# تأثیر فرکانس‌های مختلف ارتعاشات سینوسی بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی، فعالیت آنتی اکسیدانی و محتوای فنلی گیاه بابونه گیلانی (*Anthemis gilanica* Bornm and Gauba)

**حلیمه حسن پور[1*] و وحید نیکنام**

[1] پژوهشگاه هوا فضا، وزارت علوم، تحقیقات و فناوری، تهران صندوق پستی ۸۳۴-۱٤٦٦٥، ایران

[2] دانشکده زیست شناسی، و قطب تبارزائی موجودات زنده ایران، پردیس علوم، دانشگاه تهران، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹٦/۰٤/۲۰، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹٦/۱۰/۲۷)

**چکیده**

**ارتعاشات مکانیکی یکی از تنش‌های غیر زیستی است که می‌تواند روی رشد و نمو سلول‌های گیاهی تأثیر داشته باشد. در این پژوهش اثر ارتعاشات سینوسی بر شاخص‌های فیزیولوژیکی، محتوای پروتئین، محتوای فنلی و مهار رادیکال‌های آزاد با روش ۲و ۲-دی فنیل-۱-پیکرازیل (DPPH) در گیاه بابونه مورد بررسی قرار گرفت. ارتعاشات سینوسی در فرکانس‌های مختلف (صفر، ۵، ۱۰، ۱۵، ۵۰ و ۱۰۰ هرتز) روی دانه رست‌های ۱۰ روزه اعمال شد. گیاهچه‌ها پس از ۳۰ روز برداشت شده و مورد آنالیزهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که پاسخ گیاهچه‌ها در فرکانس‌های مختلف ارتعاش سینوسی از نظر وزن تر و خشک، محتوای رنگیزه و پروتئین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنلی متفاوت بود. ارتعاشات سینوسی در فرکانس‌های ۱۵ و ۵۰ هرتز منجر به افزایش معنی‌دار وزن تر و خشک، محتوای نسبی آب، کلروفیل *a* و کلروفیل *b* و محتوای پروتئین شد. محتوای مالون دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن در فرکانس‌های بالاتر از ۱۰ هرتز کاهش معنی داری یافت و تیمار ۱۵ هرتز منجر به کاهش ٥٤/٠٥ و ٢٤/٥٪ محتوای پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدهید نسبت به تیمار شاهد شد. همچنین ارتعاشات سینوسی با کاهش مقدار $IC_{50}$ منجر به افزایش فعالیت جاروب کنندگی رادیکال‌های آزاد شد و بیشترین کاهش نیز در فرکانس ۵۰ هرتز مشاهده شد. بنظر می‌رسد ارتعاشات سینوسی در فرکانس مناسب می‌توانند با افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی، رشد گیاهچه‌های بابونه را تحریک نمایند.**

**واژه های کلیدی: بابونه گیلانی، ارتعاشات سینوسی، مالون دی‌آلدهید، ترکیبات فنلی**

**مقدمه**

ارتعاشات مکانیکی جزو تنش‌های غیرزیستی بوده و می‌توانند اثرات قابل توجهی بر رشد گیاهان داشته باشند (Bochu *et al.*, 2012). تنش‌های غیرزیستی در گیاهان می‌توانند باعث افزایش تجمع رادیکال‌های آزاد و در پی آن آسیب‌های بافتی شوند. پراکسیداسیون لیپیدهای غشا که به وسیله رادیکال‌های آزاد ایجاد می‌شود، می‌تواند منجر به از بین رفتن یکپارچگی غشا و عملکرد سلول شود (Alhdad *et al.*, 2013). تاکنون مطالعات کمی در ارتباط با تأثیر ارتعاشات روی سلول‌های گیاهی گزارش شده است. Bochu و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که ارتعاشات مکانیکی در ۳ هرتز سبب افزایش رشد بافت کالوس و تجمع فیبر در دیواره سلولی بافت کالوس گیاه ژربرا

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: hassanpour@ari.ac.ir

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.3.7 ]

(*Gerbera jamesonii*) شد و ارتعاش بالاتر از ۳ هرتز رشد را کاهش داد. Chen و همکاران (2013) نشان دادند که ارتعاشات اولتراسونیک با افزایش پایداری غشا و ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاهچه‌های گندم منجر به افزایش مقاومت گیاه به تنش فلزات سنگین سرب و روی شد. Kang و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که ارتعاشات در ۲ هرتز منجر به افزایش رشد، محتوای پروتئین‌های محلول و متابولیت‌های ثانویه در سلول‌های گیاه *Camptotheca acuminate* شد. Hassanpour و همکاران (2016) نشان دادند که فرکانس‌های ۵۰ و ۱۰۰ هرتز منجر به افزایش رشد، محتوای نسبی آب و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در بافت کالوس گیاه بذرالبنج کردی (*Hyoscyamus kurdicus*) شد.

