The Effect of Vitamin C and Hydroquinone on the Developmental and Colorimetric Properties of Seedlings from Aged Canola Seeds

Pages 50-65

H. Naghisharifi[1], M. Kolahi[2], M. Javaheriyan[3] and B. Zargar[4]

1,2& 4) Department of Chemistry, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

3) Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

*Corresponding author**: m.kolahi@scu.ac.ir.**

Received date: 2023.05.14 **Accepted date: 2023.08.08**

Abstract

Canola (*Brassica napus* L.) is a member of the Brassicaceae family that grows annually and its seeds are mainly used for oil production, making it the third most important source of edible oil after soybean and palm. This study investigates the restorative effects of pre-treatment with vitamin C and hydroquinone on canola seeds under accelerated aging and examining the developmental and biochemical characteristics of seedlings derived from these aged seeds. This includes morphological traits and germination indices. Seed pre-treatment with antioxidant compounds reduced the damage caused by decay, improved seed and seedlings quality, and increased the growth indices. The colorimetric characteristics of the extracts from seedlings pre-treated with aged canola seeds showed changes under vitamin C and hydroquinone pretreatment. Pre-treatment of aged oily seeds with ascorbic acid (vitamin C) had a positive effect on germination indices. The pre-treatment stimulated metabolic activities during germination, resulting in improved germination speed and uniformity of seedling growth. Changes in color in natural compounds are related to their phenolic content and antioxidant capacity. Although seed aging resulted in a 70% reduction in germination vigor, seedlings from viable aged seeds showed metabolic pathway changes in the seedlings.

Keywords: Aging, Canola, Germination and Pretreatment.

.

بررسی اثر بهبودی ویتامین ث و هیدروکینون بر ویژگی‌های نموی و رنگ سنجی گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پیر کلزا

شماره صفحات
۶۵-۵۰

حورا نقی شریفی[۱]، مریم کلاهی*[۲]، محمد جواهریان[۳] و بهروز زرگر[۴]

۱) گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
۲) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
۳) گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
۴) گروه شیمی ، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

* نویسنده مسئول: **m.kolahi@scu.ac.ir.**

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۱۷

چکیده

کلزا (*Brassica napus* L.) عضوی از خانواده چلیپاییان است که به صورت یک ساله رشد می‌کند و از بذر آن عمدتاً برای تولید روغن استفاده می‌شود که سومین منبع مهم روغن خوراکی پس از سویا و نخل است. در این پژوهش اثر بهبودی پیش تیمار ویتامین ث و هیدروکینون بر بذر کلزای تحت پیری تسریع شده و ویژگی¬های تکوینی و بیوشیمیایی گیاهچه¬های حاصل از بذرهای پیر کلزا شامل صفات ریخت شناسی، شاخص¬های جوانه زنی مورد بررسی قرار گرفت. پیش تیمار بذر با ترکیبات آنتی اکسیدان موجب کاهش خسارت ناشی از زوال، بهبود کیفیت بذر و گیاهچه‌های کلزا و نیز افزایش شاخص های رشد شد. ویژگی‌های رنگ سنجی عصاره گیاهچه‌های پیش تیمار شده بذر پیر کلزا بیانگر تغییرات صفات رنگ سنجی عصاره ها تحت پیش تیمار ویتامین ث و هیدروکینون بود. پیش تیمار بذرهای روغنی پیر شده با اسیدآسکوربیک (ویتامین ث) بر شاخص¬های جوانه زنی تأثیر مثبت داشت. پیش تیمار موجب تحریک فعالیت¬های متابولیکی جوانه زنی شده، این امر باعث بهبود سرعت جوانه زنی و یکنواختی رشد گیاهچه‌ها شد. تغییرات رنگ در ترکیبات طبیعی به محتوای فنولی و ظرفیت آنتی اکسیدانی آن ترکیبات مرتبط است. اگرچه اعمال پیری بذر باعث کاهش ۷۰ درصدی قدرت جوانه زنی بذرها شد اما گیاهچه های حاصل از بذر های دارای توان رویش، تغییراتی در مسیرهای متابولیکی گیاهچه نشان دادند.

کلیدواژه‌ها: پیری، پیش تیمار، جوانه زنی و کلزا.

