

اثرات متقابل میدان مغناطیسی و نانوذرات نقره بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی گیاه همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.)

الهام جلیل زاده¹، رشید جامعی^{2*}، سیاوش حسینی سرقین³

1- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد زیست‌شناسی گیاهی، دانشگاه ارومیه، ارومیه

2- دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه

3- استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه

* ارومیه، صندوق پستی 165

*r.jamei@urmia.ac.ir

(دریافت مقاله: 94/11/1 پذیرش مقاله: 96/2/6)

چکیده- در سال‌های اخیر تحقیقات زیادی در زمینه حساسیت موجودات زنده نسبت به میدان‌های مغناطیسی و نانوذرات انجام شده است. به همین منظور، برای ارزیابی تأثیر میدان مغناطیسی و نانوذرات نقره روی رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید)، پرولین، گلايسین بتائین، قندها و پروتئین‌های محلول، محتوای نیترات و فعالیت نیترات ردوکتاز و در نهایت الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های اندام هوایی گیاه همیشه‌بهار آزمایش‌هایی در سال 1394 در گروه زیست‌شناسی دانشگاه ارومیه انجام شد. دانه‌رست‌ها به مدت 30 روز تحت تیمارهای میدان مغناطیسی (با شدت 3mT) و نانوذرات نقره (50ppm) قرار گرفتند. نتایج نشان داد در گیاهان تحت تیمار با میدان مغناطیسی، نانوذره نقره و میدان مغناطیسی + نانوذره نقره محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید، محتوای محلول‌های سلولی سازگار نظیر پروتئین و قند محلول، پرولین و گلايسین بتائین و همچنین محتوای نیترات و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری ($P < 0/05$) نشان داد. در الگوی الکتروفورزی پروتئین نیز بیشترین باندهای قابل مشاهده روی ژل الکتروفورز مربوط به گروه تحت تیمار با میدان مغناطیسی + نانوذره نقره بود.

کلیدواژگان: شاخص بیوشیمیایی، میدان مغناطیسی، نانوذرات نقره، همیشه بهار.

1- مقدمه

مغناطیسی موجودات زنده تمرکز کرده است و این تحقیق و تفحص روبه افزایش می‌باشد [32]. استفاده از میدان مغناطیسی مانند سایر تنش‌های محیطی نظیر شوری، خشکی، نور، اشعه‌ی UV و سرما یک شرایط تنش برای تحریک رشد گیاه ایجاد می‌کند. میدان مغناطیسی اعمال

میدان مغناطیسی زمین از روزهای نخستین این سیاره و مدت‌ها قبل از آغاز حیات روی کره زمین وجود داشته است [1]. در سال‌های اخیر تحقیقات زیادی در زمینه بیوالکترومغناطیس گزارش شده است که روی حساسیت

قوی و فعالیت‌های ضد میکروبی معروف است [8]. اولین بار استفاده دارویی ثبت شده از نقره در قرن هشتم گزارش شده است [13].

همیشه بهار با نام علمی *Calendula officinalis* L. متعلق به خانواده‌ی *Asteraceae* یا کاسنی می‌باشد. گیاهی یک-ساله و بومی هند و کشورهای مدیترانه است [14]. در آزمایشی، بذور همیشه بهار تحت تیمار با میدان مغناطیسی با شدت‌های پایین و زمان‌های متغیر قرار گرفت که بین سرعت رشد و جوانه‌زنی گیاه مذکور با شدت و زمان تیمار میدان مغناطیسی ارتباط مستقیم وجود داشت. [15]. همچنین در تحقیقی دیگر، افزایش سرعت رشد و جوانه‌زنی در گیاه همیشه بهار که در معرض میدان مغناطیسی با شدت 125mT قرار گرفته بود، مشاهده شد [2]. مطالعه‌ای روی تأثیر نانوذرات نقره و متیل جاسمونات بر متابولیت‌های ثانویه گیاه همیشه بهار صورت گرفت. به نظر می‌رسد تیمار گیاه فوق با نانوذرات نقره و متیل جاسمونات روشی ساده و مقرون به صرفه در بهبود خواص دارویی این گیاه باشد [16].

هدف از تحقیق حاضر، بررسی تأثیر میدان مغناطیسی و نانوذره نقره روی رنگیزه فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید)، ترکیبات سازگار سلولی نظیر پرولین، گلاسیسین بتائین، قند محلول، پروتئین محلول، محتوای نیترات و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و همچنین مطالعه-ی الگوی پروتئینی حاصل از SDS-PAGE بود.

2- مواد و روش‌ها

2-1- مواد گیاهی و اعمال تیمار

بذرهای سالم و هم‌اندازه‌ی گیاه همیشه بهار با قدرت جوانه‌زنی 85 تا 90 درصد که از شرکت پاکان بذر اصفهان در سال 1394 تهیه شده بود، انتخاب گردید. بذرهای در محلول هیپوکلریت سدیم 10 درصد ضد عفونی و سپس چند بار با آب مقطر شستشو شده و برای جوانه‌زنی

شده به دانه جو، باعث تحریک سرعت جوانه‌زنی و افزایش عملکرد دانه شده است [4]. این میدان‌ها سنتز DNA و RNA و همچنین تکثیر سلولی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. میدان‌های مغناطیسی در هر دو فرکانس بسیار کم و محدوده فرکانس رادیویی یک مکانیسم حفاظتی درون سلولی را فعال می‌کنند که باعث بیان ژن پاسخ به تنش می‌شود [5] و علاوه بر استفاده در کشت بافت، برای رشد اقتصادی نیز مهم می‌باشد که منجر به افزایش سرعت رشد گیاهان و تولید محصولات بیشتر نیز می‌گردد [6].

فناوری نانو یک زمینه‌ی پژوهشی مرتبط با فیزیک، شیمی، علوم مهندسی با بکارگیری تکنیک‌های جدید و تولید مواد در مقیاس نانو [7] و یک زمینه‌ی نوظهور در حوزه تحقیقات میان رشته‌ای بخصوص زیست فناوری می‌باشد. در سال‌های اخیر، تحقیقات اغلب روی خواص الکترونیکی، نوری، مکانیکی، مغناطیسی و شیمیایی نانوذرات فلزی متمرکز شده است که هر نانوذره ویژگی منحصر به فرد خود را دارا می‌باشد [8]. امروزه نانو زیست فناوری یکی از پرکاربردترین رشته‌های تحقیقاتی در علم مواد می‌باشد که نشان از ضرورت گیاهان و فراورده‌های مختلف گیاهی برای تولید و سنتز نانوذرات می‌باشد [9]. در میان نانوذرات فلزی و بسیاری از ترکیبات آنتی بیوتیکی طبیعی، نقره فلز منتخب می‌باشد که مدت طولانی است به دلیل فعالیت‌های ضد میکروبی قوی خود در برابر میکروب‌های بیماری‌زا مانند باکتری‌ها و در زمینه سیستم‌های بیولوژیکی، موجودات زنده و پزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد [10, 11]. نانوذرات فلزی به دلیل داشتن سطوح خیلی خاص می‌توانند به راحتی سنتز شده و خواص شیمیایی خود را تغییر دهند. محدوده‌ی اندازه نانوذرات نقره از 1-100nm بوده و شامل حدود 15000-20 اتم نقره می‌باشد. خواص دارویی نقره بیش از 2000 سال است که شناخته شده است [12] و به مهار

و تحت تیمار طبق روش بیتس و همکاران اندازه‌گیری شد [20]. برای این منظور 0/04 گرم از بافت خشک برگ نمونه‌ها به همراه 15 میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک 3 درصد در هاون ساییده شد و به مدت 72 ساعت در یخچال در دمای 4 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا اسید آمینه پرولین آزاد گردد. بعد از 72 ساعت نمونه‌ها به مدت 20 دقیقه با سرعت 3000 g سانتریفوژ شدند. سپس به 2 میلی‌لیتر از محلول رویی 2 میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال و 2 میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین (شامل 20 میلی‌لیتر اسید فسفریک 6 مولار، 30 میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال و 1/25 گرم نین‌هیدرین) اضافه شده و نمونه‌ها به مدت 1 ساعت در حمام آب گرم 100 درجه قرار گرفتند. بعد از خارج ساختن نمونه‌ها از حمام آب‌گرم، نمونه‌ها به وسیله یخ به سرعت سرد شدند و روی هر نمونه 4 میلی‌لیتر تولوئن اضافه و هم زده شد. بعد از تشکیل دو فاز جذب فاز رویی برای هر نمونه در طول موج 520 نانومتر توسط اسپکتروفتومتر خوانده شد. محتوای پرولین، با استفاده از منحنی استاندارد پرولین برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گیاه محاسبه گردید.