بابونه گیلانی با نام علمی *Anthemis gilanica* Born and Gauba از خانواده کاسنی(Asteracea)، یکی از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی شناخته شده است که در صنایع داروسازی، غذایی، عطرسازی و غیره استفاده می‌شود (Petronilho *et al.*, 2012). آنالیز فیتوشیمیایی گونه *Anthemis* نشان داده است که حاوی لاکتون‌های سزکوئی‌ترپن، فلاونوئید و روغن‌های فرار است. در ارتباط با فعالیت داروئی گونه‌های مختلف *Anthemis* چندین مطالعه صورت گرفته است. در *A. nobilis* مشخص شد که عصاره گیاه دارای خواص ضد التهابی، آرام بخش و فعالیت ضد میکروبی است (Rossi *et al.*, 1988). سزکوئی‌ترپن لاکتون جدا شده از *A. auriculata*, *A. altissima* and *A. melanolepis* نشان داد که دارای خواص ضد میکروبی و فعالیت سمیت سلولی است (Karioti *et al.*, 2007; Konstantinopoulou *et al.*, 2003; Saroglou *et al.*, 2010). تأثیر تنش ارتعاشات بر گیاهان دارویی کمتر مطالعه شده است، بنابراین هدف از پژوهش حاضر بررسی برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی، فعالیت آنتی اکسیدانی، آسیب غشایی و محتوای فنل کل گیاه بابونه گیلانی تحت ارتعاشات سینوسی می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

**کشت گیاهچه و اعمال ارتعاش سینوسی:** بذرهای بابونه گیلانی از ارتفاعات رحیم آباد رودسر سال ۱۳۹۵جمع آوری شدند. بذرها پس از شناسایی ضدعفونی و جهت جوانه زنی در محیط کشت MS ½ قرار گرفتند. برای از بین بردن خواب بذر، پتری دیش‌ها برای ٤٨ ساعت در یخچال قرار گرفته و سپس به اتاق کشت منتقل گردیدند. پس از جوانه زنی و رشد، گیاهچه‌های ۱۰ روزه تحت تیمارهای مختلف ارتعاش سینوسی در فرکانس‌های صفر، ۵ ، ۱۰، ۱۵، ۵۰ و ۱۰۰ هرتز قرار گرفتند. ارتعاشات سینوسی با دستگاه شیکر الکترومکانیکی با مولد ارتعاش مدل DC-3200 ایجاد گردید. ارتعاشات در راستای محور Y برای زمان ۳۰ دقیقه اعمال شد. بعد از گذشت ۳۰ روز از اعمال ارتعاش، برگ‌ها جهت انجام سنجش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی جمع آوری شدند.

**محتوای نسبی آب:** قطعات برگی پس از توزین وزن‌تر (FW)، به مدت ٢٤ ساعت در دمای ٤ $^{o}$C و در تاریکی در آب مقطر غوطه ور شدند. پس از طی این مدت دیسک‌های برگی توسط کاغذ خشک کن، خشک شده و با ترازو وزن اشباع (TW) آنها اندازه گیری شد. سپس نمونه‌های برگی به مدت ۷۲ ساعت در آون ٦٠$^{o}$C تا حصول اطمینان وزن خشک (DW) قرار گرفتند و محتوای نسبی آب برگ از رابطه زیر محاسبه شد (Lutts *et al.*, 1996):

$$RWC(\%) [=(FW-DW) / (TW-DW) \times 100]$$

**سنجش رنگیزه‌ها:** برای سنجش میزان کلروفیل‌ها از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) استفاده شد. ۰/۲ گرم بافت تر برگ گیاهچه‌های کشت بافت با ۵ mL استن ۸۰٪ در هاون چینی سائیده شد، سپس به مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۱۲۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. محلول حاصل از سانتریفیوژ با استن ۸۰٪ به حجم نهایی ۱۵ میلی‌لیتر رسانیده شد. جذب محلول درطول موج‌های ٦٦٣/٢، ٦٤٦/٨ و ٤٧٠ نانومتر اندازه‌گیری شد. از استن ۸۰٪ نیز به عنوان شاهد استفاده گردید. میزان کلروفیل *a* و *b* از طریق رابطه‌های زیر محاسبه گردید:

$$Chl_a(\mu g/ml) = ۱۲/۲۵A_{٦٦٣/٢} - ۲/۷۹A_{٦٤٦/٨}$$

$$Chl_b(\mu g/ml) = ۲۱/۵۰A_{٦٤٦/٨} - ۵/۱۰A_{٦٦٣/٢}$$

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.3.7 ]

**پروتئین:** بررسی کمی پروتئین‌ها با استفاده از روش برادفورد انجام گرفت. ۱ گرم ماده تر گیاهی با ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج Tris-HCl در یک‌هاون چینی (که به منظور حفظ فعالیت آنزیم‌ها در حمام یخ قرار داشت) تا یکنواخت شدن کامل ساییده شد، سپس عصاره به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ rpm در دمای ٤ درجه سانتی گراد در سانتریفیوژ Heraeus مدل labofuge 400R قرار گرفت. روشناور حاصل جدا شد حجم آن اندازه گیری شد و در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد و از آن برای بررسی کمی پروتئین استفاده شد. به منظور سنجش پروتئین بر اساس روش ذکر شده ۲/۵ میلی‌لیتر معرف برادفورد را با ۲۰ میکرو لیتر عصاره به همراه ۳۰ میکرولیتر Tris-HCl مخلوط و جذب آن اندازه گیری شد. با کمک منحنی استاندارد غلظت پروتئین موجود در هر نمونه بر حسب ($mg\ g^{-1}\ FW$) محاسبه گردید. مراحل فوق با سه تکرار انجام گرفت (Bradford, 1976).

**پراکسید هیدروژن ($H_2O_2$):** ۱ گرم بافت تر برگ در حمام یخ با ۵ میلی‌لیتر Trichloroacetic acid (TCA) ۰/۱٪ (W/V) هموژنیزه شده، سپس با سرعت ۱۲۰۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول روشناور به ۰/۵ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات (۱۰ میلی مولار با pH=7) و ۱ میلی‌لیتر پتاسیم یدید ۱ مولار اضافه و بعد جذب آن در ۳۹۰ نانومتر با استفاده از منحنی استانداردی که با استفاده از پراکسید هیدروژن رسم شده بود، خوانده شد (Loreto and Velikova, 2001).