مقدمه

روغن‌های گیاهی اغلب از مغز میوه‌ها یا بذر گیاهان تهیه می‌شوند. اغلب روغن‌های گیاهی دارای مواد ازت‌دار هستند، به همین دلیل برای تولید پروتئین‌های با ارزش، اسیدهای چرب مورد نیاز برای متابولیسم‌های بدن و ویتامین‌های محلول در چربی استفاده می‌شوند. مهم‌ترین پارامتر کیفیت بذر، جوانه زنی بذر است که تحت تأثیر عوامل زیادی قرار می‌گیرد. برداشت به موقع، شرایط نگهداری پس از برداشت و فرآوری بذر تاثیر به سزایی بر کیفیت و طول عمر بذر دارد (Chew *et al*, 2020). کلزا (*Brassica napus* L.) به دلیل محتوی بالای روغن در دانه، یک سوم کل روغن‌های خوراکی در سراسر جهان را تشکیل می‌دهد. زمانی که نمونه تحت شرایط پیری زودرس قرار گیرد، سطوح بالای دما و رطوبت نسبی به عنوان برجسته‌ترین عوامل محیطی، موجب شدت و سرعت پیری می‌شوند (Hoffman *et al*, 2014). فرآیند پیری بذر را می توان غیرقابل برگشت، تجمعی و غیرقابل جبران توصیف کرد. این فرآیند می‌تواند منجر به تاخیر در سبز شدن گیاهچه و کاهش مقاومت به تنش های محیطی در فرآیند جوانه زنی و در طول رشد اولیه نهال ها شود دانه‌ها به تدریج در طول انبارداری طولانی مدت فرسوده می‌شوند و قوه ی نامیه آنها کاهش می‌یابد. مطالعه تغییرات فیتوشیمیایی و آنتی اکسیدانی گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پیر شده برای درک بهتر مکانیسم‌های پیری و تعیین عوامل موثر بر این پدیده می باشد(Misra *et al*,2016). شرایط محیطی نگهداری بذر تعیین‌کننده مدت زمانی است که جوانه‌زنی و قدرت آن حفظ می‌شود. زوال بذر در طی انبارداری باعث کاهش کیفیت بذر، استقرار گیاهچه و در نهایت عملکرد گیاه در مزرعه خواهد شد. مهم‌ترین تغییراتی که ضمن زوال در بذر ایجاد می‌شود، شامل واکنش‌های اکسیداسیونی مانند تولید رادیکال‌های آزاد، دهیدروژناسیون آنزیمی و اکسایش آلدهیدی پروتئین‌ها، همچنین کاهش یکپارچگی و نفوذپذیری غشا و افزایش نشت الکترولیت‌ها از غشا تحت تأثیر رادیکال‌های آزاد، تغییر ساختمان مولکولی اسیدهای نوکلئیک و کاهش فعالیت آنزیم‌ها می‌باشد (Sharaf Eldin *et al*, 2018). دلیل اصلی زوال بذر در مدت زمان انبارداری مشخص نشده‌است، اما طی بررسی‌های انجام شده عامل اصلی آن را پراکسیداسیون لیپیدها می‌دانند. روش پراکسیداسیون به دو شکل آنزیمی و غیرآنزیمی انجام می‌شود. زوال بذر شامل برخی تغییرات بیوفیزیکی و بیوشیمیایی شامل تغییر در ساختار مولکولی نوکلئیک اسیدها، کاهش فعالیت برخی آنزیم‌های کلیدی در جوانه‌زنی و افزایش فعالیت برخی از آنزیم‌های هیدرولیز کننده، اختلال در یکپارچگی غشا و کاهش تنفس است .نتیجه این تغییرات به کاهش قدرت بذر، کاهش سرعت جوانه‌زنی و رشد گیاهچه، کاهش توانایی جوانه‌زنی بذرها تحت شرایط تنش‌زا، افزایش احتمال نمو گیاهچه‌های غیرطبیعی و کاهش درصد استقرار بوته در مزرعه و باعث کاهش عملکرد گیاه منجر می‌گردد. همچنین، چنانچه شدت زوال زیاد باشد ممکن است هیچ بذری جوانه نزند (Hoffman *et al*, 2014).