4-2- سنجش محتوای گلايسين بتائين

0/25 گرم از ماده‌ی خشک برگ توزین و در لوله‌های آزمایش ریخته شد. سپس 10 میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید و برای مدت 24 ساعت لوله‌ها در شیکر قرار داده شدند، سپس محلول را صاف کرده و از عصاره‌ی استخراج شده برای اندازه‌گیری میزان گلايسين بتائين استفاده شد [21]. به این صورت که به 0/25 میلی‌لیتر از عصاره‌ی نمونه‌های شاهد و تیمار 0/25 میلی‌لیتر اسید سولفوریک 2 نرمال اضافه گردید. لوله‌ها به مدت یک ساعت در آب یخ قرار داده شدند و پس از گذشت زمان تعیین شده مقدار 0/2 میلی‌لیتر از ترکیب KI-I₂ به آنها اضافه گردید و پس از هم زده شدن توسط دستگاه

به پتری‌دیش‌هایی با قطر 15 سانتی‌متر که حاوی دو لایه کاغذ صافی بودند، انتقال داده شدند. پتری‌دیش‌های حاوی بذور در محیط تاریک و در دمای اتاق به مدت 72 ساعت نگهداری شدند تا جوانه‌زنی انجام گیرد. بذره‌های جوانه‌زده‌ی هم‌اندازه به گلدان‌های پلاستیکی که حاوی ماسه و خاک به نسبت 2 به 1 بود، انتقال داده شدند. گلدان‌ها به 4 دسته حاوی 8 گلدان که در هر کدام 15 بذر گیاه همیشه بهار کاشته شده بودند، تقسیم شدند: گروه شاهد، گروه تحت تیمار با میدان مغناطیسی 3mT به مدت 30 روز و هر روز به مدت 60 دقیقه، گروه تحت تیمار با نانوذرات نقره با غلظت 50ppm و گروه تحت تیمار با میدان مغناطیسی 3mT + نانو ذرات نقره با غلظت 50ppm به مدت 30 روز [18,17].

2-2- اندازه‌گیری رنگیزه‌های کلروفیلی و کاروتنوئید

برای اندازه‌گیری رنگیزه‌های کلروفیل و کاروتنوئید از روش لیچتالر و ولبورن استفاده شد [19]. 0/1 گرم از وزن تر برگ به همراه 5 میلی‌لیتر استون 100 درصد در هاون چینی ساییده شد. عصاره‌ی حاصل به مدت 10 دقیقه در 3000g سانتریفوژ شد. سپس جذب فاز بالایی هر یک از نمونه‌های سانتریفوژ شده توسط اسپکتروفتومتر UV/Vis (WPA S2100, UK) در طول موج‌های 662، 645 و 470 نانومتر خوانده شد. برای محاسبه‌ی کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها از فرمول‌های (1) تا (3) استفاده شد (A میزان جذب خوانده شده در هر طول موج می‌باشد).

$$\text{Chl}_a = 11.75 A_{662} - 2.350 A_{645} \quad (1)$$

$$\text{Chl}_b = 18.61 A_{645} - 3.960 A_{662} \quad (2)$$

$$\text{CX} + \text{C} = 1000 A_{470} - 2.270 \text{Chl}_a - 81.4 \text{Chl}_b / 227 \quad (3)$$

3-2- سنجش میزان پرولین

میزان پرولین آزاد در قسمت‌های مختلف نمونه‌های شاهد

ماده خشک از ریشه و اندام هوایی نمونه‌های گیاهی توزین شد و بر روی آن‌ها 4 میلی‌لیتر بافر تریس - اسید کلریدریک با $\text{pH} = 8$ (50 میلی‌لیتر تریس 0/2 نرمال، 17/2 گرم ساکارز و 0/1 گرم اسید آسکوربیک) اضافه کرده و خوب بهم زده شد. نمونه‌ها به مدت 24 ساعت در یخچال گذاشته شدند. سپس به مدت 30 دقیقه در 5000g سانتریفیوژ گردید. به 1 میلی‌لیتر از فاز بالایی 4 میلی‌لیتر معرف سولفات مس قلیایی اضافه شد. بعد از 10 دقیقه 1/5 میلی‌لیتر از محلول رقیق شده فولین سیوکالتنو (9:1) به آن افزوده و 30 دقیقه در تاریکی قرار داده شد. در نهایت جذب کمپلکس آبی رنگ در طول موج 660 نانومتر به وسیله اسپکتروفتومتر خوانده شد. محتوای پروتئین‌های محلول با استفاده از منحنی استاندارد پروتئین، میزان پروتئین نمونه‌ها برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک محاسبه شد.

7-2- سنجش محتوای نیترات

برای سنجش محتوای نیترات از روش یونگ و همکاران استفاده گردید [24]. برای این منظور 2 گرم بافت خشک برگ و 1 گرم بافت خشک ریشه به طور جداگانه به قطعات ریز خرد شدند و در داخل لوله‌های آزمایش قرار داده شدند. سپس روی آنها 10 میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید. لوله‌های حاوی نمونه‌ها به مدت 30 دقیقه در حمام آبگرم جوشان گذاشته شدند. بعد از سرد شدن لوله‌ها، نمونه‌ها با پارچه تمیز صاف، و حجم عصاره‌ی صاف شده با آب مقطر به 25 میلی‌لیتر رسانده شد سپس 0/1 میلی‌لیتر از آن برداشته شد و به آن 0/4 میلی‌لیتر اسید سالیسیلیک 5 درصد در اسید سولفوریک 96 درصد (W/V) اضافه شد و بعد از سرد شدن آن 9/5 میلی‌لیتر سود 8 درصد اضافه گردید. در نهایت جذب محلول حاصل در 410 نانومتر توسط اسپکتروفتومتر خوانده شد، میزان نیترات پتاسیم، با استفاده از منحنی استاندارد نیترات

ورتکس در دمای 4 درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. بعد از گذشت 16 ساعت، نمونه‌ها به مدت 20 دقیقه در 4000g سانتریفیوژ شدند، سپس محلول رویی دور ریخته شد و 6 میلی‌لیتر دی‌کلرواتان بر روی رسوبات ته لوله ریخته شد و با ورتکس هم زده شد، لوله‌ها به مدت 2/5 ساعت در دمای آزمایشگاه قرار گرفتند و در این مدت نیز با فواصل 30 دقیقه توسط ورتکس هم زده شدند. پس از گذشت زمان ذکر شده، جذب نمونه‌ها در طول موج 520 نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید. محتوای گلايسين بتائين نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد گلايسين بتائين بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گیاه محاسبه شد.

2-5- سنجش میزان قند محلول

برای تعیین میزان قند محلول از روش بروگنولی و همکاران (1988) استفاده گردید [22]. بدین منظور 10 میلی‌لیتر از اتانول 70 درصد روی 0/5 گرم از بافت خشک نمونه‌ی گیاهی ریخته شد و توسط دستگاه ورتکس به مدت 10 دقیقه کاملاً هم زده شد، بعد از یک ساعت، نمونه‌ها در 8000 g سانتریفیوژ شدند، سپس 1 میلی‌لیتر از عصاره‌ی رویی برداشته شد و به ترتیب 1 میلی‌لیتر فنل 5% و 5 میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ به آن اضافه شد. بدین ترتیب محلول تیره رنگی به دست آمد که به مدت یک ساعت در دمای آزمایشگاه سرد شد. سپس شدت رنگ حاصل، با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج 485 نانومتر اندازه‌گیری گردید. میزان قندهای محلول با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گیاه تعیین شد.

2-6- سنجش محتوای پروتئین‌های محلول

برای تعیین پروتئین محلول از روش لوری و همکاران (1951) استفاده گردید [23]. برای این منظور 0/02 گرم

مولکولی هر باند بوسیله منحنی استاندارد حاصل از پروتئین‌های استاندارد مشخص گردید. برای رنگ آمیزی ژل از آبی کماسی استفاده شد.

پتاسیم بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک محاسبه گردید.