**پراکسیداسیون لیپیدها:** سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدها بر اساس روش Heath و Packer (۱۹٦۸) و بررسی محتوای مالون دی‌آلدهید (MDA) انجام شد. به ۱ میلی‌لیتر از محلول رو شناور حاصل از سانتریفوژ ۲ میلی‌لیتر محلول تری کلرو استیک اسید۲۰ ٪ حاوی ۰/۵٪ تیوباربیوتیک اسید Thiobarbituric acid (TBA) است اضافه شده است. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم (دمای ۹۵ درجه سانتی گراد) قرار داده شد، بعد از این مدت لوله‌های آزمایش به سرعت سرد شده و بعد از این مراحل ۱/۵ میلی‌لیتر از مخلوط حاصل برای بار دیگر و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط و با سرعت ۱۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ گردید. جذب محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ توسط دستگاه اسپکتروفتومتر Shimadzu مدل UV-160 و مد Photometric و طول موج‌های ۵۳۲ و ٦۰۰ نانومتر قرائت شد.

**مهار رادیکال‌های آزاد با DPPH:** ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد با ۲، ۲- دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) صورت گرفت. برای این منظور، محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف (۵۰، ۷۵، ۱۰۰؛ ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم در میلی لیتر) از عصاره و نیز آنتی‌اکسیدان سنتزی Butylated hydroxytoluene (BHT) در حلال متانول آماده شدند. یک میلی لیتر از محلول متانولی DPPH با غلظت یک میلی مولار معادل با 0/394 میلی گرم) به ۳ میلی لیتر از عصاره افزوده و مخلوط حاصله به شدت همزده شد. لوله‌های آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند. سپس جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. در نهایت درصد مهارراديکال‌های DPPH توسط عصاره با فرمول زیر محاسبه گردید.

درصد مهار رادیکال آزاد = (Ac-As)/Ac × 100

در این رابطه Ac و As به ترتیب جذب کنترل و جذب نمونه می باشند (Shimada *et al.*, 1992).میزان $IC_{50}$ به عنوان ۵۰٪ بازدارندگی محلول DPPH با استفاده از روش Von Sontag و همکاران (۱۹۸۰) تعیین شد (Von Sontag *et al.*, 1980).

**فنل کل:** برای اندازه‌گیری محتوای فنل کل به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاه، ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم (۲٪)، ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین‌سیوکالچو (۵۰٪) اضافه شد. بعد از گذشت نیم ساعت جذب آنها در طول موج ۷۲۰ نانومتر نسبت به شاهد ثبت گردید. اسید گالیک به عنوان استاندارد برای رسم منحنی استاندارد بکار رفت. محتوای فنل کل عصاره‌ها بر اساس میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد (Meda *et al.*, 2005).

**آنالیز آماری:** این پژوهش بر اساس طرح‌های کاملاً تصادفی با ٤ تکرار انجام گرفت. پردازش اطلاعات به وسیله

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.3.7 ]

نرم افزار آماری SPSS 18.0 و آنالیز واریانس یکطرفه در سطح معنی داری P ≤ ۰/۰۵ صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آنالیز LSD انجام شد.

## نتایج

ارتعاشات سینوسی در ۵ هرتز منجر به کاهش معنی دار پارامترهای رشد و از ۱۰ تا ۱۰۰ هرتز منجر به افزایش رشد گیاهچه‌های بابونه گیلانی نسبت به شاهد شد (P ≤ ۰/۰۵). تیمارهای ۱۵ و ۵۰ هرتز، فرکانس‌های ارتعاشی مناسبی برای افزایش رشد گیاهچه‌ها بودند. تیمار ۱۵ هرتز در بین فرکانس‌های مختلف، بیشترین مقدار رشد را نشان داد و یک افزایش معنی دار ۴۱/۲۱ و ۳۷/۵٪ رشد را به ترتیب برای وزن تر و خشک در مقایسه با شاهد نشان داد (جدول ۱).

محتوای نسبی آب برگ در فرکانس‌های مختلف پاسخ متفاوتی را نشان دادند. ارتعاشات در ۵ و ۱۰ هرتز منجر به کاهش محتوای نسبی آب در مقایسه با شاهد شد، اما در ۱۵ و ۵۰ هرتز محتوای نسبی آب افزایش معنی‌داری یافت و یک افزایش ۱۵/۸۸ و ۱۰/۹۳٪ محتوای نسبی آب به ترتیب در تیمارهای ۱۵ و ۵۰ هرتز نسبت به شاهد مشاهده شد.

محتوای کلروفیل *a* و *b* تغییرات معنی داری را در فرکانس‌های مختلف نسبت به شاهد نشان دادند (P ≤ ۰/۰۵). ارتعاشات در فرکانس‌های ۵ و ۱۰ نانومتر منجر به کاهش معنی دار محتوای رنگیزه‌ها نسبت به شاهد شد (P ≤ ۰/۰۵). در فرکانس‌های ۱۵ و ۵۰ هرتز محتوای رنگیزه به طور معنی داری افزایش یافت و بالاترین محتوای رنگیزه در تیمار ۵۰ هرتز برای کلروفیل *a* و ۱۵ هرتز برای کلروفیل *b* مشاهده شد.

