandita, V. K. and Modi, B. S. (2003) Physiology and enzymatic activity of asiatic carrot seeds as affected by invigoration treatments. *Indian Plant Physiology* 3: 222-227.
- Pandita, V. K., Nagarajan, S., Sinha, J. S. and Modi, B. S. (2003) Physiological and biochemical changes induced by priming in tomato seeds and its relation to germination and field emergence characteristics. *Indian Plant Physiology* 8: 249-254.
- Pang, X. and Deng, B. (2008) Investigation of changes in properties of water under the action of a magnetic field. *Chinese Science Journal* 51(11): 1621-1632.
- Piacentini, M. P., Fraternali, D., Piatti, E., Ricci, D., Vetrano, F., Dacha, M. and Accorsi, A. (2001) Senescence delay and change of antioxidant enzyme levels in *Cucumis sativus* L. etiolated seedling by ELF magnetic fields. *Plant Science* 161: 45-53.
- Podesny, J., Misiak, L. E., Podesna, A. and Pietruzewski, S. (2005) Concentration of radicals in pea seeds after pre-sowing treatment with magnetic field. *Agrophysics* 19: 243-249.
- Rajendra, P., Nayak, H. S., Sashidhar, R. B., Subramanyam, C., Devendarnath, D. and Gunase-karan, B. (2005) Effects of power frequency electromagnetic fields on growth of germinating (*Vicia faba* L.), the broad bean. *Electromagnetic Biology and Medicine* 24: 39-54.
- Reina, F. G., Pascual, L. A. and Fundora I. A. (2001) Influence of a stationary magnetic field on water relations in lettuce seeds. Part II: experimental results. *Bioelectromagnetics* 22: 596-602.
- Roberts, J. and White house, D. G. (1976) *Practical plant physiology*. New York. *Sciences* 25: 402-407.
- Vashisth, A. and Nagarajan, S. (2008) Exposure of seeds to static magnetic field enhances germination and early growth characteristics in chickpea (*Cicer arietum* L.). *Bioelectromagnetics* 29: 571-578.
- Vashisth, A. and Nagarajan, S. (2010) Effect on germination and early growth characteristics in sunflower (*Helianthus annuus*) seeds exposed to static magnetic field. *Plant Physiology* 167: 149-156.
- Yano, A., Hidaka, E., Fujiwara, K. and Limoto, M. (2001) Induction of primary root curvature in radish seedlings in a static magnetic field. *Bioelectromagnetics* 22: 194-199.

Effect of magnetic fields on germination, early growth characteristics and activities of some enzymes in *Nigella sativa* L. seeds

Latifeh Pourakbar ^{1*}, Majid Asadi Samani ¹ and Roghayeh Ashrafi ²

¹ Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Urmia, Urmia, Iran

² Biotechnology Research Center, University of Urmia, Urmia, Iran

Abstract

The objective of the present study was to investigate the effect of static magnetic field (0, 25 and 50 mT) and the exposure time (0, 30, 60 and 120 minutes) in *Nigella sativa* L. seeds germination. The results showed that magnetic field application enhanced seed performance under laboratory germination tests. In these magnetic fields, treatment of *N. sativa* L. seeds increased significantly the germination, speed of germination, root length, seedling length, seedling fresh and dry weight and vigor index I and II compared to control. Among the various combinations of field strength and duration, 25 mT for 60 minute showed the best results. In germinating seeds, enzyme activities of α -amylase, dehydrogenase and protease were significantly higher in treated seeds to compared to the controls. The higher enzyme activity in magnetic-field-treated *N. sativa* seeds could trigger the fast germination and early vigor of seedlings.

Key words: *Nigella*, Seed germination, α -amylase, Dehydrogenase, Protease, Magnetic field

* Corresponding Author: l.pourakbar@urmia.ac.ir