2-8-سنجش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز

سنجش فعالیت نیترات ردوکتاز با استفاده از روش سریواستوا انجام گرفت [25]. 0/5 گرم از بافت تر ریشه و برگ به همراه 10 میلی‌لیتر بافر فسفات 50 میلی‌مولار (pH= 7/5) محتوی KNO_3 10 میلی‌مولار و 0/5 درصد n- پروپانول (V/V) به مدت 30 دقیقه در دمای 30 درجه سانتی‌گراد، تاریکی و شرایط خلاء در دسیکاتور انکوبه شد. سپس نمونه‌ها به مدت 5 دقیقه در حمام آب‌گرم جوشانده شدند تا NO_2 تشکیل شده آزاد شود. پس از سرد شدن نمونه‌ها به 1 میلی‌لیتر از محلول رویی 1 میلی‌لیتر سولفونامید 1 درصد در اسید کلریدریک 1 نرمال (W/V) و 1 میلی‌لیتر N-نفتیل اتیلن آمین دی‌هیدروکلراید 0/02 درصد (W/V) اضافه و به مدت 15 دقیقه در 10000 سانتریفوژ شد. سپس جذب نمونه‌ها در طول موج 540 نانومتر توسط اسپکتروفتومتر خوانده شد. فعالیت نیترات ردوکتاز به صورت میکرومول نیتريت تشکیل شده در گرم بافت تر و با استفاده از فرمول‌های (4) تا (6) محاسبه شد:

$$\text{Units/ml} = \frac{\text{Average change in A540/min}}{(\text{ml of sample used in activity assay})/0.1 \text{ ml}} \quad (4)$$

$$(\text{Total units}) = \text{Total volume of the plant extract} \times \text{Units/ml} \quad (5)$$

$$NR(\mu\text{mol/hr/gFW}) = \frac{(\text{Total Units})(60\text{min})}{\text{grams plant material}} \quad (6)$$

2-9-استخراج و الکتروفورز پروتئین (SDS-PAGE)

الگوی الکتروفورزی باندهای پروتئینی با استفاده از الکتروفورز ژل پلی اکریل آمید- سدیم دودسیل سولفات (SDS-PAGE) تعیین شد [26]. ژل رویی با غلظت 15% استفاده گردید. بعد از شمارش تعداد باند های هر نمونه، حرکت نسبی هر باند تعیین شد. وزن

2-10-تجزیه‌های آماری

برای کاهش خطا، نمونه‌برداری و آزمایش‌ها به صورت 3 بار تکرار انجام شد. پس از اتمام آزمایش‌ها، آنالیز آماری داده‌ها و همچنین رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار SPSS سری 21، طی مسیر One way anova و آزمون توکی¹ و LSD در سطح احتمال آماری $P < 0/05$ انجام گرفت.

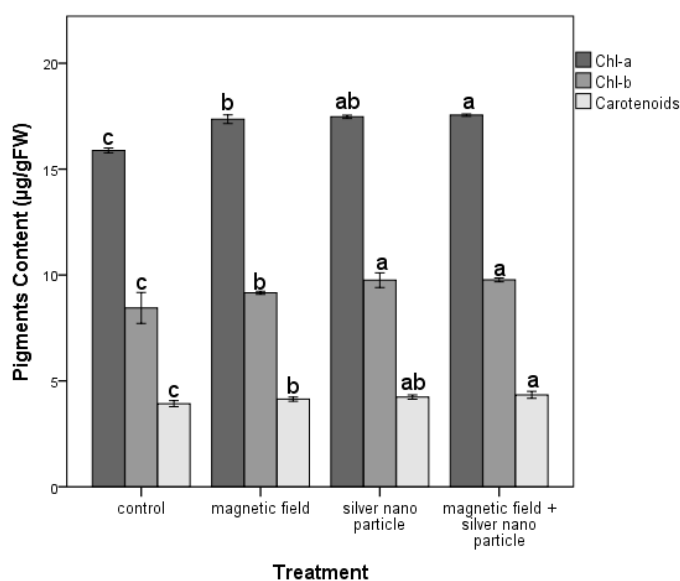
3- نتایج

3-1- اثر تیمار میدان مغناطیسی و نانوذره نقره بر میزان

کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها

آنالیز داده‌ها نشان داد که میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید در نمونه‌های تحت تیمار با میدان مغناطیسی، نانوذرات نقره و میدان مغناطیسی+ نانوذرات نقره به صورت توأم نسبت به نمونه‌های شاهد به صورت معنی- دار افزایش یافته است، و درصد افزایش در گروه تحت تیمار با میدان مغناطیسی نسبت به گروه شاهد برای کلروفیل a 4/47، برای کلروفیل b 7/86 و برای کاروتنوئید 5/08 درصد می‌باشد، درصد افزایش در گروه تحت تیمار با نانوذرات نقره نسبت به گروه شاهد برای کلروفیل a، 9/1، برای کلروفیل b، 11/8 و برای کاروتنوئید 7/32 درصد می‌باشد. میزان درصد افزایش فاکتورهای مذکور در گروه‌های تحت تیمار با میدان مغناطیسی+ نانوذره نقره در قیاس با نمونه‌های شاهد برای کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید به ترتیب 9/51، 13/61 و 9/67 درصد بود (شکل 1).

¹ Tukey



شکل 1 اثر تیمارهای مختلف میدان مغناطیسی و نانوذره نقره بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها در گیاه همیشه بهار. میانگین و انحراف معیار بر روی ستون نشان داده شده است (3 تکرار \pm SE, $P < 0/05$). حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی دار براساس آزمون توکی است.

درصد این افزایش برای نمونه‌های تیمار شده با میدان مغناطیسی 10/38 درصد، برای نمونه‌های تیمار شده با نانوذرات نقره 15/39 درصد و برای نمونه‌های تیمار شده با میدان مغناطیسی + نانوذرات نقره 26/17 درصد بود (شکل 2B).

3-4- اثر تیمار میدان مغناطیسی و نانوذره نقره بر محتوای قند محلول

آنالیز داده‌های حاصل از اندازه‌گیری قند محلول موجود در اندام هوایی گیاه همیشه بهار نشان داد که میزان فاکتور مذکور در نمونه‌های تحت تیمار با میدان مغناطیسی، نانوذرات نقره و میدان مغناطیسی + نانوذرات نقره نسبت به نمونه‌های شاهد افزایش معنی‌داری یافته است. میزان افزایش برای گروه‌های تحت تیمار با میدان مغناطیسی، نانوذرات نقره و میدان مغناطیسی + نانوذرات نقره به ترتیب 13/26، 24/95 و 31/15 درصد نسبت به گروه شاهد بود (شکل 3A).

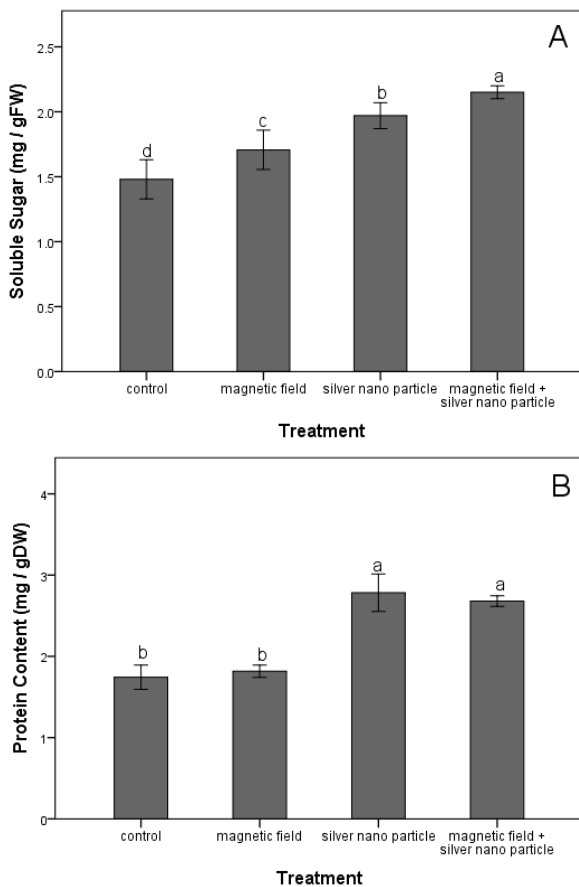
3-2- اثر تیمار میدان مغناطیسی و نانوذره نقره بر غلظت اسید آمینه پرولین

نتایج به دست آمده از سنجش پرولین در این تحقیق نشان داد که میزان پرولین در اندام هوایی گیاهان تحت تیمار با میدان مغناطیسی، نانوذره نقره و میدان مغناطیسی + نانوذره نقره به صورت توأم نسبت به نمونه‌های شاهد افزایش معنی‌داری داشته است. میزان این افزایش برای نمونه‌های تیمار شده با میدان مغناطیسی، نانوذره نقره و میدان مغناطیسی + نانوذره نقره به ترتیب 19/80، 25/60 و 33/03 درصد بود (شکل 2A).