ارتعاشات سینوسی در فرکانس‌های ۵ و ۱۰ هرتز منجر به کاهش محتوای پروتئین شد. با افزایش سطح فرکانس تا ۱۰۰ هرتز محتوای پروتئین نسبت به شاهد افزایش معنی دار یافت (شکل ۱). فرکانس ۱۵ هرتز بالاترین محتوای پروتئین را نشان داد و یک افزایش ۳۶/۳۰٪ محتوای پروتئین را در مقایسه با شاهد نشان داد (P ≤ ۰/۰۵).

سطح $H_2O_2$ و مالون دی‌آلدهید با افزایش فرکانس تا ۱۰ هرتز افزایش معنی‌دار یافت و تیمار ۱۰ هرتز بالاترین سطح این دو شاخص را نسبت به شاهد نشان داد. با افزایش سطح فرکانس از ۱۵ تا ۱۰۰ هرتز سطح $H_2O_2$ و مالون دی‌آلدهید کاهش معنی دار یافت (P ≤ ۰/۰۵) (شکل A۲ و B). کمترین سطح $H_2O_2$ و مالون دی‌آلدهید در تیمار ۱۵ هرتز مشاهده شد که به ترتیب منجر به کاهش ۵۴/۰۵ و ۲۴/۵۹٪ مقدار $H_2O_2$ و مالون دی‌آلدهید نسبت به شاهد شد.

ارتعاشات سینوسی در فرکانس‌های مختلف منجر به کاهش معنی‌دار مقدار $IC_{50}$ نسبت به نمونه شاهد شد (P ≤۰/۰۵). کمترین محتوای $IC_{50}$ در فرکانس ۵۰ هرتز (۵۰۳/۷ میکروگرم بر میلی لیتر) مشاهده شد و با افزایش سطح فرکانس ارتعاش تا ۱۰۰ هرتز محتوای $IC_{50}$ نیز کاهش را نسبت به شاهد نشان داد (شکل A۳). فرکانس ۵۰ هرتز منجر به کاهش ۴۵/۸۰٪ محتوای $IC_{50}$ نسبت به نمونه شاهد شد. محتوای $IC_{50}$ برای BHT به مقدار ۲۳۲/۹ میکروگرم بر میلی لیتر تعیین شد که تیمار ۵۰ هرتز افزایش ۲/۱۶ برابری را نسبت به BHT نشان داد.

محتوای فنل کل تحت ارتعاش سینوسی افزایش معنی داری یافت (P ≤۰/۰۵). فرکانس‌های ۱۵، ۵۰ و ۱۰۰ هرتز منجر به افزایش معنی‌دار محتوای فنل در مقایسه با نمونه شاهد شدند (شکل B۳). بیشترین محتوای فنل برخلاف نتایج $IC_{50}$ در فرکانس ۵۰ هرتز مشاهده شد و یک افزایش ۶۴/۵۱٪ محتوای فنل را نسبت به نمونه شاهد نشان داد.

## بحث

گیاهان تحت شرایط طبیعی در معرض انواعی از تنش‌های مکانیکی از جمله صدا، امواج، ارتعاشات، میدان‌های الکترومغناطیس و غیره قرار دارند. تغییر رشد می‌تواند به عنوان اولین پاسخ آشکار گیاه به تنش‌های محیطی باشد. هنگامیکه گیاهان تحت تنش‌های مکانیکی قرار گیرند، سیگنال به سلول منتقل شده و می‌تواند سبب بروز پاسخ دوگانه رشد (افزایش و کاهش) در سلول‌های گیاهی شود. در این پژوهش ارتعاشات ۱۵ و ۵۰ هرتز منجر به افزایش معنی دار وزن تر و خشک، محتوای نسبی آب و پروتئین نسبت به شاهد شد (جدول ۱).

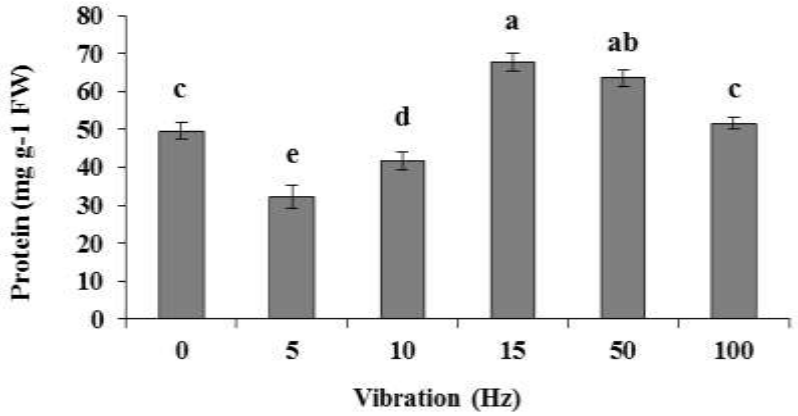
[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.3.7 ]