3-3- اثر تیمار میدان مغناطیسی و نانوذره نقره بر غلظت گلايسين بتائين

بررسی نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان گلايسين بتائين نشان داد که میزان شاخص مذکور در اندام هوایی گروه‌های تیمار شده با میدان مغناطیسی، نانوذرات نقره و میدان مغناطیسی + نانوذرات نقره به صورت توأم نسبت به گروه‌های شاهد به شکل معنی‌دار افزایش یافته است.

نمونه‌های شاهد قرار دارد و این افزایش به صورت معنی-دار بود و درصد این افزایش 22/33 درصد می‌باشد. اما علی‌رغم افزایش میزان پروتئین محلول در نمونه‌های تیمار شده با میدان مغناطیسی در قیاس با گروه‌های شاهد، آنالیز داده‌ها تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه‌های تحت تیمار با میدان مغناطیسی و گروه شاهد نشان نداد (شکل 3B).



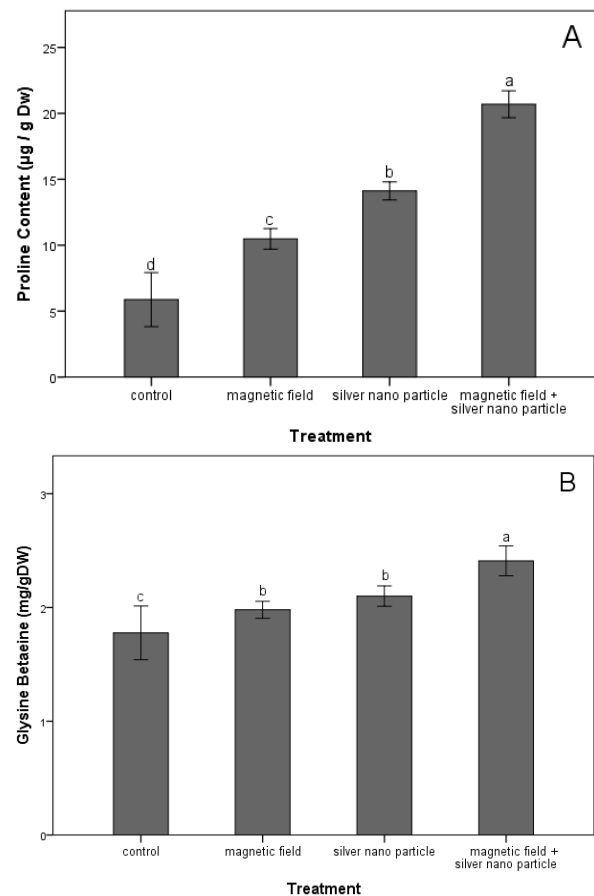
شکل 3 اثر تیمارهای مختلف میدان مغناطیسی و نانوذره نقره بر میزان قند محلول (A) و محتوای پروتئین محلول (B) در گیاه همیشه بهار. میانگین و انحراف معیار بر روی ستون نشان داده شده است (3 تکرار \pm SE, $P < 0/05$). حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار براساس آزمون توکی است.

3-6- اثر تیمار میدان مغناطیسی و نانوذره نقره بر محتوای نیترات

بررسی نتایج به دست آمده از سنجش میزان نیترات ریشه

3-5- اثر تیمار میدان مغناطیسی و نانوذره نقره بر محتوای پروتئین محلول

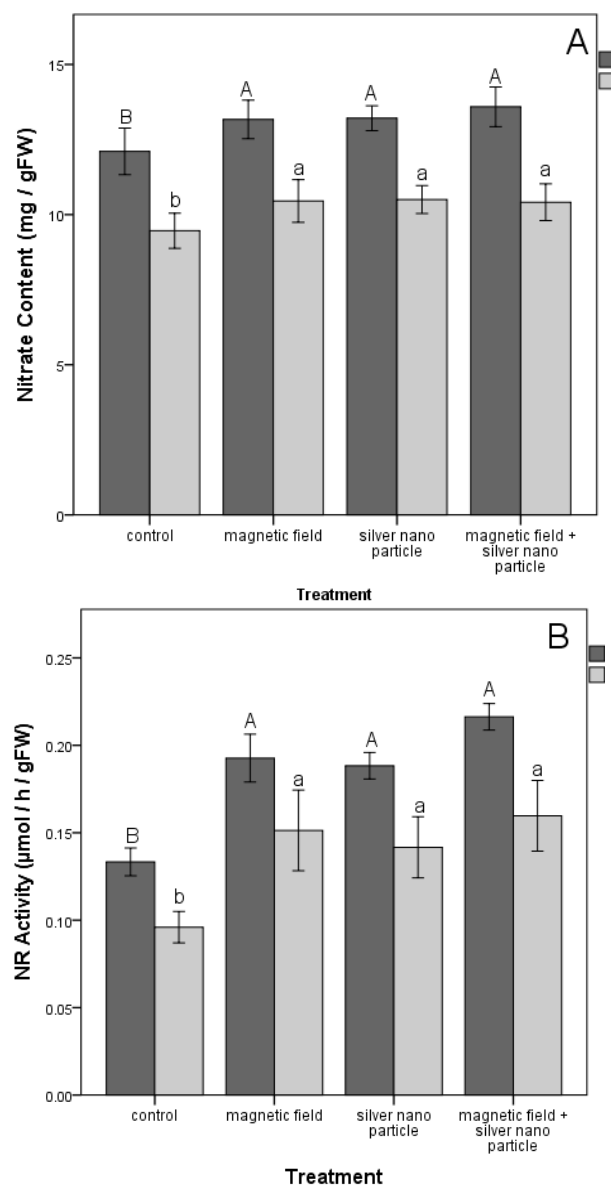
بررسی نتایج حاصل از اندازه‌گیری پروتئین محلول در اندام هوایی گیاه همیشه بهار نشان داد نمونه‌های تحت تیمار با نانوذره نقره از لحاظ محتوای پروتئین محلول از بیشترین میزان برخوردار بودند. درصد این افزایش نسبت به گروه شاهد 37/27 درصد به صورت معنی‌دار بود.



شکل 2 اثر تیمارهای مختلف میدان مغناطیسی و نانوذره نقره بر میزان پرولین (A)، گلیسین بتاین (B) در گیاه همیشه بهار. میانگین و انحراف معیار بر روی ستون نشان داده شده است (3 تکرار \pm SE, $P < 0/05$). حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار براساس آزمون توکی است.

نمونه‌های تیمار شده با میدان مغناطیسی + نانوذره نقره از نظر میزان پروتئین محلول در سطح دوم افزایش نسبت به

مغناطیسی و نانوذره نقره در شکل 5 و جدول 1 نشان داده شده است.



شکل 4 اثر تیمارهای مختلف میدان مغناطیسی و نانوذره نقره بر میزان نیترات (A) و آنزیم نیترات ردوکتاز (B) در گیاه همیشه بهار. میانگین و انحراف معیار بر روی ستون نشان داده شده است (3 تکرار \pm SE, $P < 0/05$). حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی دار براساس آزمون توکی است.

پروتئین 116 کیلودالتونی در نمونه‌های شاهد و تیمارهای مختلف میدان مغناطیسی و نانوذره نقره مشاهده شد.

و اندام هوایی گیاه همیشه بهار نشان داد نمونه‌های تحت تیمار با میدان مغناطیسی، نانوذره نقره و میدان مغناطیسی + نانوذره نقره از نظر محتوای نیترات در مقایسه با نمونه‌های شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد. درصد این افزایش برای ریشه و اندام هوایی گروه‌های تیمار شده با میدان مغناطیسی به ترتیب 58/36 و 34/55 درصد بود. درصد افزایش نیترات در ریشه و اندام هوایی نمونه‌های تیمار شده با نانوذره نقره نسبت به نمونه‌های شاهد به ترتیب 61/84 و 44/97 درصد بود. همچنین درصد افزایش فاکتور مذکور در ریشه و اندام هوایی گیاهان تیمار شده با میدان مغناطیسی + نانوذره نقره در مقایسه با گروه شاهد به ترتیب 62/91 و 44/24 درصد بود (شکل 4A).