**جدول ۱- تأثیر فرکانس‌های مختلف ارتعاشات سینوسی بر وزن تر، وزن خشک و محتوای نسبی آب و محتوای رنگیزه بابونه گیلانی**

| ارتعاش (Hz) | شاخص‌ها | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | وزن تر (g) | وزن خشک (g) | محتوای نسبی آب (%) | کلروفیل a (mg $g^{-1}$ FW) | کلروفیل b (mg $g^{-1}$ FW) |
| ۰ | ۳/۰۱ ± ۰/٤۲٦ $^{c}$ | ۰/٤۲ ± ۰/٤۳۱ $^{cd}$ | ٥۳/۲۱ ± ۰/۲۹٥ $^{b}$ | ۰/۷۱ ± ۰/۰۲٤ $^{b}$ | ۰/٦۱ ± ۰/۲۹۱ $^{b}$ |
| ٥ | ۲/۱۷ ± ۰/٥٦۳ $^{d}$ | ۰/۳۷ ± ۰/٥۱۲ $^{d}$ | ۳۲/۷٤ ± ۰/٤۲۱ $^{c}$ | ۰/٤۳ ± ۰/۰۳۲ $^{cd}$ | ۰/۲٥ ± ۰/۱٤۳ $^{d}$ |
| ۱۰ | ۳/۱۲ ± ۰/۲۱٤ $^{c}$ | ۰/٤۸ ± ۰/٤۲۷ $^{c}$ | ٥۹/۱۷ ± ۰/۲٦۳ $^{b}$ | ۰/٥۲ ± ۰/۰٦۱ $^{c}$ | ۰/٥۲ ± ۰/۱۸٦ $^{bc}$ |
| ۱٥ | ٥/۱۲ ± ۰/۳۲۹ $^{a}$ | ۰/۷۸ ± ۰/٤٤۹ $^{a}$ | ۷۳/۲٥ ± ۰/۲۷٥ $^{a}$ | ۰/۷۸ ± ۰/۰٤٤ $^{b}$ | ۰/۷٥ ± ۰/۱٥٥ $^{a}$ |
| ٥۰ | ٥/۰۸ ± ۰/۲۷٤ $^{a}$ | ۰/٦۹ ± ۰/٤٦٤ $^{ab}$ | ۷۰/۱۲ ± ۰/۲۹٦ $^{a}$ | ۱/۰۲ ± ۰/۰٥۳ $^{a}$ | ۰/٦۹ ± ۰/۱۹۷ $^{ab}$ |
| ۱۰۰ | ٤/۱۲ ± ۰/۲٦۹ $^{b}$ | ۰/٥۲ ± ۰/٤۷۳ $^{c}$ | ٦۱/۳۱ ± ۰/۲۷۱ $^{b}$ | ۰/۷۹ ± ۰/۰۳٤ $^{b}$ | ۰/٥۸ ± ۰/۲۷۷ $^{b}$ |

**مقادیر میانگین ٤ تکرار ± انحراف معیار و حروف نامشابه بیانگر اختلاف معنی دار بر اساس آنالیز واریانس یکطرفه می‌باشد (P ≤ ۰/۰٥).**

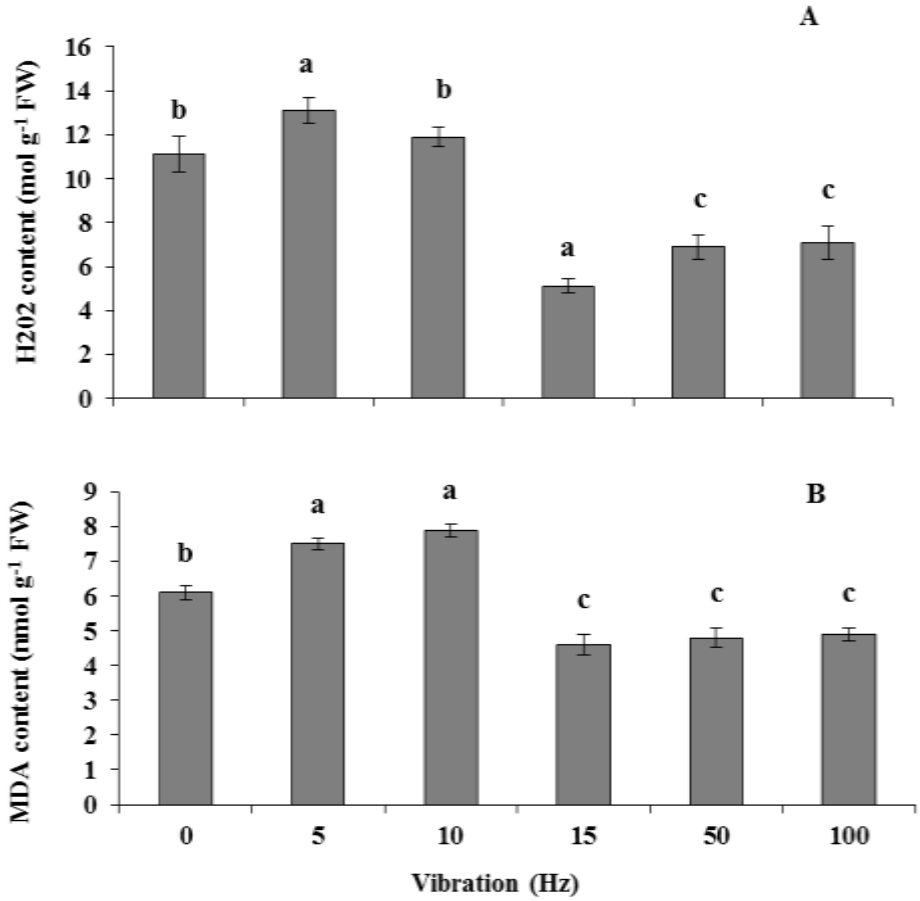



**شکل ۱- تأثیر فرکانس‌های مختلف ارتعاشات سینوسی بر محتوای پروتئین بابونه گیلانی. مقادیر میانگین ٤ تکرار ± انحراف معیار و حروف نامشابه بیانگر اختلاف معنی دار بر اساس آنالیز واریانس یکطرفه می‌باشد (P ≤ ۰/۰٥).**

افزایش رشد، محتوای نسبی آب و پروتئین تحت ارتعاشات مکانیکی در بافت کالوس گیاه ژربرا (*Gerbera jamesonii* *acrocarpous*) و بذرالبنج نیز مشاهده شده است (Bochu *et al.*, 2002; Hassanpour *et al.*, 2016). افزایش رشد تحت ارتعاشات مکانیکی می‌تواند در ارتباط با افزایش سیالیت غشا باشد (Xiongbiao *et al.*, 1993). سیالیت غشا می‌تواند منجر به حرکت رسپتورها، انتقال ملکول‌های سیگنال، باز و بسته شدن کانال‌ها بویژه کانال‌های کلسیمی شود (Mizoguchi *et al.*, 1996). از طرفی تقسیم سلولی و رشد بافت گیاهی تحت تأثیر پروتئین‌های محلول در بافت می‌باشند. با افزایش پروتئین‌های محلول، تقسیم سلولی و مقدار آنزیم‌ها افزایش می‌یابد (Yiyao *et al.*, 2002). بنظر می‌رسد افزایش رشد تحت تأثیر ارتعاشات سینوسی در ارتباط با افزایش محتوای پروتئین‌های محلول و تبادلات یونی سلول‌ها می‌باشد.

محتوای کلروفیل *a* و *b* تحت ارتعاشات سینوسی ۱۵ و ۵۰ هرتز افزایش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داد (جدول ۱). Meng و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که فتوسنتز و فلورسانس کلروفیل در گیاه توت فرنگی تحت تنش مکانیکی افزایش یافت. همچنین jeong و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که بیان رونویسی روبیسکو تحت تنش مکانیکی افزایش یافت. افزایش محتوای رنگیزه و فتوسنتز تحت تنش مکانیکی در ارتباط با افزایش فعالیت مرکز واکنش فتوسیستم، انتقال

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15 ]
[ DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.3.7 ]




**شکل ۲- تأثیر ارتعاشات سینوسی بر محتوای $H_2O_2$ (A) و مالون دی‌آلدهید (B) در بابونه گیلانی. مقادیر میانگین ٤ تکرار ± انحراف معیار و حروف نامشابه بیانگر اختلاف معنی دار بر اساس آنالیز واریانس یکطرفه می‌باشد ($P \leq ۰/۰۵$).**

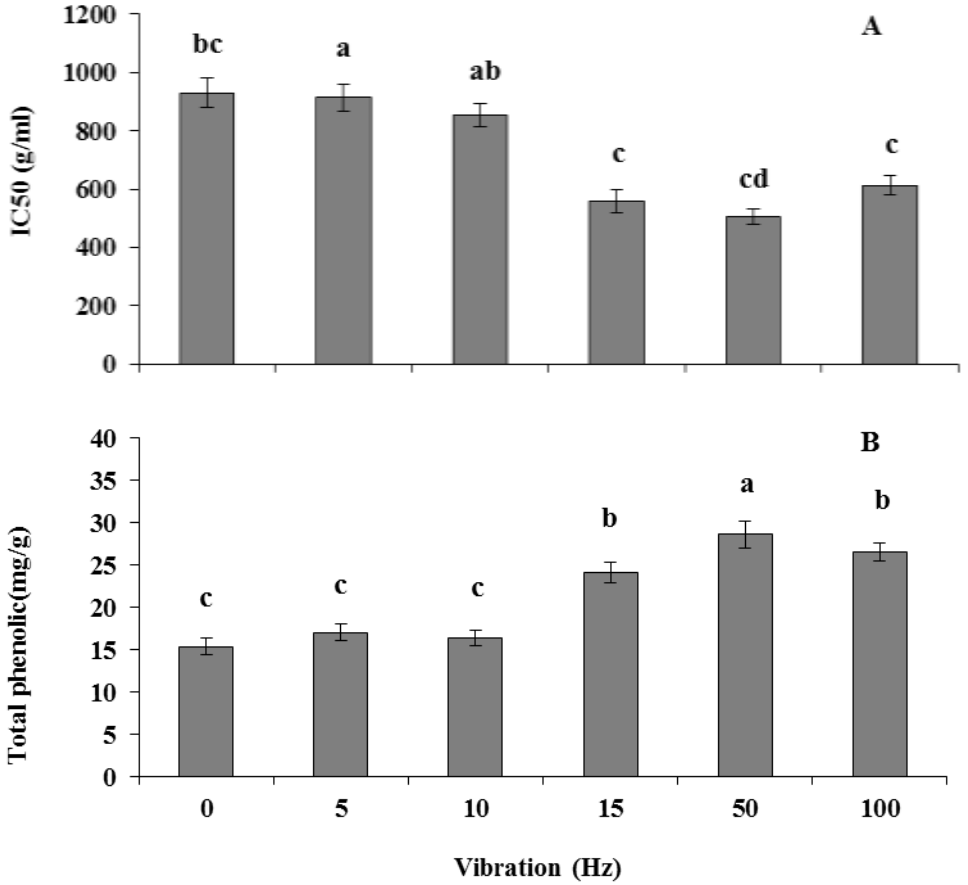
الکترون و کارایی فیتوشیمیایی فتوسیستم II می‌باشد (Meng *et al.*, 2002). بنظر می‌رسد تنش ارتعاشات در فرکانس مناسب می‌تواند با افزایش محتوای رنگیزه، مرکز واکنش فتوسیستم را فعال نموده و رشد را افزایش می‌دهد.