7-3- اثر تیمار میدان مغناطیسی و نانوذره نقره بر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز (NR)

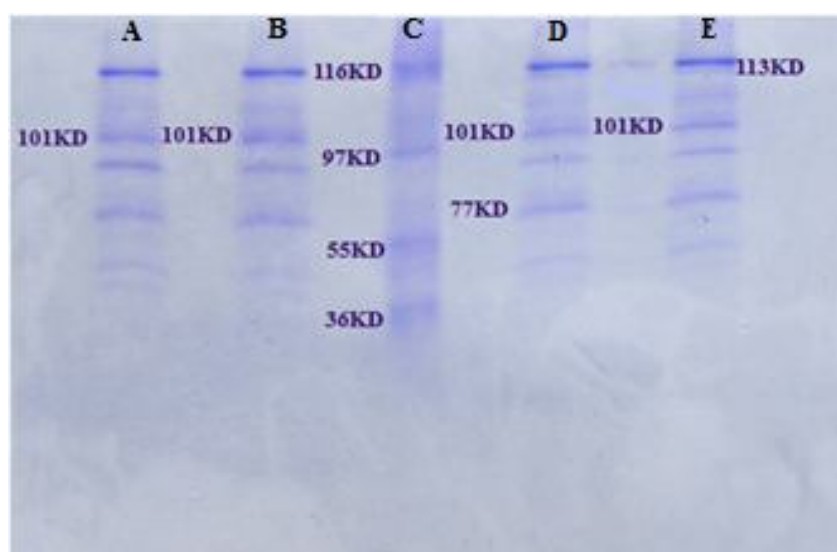
در این آزمایش، مشاهده شد که میزان فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در ریشه و اندام هوایی گروه‌های تحت تیمار با میدان مغناطیسی، نانوذره نقره و میدان مغناطیسی + نانوذره نقره نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌دار نشان داد. درصد افزایش NR در ریشه و اندام هوایی نمونه‌های تحت تیمار با میدان مغناطیسی در مقایسه با نمونه‌های شاهد به ترتیب 44/13 و 32/01 درصد بود، درصد افزایش NR در نمونه‌های تیمار شده با نانوذره نقره به ترتیب 53/17 و 41/36 درصد بود. همچنین درصد افزایش NR در ریشه و اندام هوایی نمونه‌های تحت تیمار با میدان مغناطیسی + نانوذره نقره نسبت به گروه شاهد به ترتیب 68/58 و 55/15 درصد بود (شکل 4B).

8-3- اثر میدان مغناطیسی و نانوذره نقره بر الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های اندام هوایی

الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های اندام هوایی گیاه همیشه بهار در نمونه‌های شاهد و تیمارهای مختلف میدان

نمونه‌های تحت تیمار با نانوذره‌ی نقره و نمونه‌های تیمار شده با میدان مغناطیسی + نانوذره‌ی نقره قابل رؤیت بود. پروتئین 55 کیلودالتونی با شدت بیان بسیار پایین فقط در نمونه‌های تیمار شده با میدان مغناطیسی + نانوذره-ی نقره دیده شد. پروتئین 45 کیلودالتونی در همه گروه‌ها مشاهده گردید ولی شدت بیان این پروتئین در نمونه‌های تحت تیمار با نانوذره‌ی نقره و نمونه‌های تحت تیمار با میدان مغناطیسی + نانوذره‌ی نقره بیشتر بود.

پروتئین 113 کیلودالتونی در نمونه‌های تحت تیمار با میدان مغناطیسی، نانوذره‌ی نقره و میدان مغناطیسی + نانوذره‌ی نقره دیده شد که شدت بیان پروتئین مذکور در گروه‌های تیمار شده با میدان مغناطیسی + نانوذره‌ی نقره بیشتر بود. پروتئین 101 کیلودالتونی در همه نمونه‌های موجود قابل مشاهده بود. پروتئین 97 کیلودالتونی در نمونه‌های تیمار شده با نانوذره‌ی نقره و میدان مغناطیسی + نانوذره‌ی نقره مشاهده شد. پروتئین 77 کیلودالتونی در



شکل 5 الگوی الکتروفورزی پروتئینی حاصل از SDS-PAGE: پروتئین نمونه‌های شاهد (A)، پروتئین نمونه‌های تحت تیمار با میدان مغناطیسی (B)، پروتئین استاندارد (C)، پروتئین نمونه‌های تحت تیمار با نانوذره نقره (D)، پروتئین نمونه‌های تحت تیمار با میدان مغناطیسی + نانوذره نقره (E).

پروتئین استاندارد شامل پروتئین‌های زیر است:

116KD= β -Galactosidase from *E. coli*, 97KD= Phosphorylase b from rabbit muscle, 55KD= Glutamic Dehydrogenase from bovine liver, 36KD= Glyceraldehyd-3-phosphate Dehydrogenase from rabbit muscle.

جدول 1 وزن مولکولی باندهای بدست آمده در نمونه‌های شاهد و تیمار (علامت (* نشان دهنده حضور پروتئین و (-) نشان دهنده عدم حضور پروتئین در نمونه‌ها می‌باشد).

شماره باند	وزن ملکولی	شاهد	میدان مغناطیسی	نانوذره نقره	میدان مغناطیسی + نانوذره نقره
1	116	*	*	*	*
2	113	-	*	*	*
3	101	*	*	*	*
4	97	-	-	*	*
5	77	-	-	*	*
6	55	-	-	-	*
7	45	*	*	*	*

4- بحث

جذب و سپس تغییر شکل میدان مغناطیسی به دیگر انواع انرژی بالا می‌برد و باعث انتقال این انرژی به ساختارهای دیگر در سلول‌های گیاهی و در نتیجه فعال شدن آنها می‌شود. میدان مغناطیسی توانایی تغییر خواص آب را دارد و این آب مغناطیسی شده می‌تواند باعث افزایش محتوای کلروفیلی شود [34]. Racuciu و همکاران در سال 2008 افزایش 4/2 درصدی در میزان کلروفیل a را در تیمار 50mT در ذرت نسبت به شاهد گزارش نموده‌اند [32]. افزایش محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها تحت تأثیر میدان مغناطیسی در گیاه سیب‌زمینی مشاهده شده است [35]. Novitsky و همکاران در سال 2001، گزارش کرده‌اند که اثر میدان مغناطیسی بر گیاه پیاز باعث افزایش میزان کلروفیل می‌شود [36].

بررسی نتایج این تحقیق نشان داد که میدان مغناطیسی محتوای پرولین و گلیسین بتائین را در گیاه همیشه بهار نسبت به گروه شاهد افزایش می‌دهد. میدان مغناطیسی باعث رهاسازی رایکال‌های آزاد می‌شود، که این رادیکال‌ها موجب آسیب ماکرومولکول‌های سلولی و در نتیجه اختلال در فعالیت آن‌ها می‌گردد [37]. گیاهان برای سازگاری با انواع مختلف تنش‌های محیطی، محلول‌های سلولی را درون خود انباشته می‌کنند. این املاح سلولی مشتقات آمینو اسیدی چهارگانه از قبیل پرولین، گلیسین بتائین، آلانین بتائین و پرولین بتائین می‌باشند. در این بین، پرولین اغلب به عنوان یک شاخص بیوشیمیایی در شرایط تنش مورد مطالعه قرار می‌گیرد، و از طریق جاروب-کنندگی رادیکال‌ها و برقراری ثبات در ماکرومولکول‌ها، از گیاه در برابر صدمات ناشی از رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن محافظت می‌کند [38]. در راستای مطالعه‌ی حاضر، تحقیقات مشابهی انجام شده است. طی تحقیقی با تأثیر میدان‌های مغناطیسی 10، 50 و 100mT روی خرما (*Phoenix dactylifera*) میزان تجمع پرولین

مشتقات کلروفیلی گیاهان در مجموعه‌ی زیادی از فعالیت‌های بیولوژیکی دخیل هستند و به دلیل داشتن خواص و عملکرد پاداکسایشی¹ و ضد میکروبی شناخته شده می‌باشند [16]. نتایج به دست آمده از سنجش رنگیزه‌های فتوستزی در تحقیق حاضر، نشان می‌دهد که میزان این رنگیزه‌ها در اثر تیمار با نانوذره نقره افزایش یافته است. افزایش محتوای کلروفیل در اثر تیمار با نانوذره‌ی نقره می‌تواند به دلیل اثر بازدارندگی آن بر روی اتیلن باشد [27]. اتیلن موجب انتقال اکسین و کاهش میزان کلروفیل می‌شود [28]. همچنین نقره از طریق اتصال به رسپتورهای اتیلن و در نتیجه کاهش تولید اتیلن با تحریک بیوسنتز پلی آمین‌ها باعث مداخله در عملکرد اتیلن می‌گردد [29]. Abou-Zeid و همکاران در سال 2014 بیان کرده‌اند که نانوذره‌ی نقره باعث افزایش محتوای رنگیزه‌های فتوستزی در گندم² و جو³ شده است [30]. در تحقیقی که تیمار نانو نقره روی ماش و سورگوم اعمال شده بود افزایش میزان کلروفیل a گزارش شده است [31]. در تیمارهای 60ppm و 40 نانوذره‌ی نقره روی ذرت و لوبیا افزایش کلروفیل a و کلروفیل b و کاروتنوئید توسط Salama در سال 2012 گزارش شده است. نتایج حاصل از این تحقیقات در موافقت با نتایج به دست آمده از این پژوهش می‌باشد. میدان مغناطیسی ضعیف، مقادیر کلروفیلی [32] و فعالیت‌های فتوستزی گیاه [33] را بهبود می‌بخشد. بررسی نتایج حاصل از آزمایش‌ها نشان داد که تیمار میدان مغناطیسی محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها را افزایش می‌دهد. بعضی از اتم‌های سلول‌های گیاهی و رنگدانه‌های کلروپلاستی خواص پارامغناطیسی دارند. خواص مغناطیسی مولکول‌ها توانایی آن‌ها را در

¹ Antioxidant² Wheat³ Barley

نانوذرات نقره باعث القای سنتز قندهای محلول در گیاه همیشه بهار می‌شوند. افزایش قند محلول تحت تیمار نانوذره نقره ممکن است به دلیل برهمکنش نقره با یکی از پروتئین‌های مرتبط با فتوسنتز باشد که باعث سنتز نشاسته و در نهایت انتقال و تجمع قندهای محلول شود [41]. نانوذرات نقره در شکل و سایز مختلف (دکاهدرال¹ و کروی) سبب افزایش پروتئین‌های محلول می‌گردد [45]. زمانی که گیاه در معرض فلزات سنگین قرار می‌گیرد، پاسخ‌های بسیاری در سطح سلولی و ملکولی در گیاه به وجود می‌آید. بسیاری از مطالعات نشان داده است که فلزات سنگین مانند سرب، نیکل و یا نقره باعث تغییر محتوای پروتئینی گیاه می‌شود [46]. همچنین نانوذرات نقره با تأثیر روی عملکرد اتیلن، تغییراتی در میزان پروتئین محلول گیاه ایجاد می‌کنند، به این ترتیب که نانوذرات نقره پس وارد شدن به سلول، جایگزین یون Cu^{+} در جایگاه اتصال پروتئین گیرنده اتیلن شده، و احتمالاً باعث تغییر در میزان پروتئین ریشه و اندام‌هوایی گیاه می‌شود [46، 47]. این نتایج با یافته‌های سالاما درباره تأثیر نانوذره نقره با غلظت 50ppm روی گیاهان *Phaseolus vulgaris* و *Zea mays* همسویی نشان می‌دهد [48].

نیترژن یک جز مهم در گیاهان عالی می‌باشد و به عنوان جزئی از ملکول‌های معین عمل پیام‌رسانی را در مکانیسم‌های دفاعی گیاه در بسیاری از تنش‌ها ایفا می‌کند. این ماده معدنی برای رشد ریشه، شاخ و برگ و زمان گلدهی گیاه اهمیت زیادی دارد. محدوده‌ی غلظت نیترژن در محلول خاک می‌تواند بسیار متفاوت باشد. در بسیاری از اکوسیستم‌های طبیعی و کشاورزی، NH_4^{+} منبع غالب نیترژن می‌باشد و معمولاً تا حدی در اکثر اکوسیستم‌ها موجود است. نیترات منبع اصلی نیترژن غیرآلی در بسیاری از گیاهان است و از طریق چرخه‌ی

در پاسخ به میدان‌های مذکور اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که میزان پرولین در نمونه‌های تحت تیمار با میدان مغناطیسی با شدت 10mT افزایش، ولی در نمونه‌های تیمار شده با میدان‌های 100mT و 50 کاهش یافته است [38].

همچنین، در شرایط اعمال نانوذرات فلزات سنگین، ژن‌های بیوسنتز کننده پرولین فعال شده و در نهایت باعث انباشته شدن و افزایش محتوای پرولین در گیاه می‌شود [39]. در تحقیق حاضر نیز گیاهان تحت تیمار با نانوذرات نقره در مقایسه با نمونه‌های شاهد افزایش معنی‌دار در میزان پرولین نشان داده‌اند.

میدان مغناطیسی باعث القای سنتز پروتئین و قند محلول در گیاهان می‌شود [40، 41]. مطالعات زیادی در زمینه تأثیر میدان مغناطیسی با شدت‌های متفاوت روی انباشت پروتئین‌های محلول در گیاهان مختلف صورت گرفته است. در آزمایشی، با اثر میدان مغناطیسی متناوب با شدت 1500nT با فرکانس 10Hz روی سویا (*Glycine max*)، محتوای قند و پروتئین اندازه‌گیری شد نتایج به دست آمده نشان داد که میزان قند و پروتئین محلول افزایش یافته است [41]. افزایش قند محلول در گیاه *Triticum aestivum* که تحت تیمار با میدان مغناطیسی 180mT قرار گرفته بود، مشاهده شد [42]. این نتایج با یافته‌های تحقیق حاضر مطابقت داشت. اصلی‌ترین دلیل افزایش تجمع پروتئین، افزایش سنتز آن تحت تأثیر میدان مغناطیسی می‌باشد که متعاقباً افزایش محتوای پروتئین محلول گیاه را به همراه دارد [30، 41]. افزایش محتوای قندهای محلول تحت تأثیر میدان مغناطیسی می‌تواند به دلیل افزایش تجزیه نشاسته و یا افزایش فتوسنتز باشد [43] همچنین، تیمار میدان مغناطیسی با افزایش فعالیت آنزیم α -amylase [40، 44، 41] باعث تجزیه‌ی پلی‌ساکاریدها به قندهای ساده‌تر شده و در نتیجه موجب تجمع قندهای محلول در گیاه می‌گردد.

¹ Decahedral

بهار تحت تیمارهای مختلف میدان مغناطیسی و نانوذره نقره به روش SDS-PAGE در شکل 5 نشان داده شده است. باندهای مشاهده شده در گروه تحت تیمار با میدان مغناطیسی + نانوذره نقره با شدت بیشتری نسبت به سایر گروه‌ها بیان شده است. پروتئین‌ها محصولات نهایی مسیرهای اطلاعاتی سلول هستند که در پاسخ به نیازهای سلول در شرایط مختلف ساخته شده و به موقعیت‌های سلولی مناسب منتقل و در صورت نیاز تخریب می‌گردد و یا میزان بیان آنها تغییر می‌یابد. بنابراین نقره به صورت نانونقره می‌تواند نقش یک فلز سنگین را ایفا نماید. در برخی گزارشات علمی مشخص شده که حضور فلزات سنگین منجر به القا تغییراتی در پروتئین‌ها در گیاه می‌گردد [47]. پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها در مقابل فلزات سنگین از خود دفاع می‌کنند. هردوی این ارگانیسم‌ها راه‌های متعددی برای سمیت‌زدایی در مقابل فلزات سنگین به کار می‌برند. یکی از عمومی‌ترین این راه‌ها، سنتز پپتیدها و پروتئین‌های غنی از سیستئین می‌باشد که این پپتیدهای سنتزی گیاهی فیتوکلاتین نام دارند [59]. بنابراین ممکن است بخشی از پروتئین‌های سنتز شده در اثر تیمارهای مختلف میدان مغناطیسی و نانوذره نقره به واسطه سنتز فیتوکلاتین‌ها باشد. نظیر چنین تغییراتی در الگوی پروتئین‌ها بعد از تیمار نقره در آفتابگردان گزارش شده است [60].