تنش‌های محیطی می‌توانند با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد نظیر رادیکال سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل منجر به آسیب سیستم‌های غشای سلولی شوند (Yadav, 2010). این رادیکال‌ها می‌توانند سبب پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی و آسیب به پروتئین‌ها شوند. MDA به عنوان یک محصول پراکسیداسیون لیپید، به عنوان یک نشانگر آسیب اکسیداتیو بافت‌های گیاهی محسوب می‌شود (Demirel and Turkan, 2005). کاهش محتوای پراکسیداسیون لیپید و پراکسید هیدروژن تحت ارتعاشات سینوسی در این مطالعه می‌تواند بیانگر این باشد که فعالیت رادیکال‌های آزاد به خوبی مهار شده و می‌تواند در ارتباط با افزایش محتوای ترکیبات آنتی‌اکسیدان و ترکیبات فنلی گیاه باشد (شکل ۳).

تحمل تنش‌های محیطی اغلب در ارتباط با سیستم آنتی‌اکسیدان با کارایی بالا برای حذف رادیکال‌های آزاد می‌باشد. چندین سیستم آنتی‌اکسیدان از جمله ترکیبات آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیر آنزیمی وجود دارند که می‌توانند منجر به غیر فعال سازی ترکیبات رادیکال‌های آزاد شوند. ترکیبات فنلی به عنوان ترکیبات جاروب کننده رادیکال‌های آزاد، عوامل احیاء کننده و دهنده‌های هیدروژن عمل نموده و دارای خواص آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (Proestos *et al.*, 2006).

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.3.7 ]




**شکل ۳- تأثیر ارتعاشات سینوسی بر محتوای $IC_{50}$ (A) و فنل کل (B) در بابونه گیلانی. مقادیر میانگین ٤ تکرار ± انحراف معیار و حروف نامشابه بیانگر اختلاف معنی دار بر اساس آنالیز واریانس یکطرفه می‌باشد ($P \leq ۰/۰۵$).**

DPPH نیز رادیکال پایداری است که می‌تواند منجر به جاروب کنندگی رادیکال‌های آزاد شود (Lu and Yeap Foo, 2001). مقادیر پائین تر $IC_{50}$ بیانگر فعالیت بیشتر جاروب کنندگی رادیکال‌های آزاد توسط DPPH می‌باشد. در این پژوهش ارتعاش سینوسی منجر به افزایش معنی‌دار محتوای ترکیبات فنلیک و کاهش $IC_{50}$ شد و بالاترین محتوای فنل کل در فرکانس ۵۰ هرتز ارتعاش بدست آمد. Chen و همکاران (۲۰۱٦) نشان دادند فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز و گلوتاتیون ردوکتاز تحت تأثیر ارتعاشات مکانیکی در گیاه گندم (*Triticum aestivum*) افزایش معنی‌داری یافت. Hassanpour و همکاران (۲۰۱٦) نشان دادند که ارتعاشات سینوسی با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه بنگ‌دانه منجر به القای جاروب نمودن رادیکال‌های آزاد و پایداری غشای سلولی شد. بنظر می‌رسد ارتعاش سینوسی در فرکانس مناسب می‌تواند با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و جاروب نمودن رادیکال‌های آزاد سبب فعال سازی پروتئین‌های آنزیمی مسیر بیوسنتزی ترکیبات فنلی شده و محتوای فنل کل را افزایش دهد.

## نتیجه گیری

گیاهچه‌های بابونه تحت ارتعاشات سینوسی در فرکانس‌های مختلف، پاسخ‌های متفاوتی را از نظر شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی نشان دادند. ارتعاشات سینوسی در فرکانس‌های ۱۵ و ۵۰ هرتز برای ۳۰ دقیقه منجر به افزایش رشد، محتوای کلروفیل و پروتئین، خواص آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنل کل شد. میزان پراکسیداسیون لیپید و $H_2O_2$ نیز

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15 ]
[ DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.3.7 ]

تحت ارتعاشات سینوسی کاهش معنی‌دار یافت. با توجه به افزایش رشد، پایداری غشا و خواص آنتی‌اکسیدانی گیاهچه‌های بابونه گیلانی، ارتعاشات سینوسی در فرکانس مناسب می‌توانند به عنوان عامل تحریک کننده رشد و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه محسوب گردند و از آن می‌توان به عنوان ابزاری برای افزایش تحمل به تنش‌های محیطی استفاده نمود.

## منابع


Alhdad, G. M., Seal, C. E. and Al-Azzawi, M. J. (2013) The effect of combined salinity and waterlogging on the halophyte *Suaeda maritima*: The role of antioxidants. Environmental and Experimental Botany 87:120–125.

Bochu, W., Xuefeng, L., Yiyao, L., Chuanren, D. and Sakanishi, A. (2002) The effects of mechanical vibration on the microstructure of *Gerbera jamesonii acrocarpous* callus. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 23: 1-5.

Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein-dye binding. Journal of Analytical Biochemistry 72:248–254.

Chen, Y., Liu, Q., Yue, X., Meng, Z. and Liang, J. (2013) Ultrasonic vibration seeds showed improved resistance to cadmium and lead in wheat seedling. Environmental Science and Pollution Research 20:4807–4816.

Demirel, T. and Turkan, I. (2005) Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. Environmental and Experimental Botany 53: 247-257.

Hassanpour, H., Niknam, V. and Haddadi, B. S. (2016) High-frequency vibration improve callus growth via antioxidant enzymes induction in *Hyoscyamus kurdicus.* Plant Cell, Tissue and Organ Culture 128: 231–241.

Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts. Archives of Biochemistry and Biophysics 125:189–198.

Kang, D., Zhang, H., Zeng, Q., Mo, X., Wang, Y. and Yang, D. (2011) Response of *Camptotheca acuminata* calli stimulated by mechanical vibration. Acta Physiologiae Plantarum 33: 711-716.