به طور کلی در پژوهش حاضر، رنگیزه‌های فوتوسنتزی در نمونه‌های تیمار شده با میدان مغناطیسی و نانوذره نقره افزایش معنی‌داری نسبت به نمونه‌های گروه شاهد نشان داد. بیشترین غلظت محلول‌های سازگار نظیر پرولین، گلیاسین بتائین، قند و پروتئین محلول در نمونه‌های تحت تیمار با میدان مغناطیسی + نانوذره نقره مشاهده شد. میزان نیترات و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در تیمارهای مختلف میدان مغناطیسی و نانوذره نقره نسبت به گروه شاهد افزایش نشان داد. علاوه بر این الگوی پروتئینی گیاه

سنتز گلوتامات در دو مرحله‌ی پی‌درپی توسط نیترات ردوکتاز و نیتريت ردوکتاز در سیتوزول و کلروپلاست برگ‌ها به آمونیوم تبدیل می‌شود. آمونیاک به‌دست آمده می‌تواند به آمینو اسیدها، پروتئین‌ها، متابولیت‌های ثانویه و سایر ترکیبات نیتروژن‌دار مهم تبدیل شود [50,49]. نیترات ردوکتاز بیشتر همراه با نیترات و به شکل القایی در سلول ساخته می‌شود و عوامل زیادی از جمله هورمون‌ها و فاکتورهای مختلف محیطی بر بیان ژن‌های مربوط به بیوسنتز آن اثر می‌گذارند [51]. ذرات مواد معدنی و آلی در بیشتر بخش‌ها قطبی می‌باشد و یک میدان مغناطیسی بیرونی می‌تواند سرعت و جهت‌گیری ذرات قطبی را تغییر دهد و در نتیجه، امکان دارد تأثیر زیادی در سرعت و جهت‌گیری برخی فرایندهای زنده در گیاه داشته باشد [52]. گزارش شده است فعالیت بعضی آنزیم‌ها تحت تأثیر میدان مغناطیسی افزایش می‌یابد. تغییر در فعالیت نیترات ردوکتاز در گیاهان تحت تیمار با میدان مغناطیسی با شدت‌های مختلف مشاهده شده است [53]. تغییرات در فعالیت آنزیم‌های آمیلاز و نیترات ردوکتاز در بذور در حال جوانه زنی در مجاورت تیمار الکترومغناطیس گزارش شده است [54]. اثرات مثبت میدان مغناطیسی در بیوسنتز پروتئین‌ها، فعالیت‌های بیوشیمیایی و فعالیت آنزیم‌ها نشان داده شده است [55]. اثرات مثبت تیمار میدان مغناطیسی ممکن است به خواص پارامغناطیسی اتم‌ها در سلول‌های گیاهی و رنگدانه‌هایی نظیر کلروپلاست‌ها در ارتباط باشد [56]. افزایش جذب عناصر غذایی در گوجه‌فرنگی در اثر تیمار مغناطیس گزارش شده است [57]. Lu و همکاران در سال 2002، در تحقیقی تأثیر مثبت استفاده از نانوذرات TiO_2 را در افزایش فعالیت نیترات ردوکتاز گزارش شده است [58]. یافته‌های مذکور با نتایج به‌دست‌آمده در پژوهش حاضر همخوانی دارد.

الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های اندام هوایی گیاه همیشه

- esfahani, J., Besharatnejad, M.H., Emami, M.S., and Larki, B. (2013) The effect of silver nanoparticles on *Tetranychus urticae*. *Int J Agric Crop Sci*. 5(8): 820-827.
- [11] Nazeema, T.H. and Sugannya, P.K. (2014) Synthesis and characterization of silver nanoparticle from two medicinal plants and its anticancer property. *Int Res Eng & Technol*. 2(1): 49-56.
- [12] Prabhu, S., and Poulouse, E.K. (2012) Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *Int Nano Lett Springer Open J*. 2(32): 1-10.
- [13] Mohasseli, T., Pourseyedi, S.h., and Zolala, J. (2013) Antibacterial activity of silver nanoparticles produced in the plant *Sesamum indicum* seed extract by the green method against bacteria *Staphylococcus epidermidis* and *Salmonella typhi*. *Int Res J Appl Basic Sci*. 6(5): 587-591.
- [14] Rigane, G., Younes, B., Ghazghazi, H., and Ben Salem, R. (2013) Investigation into the biological activities and chemical composition of *Calendula officinalis* L. growing in Tunisia. *Int Food Res J*. 20(6): 3001-3007.
- [15] Criveanu, H.R., and Taralunga, G. (2007) Influence of magnetic fields of variable intensity on behaviour of some medicinal plants. *J Cent Eur Agric*. 2(4): 643-648.
- [16] Ghanati, F., and Bakhtiarian, S. (2014) Effect of methyl jasmonate and silver nanoparticles on production of secondary metabolites by *Calendula officinalis* L. (Asteraceae). *Trop J Pharm Res*. 13(11): 1783-1789.
- [17] Majd, A., Bahar, M., and Abdi, S. (2010) Effect of AC and DC magnetic field on seeds germination And early growth of *Brassica napus* L. seedlings. *J Appl Biol*. 1(1): 1-7. (in Persian)
- [18] Najafi, S., and Jamei, R. (2014) Effect of silver nanoparticles and $Pb(NO_3)_2$ on the yield and chemical composition of mung bean (*Vigna radiata*). *J Stress Physiol & Biochem*. 10(1): 316-325.
- [19] Lichtenthaler, H.K., and Wellburn, A.R. (1985) Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf in different solvents. *Bioch Soc Trans*. 11: 591-592.
- [20] Bates, L.S., Walderon, R.P., and Teare, I.D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*. 39: 205-208.
- [21] Grattan, C.R. and Grieve, C.M. (1999) Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops. *Sci Hortic*. 78: 127-157.
- [22] Brugnoli, E., Hubick, K.T., Von Caemmerer, S., Wong, S.C. and Farquhar, G.D. (1988) همیشه بهار نیز در گروه‌های تیمار شده تغییراتی نشان داد و منجر به ظهور بعضی باندها در این نمونه‌ها شد. این نتایج نشان داد که کاربرد نانوقره در همیشه‌بهار بیان بعضی از پروتئین‌های اختصاصی را تنظیم می‌کند.

5- منابع

- [1] Gunnarsdottir, E.L. (2012) The earth's magnetic field. physicsdepartment, School of Engineering and Natural Science, University of Iceland. pp: 1-44.
- [2] Florez, M., Martinez, E. and Carbonella, MV. (2011) Effect of magnetic field treatment on germination of medicinal plants *Salvia officinalis* L. and *Calendula officinalis* L. *Pol J. Environ*. 21(1): 57-63.
- [3] Pittman, U.J. (1963) Magnetism and plant growth I. Effect on germination and early growth of cereal seeds. *Can J Plant Sci*. 43(4): 513-518.
- [4] Najafi, S., Heidari, R., and Jamei R. (2013) Influence of the magnetic field stimulation on some biological characteristics of *Phaseolus vulgaris* in two different times. *Glob J Sci, Eng Technol*. 11: 51-58.
- [5] 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. *Afr J Biotechnol*. 10(46): 9362-9369.
- [6] Jabail, W.A., Abul Halil, C.h.R., and Hussein, H.F. (2013) Effect of magnetic field on seed germination of *Triticum aestivum*. *World Sci Res J*. 1(5): 1-5.
- [7] Vanaja, M., Gnanadhas, G., Paulkumar, K., Rajeshkumar, S.h., Malarkodi, C.h., and Annadurai, G. (2013) Phytosynthesis of silver nanoparticles by *Cissus quadrangularis*: influence of physicochemical factors. *J Nanostruct Chem*. 3(7): 1-8.
- [8] Sharma, K., Sharma, R., Shit, S., and Gupata, S.h. (2012) Nanotechnological application on diagnosis of a plant disease. *Int Conf Adv Biol Med Sci*, pp: 1-2.
- [9] Banerjee, P., Satapathy, M., Mukhopahayay, A., and Das, P. (2014) Leaf extract mediated green synthesis of silver nanoparticles from widely available Indian plants: synthesis, characterization, antimicrobial property and toxicity analysis. *Bioresour Bioprocess Springer Open J*. 1(3): 1-10.
- [10] Jalalizand, A., Gavanji, S.h., karimzadeh

- [35] Rakosy-Tican, L., Aurori, C.M., and Morariu, V.V. (2005) Influence of near null magnetic field on in vitro growth of potato and wild Solanum species. *Bioelectromagnetics*. 7: 548-57.
- [36] Novitsky, Y.I., Novitskaya, G.V., Kocheshkova, T.K., Nechiporenko, G.A., and Dobrovol'skii, M.V. (2001) Growth of green onions in a weak permanent magnetic field. *Russ J Plant Physiol*. 48(6): 709-716.
- [37] Hozayn, M., El-Bassiouny, H.M.S., Abd El-Monem A.A., and Abdallah, M.M. (2015) Applications of magnetic technology in agriculture, a novel tool for improving water use efficiency and crop productivity: 2. Wheat. *Int J ChemTech Res*. 8(12): 755-771.
- [38] Dhawi, F., and Al-Khayri, J.M. (2008) Proline accumulation in response to magnetic fields in date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *The Open Agric J*. 2: 80-83.
- [39] Roychoudhury, A., Banerjee, A., and Lahiri, V. (2015) Metabolic and molecular-genetic regulation of proline signaling and its cross-talk with major effectors mediates abiotic stress tolerance in plants. *Turk J Bot*. 39: 887-910.
- [40] Afzal, I., Mukhtar, K., Qasim, M., Basra, S.M.A., Shahid, M., and Haq, Z. (2011) Magnetic stimulation of marigold seed. *Int Agrophys*. 26: 335-339.
- [41] Radhakrishnan, R., and Ranjitha Kumari, B.D. (2013) Influence of pulsed magnetic field on soybean (*Glycine max* L.) seed germination, seedling growth and soil microbial population. *Indian J Biochem & Biophys*. 50: 312-317.
- [42] Pittman, U.J. (1977) Effects of magnetic seed treatment on yields of barley, wheat, and oats in southern Alberta. *Can J Plant Sci*. 57: 37-45.
- [43] Pourakbar, L., and Abedzadeh, M. (2015) Investigating the effects of magnetic field and salicylic acid on *Melissa officinalis* (Lamiaceae) under UV-B stress. *Nova Biol Repert*. 1 (2): 40-56.
- [44] Chen, Y.P., He, J.M., and Li, R. (2012) Effects of magnetic fields pretreatment of mung bean seeds on sprout yield and quality. *Afr J Biotechnol*. 11(36): 8932-8937.
- [45] Siddiqui, M.H., Al-Whaibi, M.H., Firoz, M., and Al-Khaishany, M.Y. (2015) Role of nanoparticles in plants. *Springer Int Publishing Switz*. pp: 19-35.
- [46] Tabatabaee Pozveh, Z., Razavizadeh, R., and Rostami, F. (2014) Changes occurring in canola (*Brassica napus* L.) in response silver nanoparticles treatment under in vitro conditions. *Indian J Fundamental Appl Life Sci*. 4: 797-807.
- Carbon-isotope composition of biochemical fractions and the regulation of carbon balance in leaves of the c_3 -crassulacean acid metabolism intermediate *Clusia minor* L. *Plant Physiol*. 106(2): 493-501.
- [23] Lowry, O.J., Rosebrough, A.L. and Randall, R.J. (1951) Protein measurement with the phenol reagent. *J Bio Chem*. 193: 265-275.
- [24] Xiong, Z.T., Chao, L., and Bing, G. (2006) Phytotoxic effects of copper on nitrogen metabolism and plant growth in *Brassica pekinensis*. *Ecotoxicol Environ Saf*. 64: 273-280.
- [25] Srivastava, H.S. (1974) *In vivo* nitrate reductase in maize seedlings. *J India Biochem Biophys*. 230-232.
- [26] Wendel, J.F., and Weeden, N.F. (1989) Visualization and interpretation of plant isozymes. In: Soltis, D.E., Soltis, P.S. (eds.) *Isozymes in plant biology*. Dioscorides Press, Portland, Oreg. pp: 5-45.
- [27] Reid, M.S., Evanse, R.Y., and Dodge, L.L. (1989) Ethylene and silver thiosulphate influence opening of cut rose flowers. *Hort Sci*. 114(3): 436-44.
- [28] Lentini, Z., Mussell, H., Mutschler, M.A., and Earle, E.D. (1988) Ethylene generation and reversal of ethylene effects during development in vitro rapid-cycling *Brassica campertis* L. *Plant Sci*. 54: 75-81.
- [29] Roustan, J.P., Latche, A., and Fallot, J. (1990) Inhibition of ethylene production and simulation of carrot somatic embryogenesis by salicylic acid. *Biologia Plantaru*. 32: 273-27.
- [30] Abou-Zeid, H.M., and Moustafa, Y. (2014) Physiological and cytogenetic responses of wheat and barley to silver nanopriming treatment. *Int J Appl Biol Pharm Technol*. 5(3): 265-278.
- [31] Karthick, S., and Chitrakala, K. (2011) Ecotoxicological effect of Lecani cilium Lecanii (Ascomycota: Hypocereales) based silver nanoparticles on growth parameters of economically important plants. *J Biopestic*. 4 (1): 97-101.
- [32] Racuciu, M., Creanga, D., and Horga, I. (2008) Plant growth under static magnetic field influence. *Rom J Phys*. 53: 353-359.
- [33] Kavi, P.S. (1977) The effect of magnetic treatment of soybean seed on its moisture absorbing capacity. *Sci Cult*. 43: 405-406.
- [34] 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 vigor and germination. *Ecol Chem Eng*. 17: 53-61.

- pretreatment by magnetic field on the sensitivity of cucumber (*Cucumis sativus*) seedlings to ultraviolet-B radiation. *Environ. Exp Bot.* 54: 286–294.
- [55] Cakmak, T., Dumlupinar, R., and Erdal, S. (2009) Acceleration of germination and early growth of wheat and bean seedlings grown under various magnetic field and osmotic conditions. *Bioelectromagnetics.* 30:1-10.
- [56] Aladjadjiyan, A. (2010) Influence of stationary magnetic field on lentil seeds. *Int Agrophys.* 24: 321-324.
- [57] Duarte Diaz, C.E., Riquenes, J.A., Sotolongo, B., Portuondo, M.A., Quintana, E.O., and Perez, R. (1997) Effects of magnetic treatment of irrigation water on the tomato crop. *Hortic Abstr.* 69: 494.
- [58] Lu, C.M., Zhang, C.Y., Wu, J.Q., and Tao, M.X. (2002) Research of the effect of nanometer on germination and growth enhancement of *Glycine max* and its mechanism. *Soybean Sci.* 21:168-172.
- [59] Clemens, S. (2006) Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plant. *Biochem.* 88: 1707-1719.
- [60] Krizkova, S., Ryant, P., Krystofova, O., Adem, V., Galiova, M., Beklova, M., Banula, P., Kaiser, J., Novotny, K., Novotny, J., Liska, M., Malina, R., Zehnalek, J., Hubalek, J., Havel, L. and Kizek, R. (2008) Multi- instrumental analysis of tissues of sunflower plants treated with silver (I) ions – plants as bioindicators of environmental pollution. *Sens.* 8: 445-463.
- [47] Ehsanipour, A.A., and Nejati, Z. (2014) The effects of silver nano particle on chlorophyll, gibberellic acid and protein electrophoresis pattern of *Solanum tubersum* L. variety White Desiree *in vitro* culture. *J Appl Biol.* 1(1391): 13-26. (in Persian)
- [48] Salama, M.H. (2012) Effects of silver nanoparticles in some crop plants, common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and corn (*Zea mays* L.). *Int Res J Biotechnol.* 3(10): 190-197.
- [49] Durner, J., and Klessig, D.F. (1999) Nitric oxide as a signal in plants. *Curr Opin Plant Biol.* 2: 369-374.
- [50] Sharifi Rad, J., Sharifi Rad, M., and Miri, A. (2013) Regulation of the expression of nitrate reductase genes in leaves of medical plant, *Foeniculum vulgare* by different nitrate sources. *Int J Agric Crop Sci.* 5(24): 2911-2916.
- [51] Katalin, N.R., Omarov, T., Evdei, L., and Herman lips, S. (2000) Distribution of the Mo – enzymes. Aldehyde oxidase, xanthine dehydrogenase and nitrate reductase in maize (*Zea mays* L.) nodol roots as affected by nitrogen and Salinity. *Plant Sci.* 155: 45-58.
- [52] Kordas, L. (2002) The effect of magnetic field on growth, development and the yield of spring wheat. *Pol J Environ Stud.* 11: 527-530.
- [53] Gholami, A., Sharifi, S. and Abbasdokht H. (2010) Effect of magnetic field on seed germination of two wheat cultivars. *World Acad Sci Eng Technol.* 4: 1366-1368.
- [54] Yinan, Y., Yuan, L., Yongqing, Y., and Chunyang, L. (2005) Effect of seed