Karioti, A., Skaltsa, H., Linden, A., Perozzo, R., Brun, R. and Tasdemir, D. (2007) Anthecularin: a novel sesquiterpene lactone from *Anthemis auriculata* with antiprotozoal activity. The Journal of organic chemistry 72: 8103-8106.

Konstantinopoulou, M., Karioti, A., Skaltsas, S. and Skaltsa, H. (2003) Sesquiterpene Lactones from *Anthemis altissima* and their anti-helicobacter pylori activity. Journal of natural products 66: 699-702.

Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in enzymology 148: 350-382.

Loreto, F. and Velikova, V. (2001) Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes. Plant Physiology 127: 1781-1787.

Lu, Y. R. and Yeap Foo, L. (2001) Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). Food Chemistry 75: 197–202.

Lutts, S., Kinet, J. M. and Bouharmont, J. (1996) NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. Journal Annual Botany 78:389–398.

Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J. and Nacoulma, O. G. (2005) Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their scavenging activity. Food Chemistry 91: 571-577.

Meng, Q., Zhoua, Q., Zhenga, S. and Gaoa, Y. ( 2012) Responses on photosynthesis and variable chlorophyll fluorescence *of Fragaria ananassa* under sound wave. Energy Procedia 16: 346-352.

Mizoguchi, T., Irie, K., Hirayama, T., Hayashida, N., Yamaguchi-Shinozaki, K., Matsumoto, K. and Shinozaki, K. (1996) A gene encoding a mitogen-activated protein kinase kinase kinase is induced simultaneously with genes for a mitogen-activated protein kinase and an S6 ribosomal protein kinase by touch, cold, and water stress in *Arabidopsis thaliana*. Proceedings of the National Academy of Sciences 93: 765–769.

Petronilho, S., Maraschin, M., Coimbra, M. A. and Rocha, S. M. (2012) In vitro and in vivo studies of natural products:A challenge for their valuation. The case study of chamomile (*Matricaria recutita L.*).Industrial Crops and Products 40: 1-12.

Proestos, C., Boziaris, I. S., Nychas, G. J. E. and Komaitis, M. (2006) Analysis of flavonoids and phenolic acids in Greek aromatic plants: investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. Food Chemistry 95: 664-67.

Rossi, T., Melegari, M., Bianchi, A., Albasini, A. and Vampa, G. (1988) Sedative, anti-inflammatory and anti-diuretic effects induced in rats by essential oils of varieties of *Anthemis nobilis*: a comparative study. Pharmacological research communications 20: 71-74.

Saroglou, V., Karioti, A., Rancic, A., Dimas, K., Koukoulitsa, C., Zervou, M. and Skaltsa, H. (2010) Sesquiterpene lactones from *Anthemis melanolepis* and their antibacterial and cytotoxic activities. Prediction of their pharmacokinetic profile. Journal of Natural Products 73: 242-246


[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.3.7 ]

Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. and Nakamura, T. (1992) Antioxidative properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. Journal of Agricultural and Food Chemistry 40: 945-8.

Von Sontag, C. (1980) Free radical reactions of carbohydrates as studied by radiation techniques. Advance in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry 37: 7-77.

Yadav, S. K. (2010) Cold stress tolerance mechanisms in plants. Agronomy for Sustainable Development 30: 515–527.

Yiyao, L., Wang, B., Xuefeng, L., Chuanren, D. and Sakanishi, A. (2002) Effects of sound field on the growth of Chrysanthemum callus. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 24: 321-326.

Xiongbiao, L. (1993) Plant cell wall, Peiking University Press, Beijing.

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.3.7 ]

# Effect of different sinusoidal-vibration frequencies on some physiological parameters, antioxidant activity and total phenol of *Anthemis gilanica* Bornm and Gauba

**Halimeh Halimeh[1*] and Vahid Niknam[2]**

**[1]Aerospace Research Institute, Ministry of Science Research and Technology, Tehran 14665-834, Iran**
**[2]School of Biology, College of Science, Center of Excellence in Phylogeny of Living Organisms in Iran, University of Tehran, Tehran, Iran**
**(Received: 11/07/2017, Accepted: 17/01/2018)**

## Abstract

Mechanical vibration is one of abiotic stresses which could affect growth and development of plant cells. In this research, effect of sinusoidal vibration were studied on some physiological parameters, protein, total phenols and free radical scavenging activity using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) in *Anthemis gilanica* seedlings. Sinusoidal vibrations were applied at 0, 10, 15, 50 and 100 Hz on 10 days seedlings, and were analyzed for physiological and biochemical responses after 30 days. Results showed different responses of growth, antioxidant activity and phenolic content under different frequencies of vibration. Sinusoidal vibrations at frequencies of 15 and 50 Hz resulted in a significant increase in growth parameters, relative water content, chlorophyll *a* and chlorophyll *b* and protein content compared to the control. Malondialdehyde (MDA) and $H_2O_2$ levels decreased significantly at frequencies higher than 10 Hz, and 15 Hz treatment resulted in a 54.55% and 24.5% reduction of hydrogen peroxide and malondialdehyde content as compared to the control. Sinusoidal vibrations also increased in free radical scavenging activity by reducing the IC50 value, and the highest decrease was observed at 50 Hz frequency. It seemed that increase of antioxidant capacity under proper frequency of vibration could induce *A. gilanica* growth.

**Keywords**: *Anthemis gilanica*, Sinusoidal vibration, Malondialdehyde, Phenolic content

**Corresponding author, E-mail: hassanpour@ari.ac.ir**

[ Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-15 ]

[ DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.3.7 ]