مواد و روش‌ها

روش تحقیق: بذرهای کلزا در سال ۱۳۹۹ از مرکز تحقیقات صفی آباد شهر دزفول تهیه شد و توسط بخش زیست شناسی

دانشکده علوم در دانشگاه شهید چمران اهواز در آزمایشگاه گیاه شناسی مورد شناسایی قرار گرفت. جهت اعمال پیری تسریع شده، بذرها طی شش روز در دمای ۵۵ $^{\circ}C$ و رطوبت ۱۰۰٪ در آون قرارگرفتند (Misra *et al*,2016).

آماده سازی گیاهچه‌های بذر کلزا

.بذرهای کلزا با آب مقطر، ویتامین ث و هیدروکینون بمدت ۲۴ ساعت پیش تیمار شدند. بذرهای کلزای کنترل و تحت پیری تسریع شده پس از ضدعفونی در گلدان های حاوی پرلیت کشت شدند. پس از جوانه زنی بذرهای کلزا، گلدان‌ها به شرایط کشت فتوپریود روشنایی(۱۶ h) و تاریکی (۸ h)، دمای (۳۰ -۲۵ $^{\circ}C$)، رطوبت ۵۰-۶۰٪ و شدت نور ۶۰۰۰ لوکس انتقال یافتند و جهت انجام سنجش‌ها در فریزر نگهداری شدند (Szydlowska-Czerniak *et a*l, 2011).

عصاره گیری گیاهچه‌های بذر کلزا به روش ماسیراسیون

۱ g وزن تر گیاهچه‌های کلزا با حلال اتانول ۹۸٪ (۱۰ mL) مخلوط شد و در دستگاه شیکر ۴۸ h در دمای محیط قرار گرفت سپس برای عصاره گیری به مدت ۱۵ min با دور ۴۰۰۰ دور بر دقیقه سانترفیوژ انجام شد (Pallavi *et al*, 2003).

تعیین شاخص وزنی و طولی قدرت گیاهچه

شاخص‌های وزنی و طولی قدرت گیاهچه نیز اندازه گیری و توسط رابطه‌های ۱ و ۲ محاسبه گردید.

(Shahverdikandi *et al*, 2011).

رابطه ۱ درصد جوانه زنی گیاهچه × وزن خشک گیاهچه = شاخص وزنی قدرت گیاهچه

رابطه ۲ درصد جوانه زنی گیاهچه × طول گیاهچه = شاخص طولی قدرت گیاهچه

تعیین درصد جوانه زنی

درصد جوانی زنی شمارش بذرهای جوانه زده، روزانه در ساعتی معین بررسی شد و طبق رابطه ۳ محاسبه گردید.

(Khajeh-Hosseini *et al*, 2009).

رابطه ۳ $(GP) = (N_i / N) \times 100$ درصد جوانه زنی

N= تعداد کل بذر N_i=تعداد بذرهای جوانه زده

سنجش میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی گیاهچه‌ها

آنتوسیانین

سنجش میزان رنگیزه غیر فتوسنتزی آنتوسیانین نیز صورت گرفت (Kumar *et al*, 2015). جهت اندازهگیری آنتوسیانین ۲mL از عصاره کلزا متانول اسیدی (۱۰ mL) و هیدروکلریدریک اسید (۱ mL) اضافه کرده و پس از ۵ min با دور ۴۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ و جذب عصاره رویی در طول موج ۵۵۰ nm دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. متانول اسیدی به

عنوان شاهد در دستگاه قرار داده شد. برای محاسبه غلظت آنتوسیانین سیانیدین از ضریب خاموشی معادل (cm.mol/L ۳۳۰۰۰) استفاده شد و میزان آنتوسیانین برحسب میلی گرم در ۱۰۰ g وزن خشک طبق رابطه زیر محاسبه گردید.

رابطه ۴ $A= \varepsilon bc$

در این رابطه:

A: شدت جذب

b: عرض کووت ۱ سانتی‌متر

ε: ظریب جذب مولی برابر با ۲۷۳۰۰ لیتر بر مول سانتی‌متر

کارتنوئید

همچنین سنجش کارتنوئید مورد بررسی قرار گرفت (Cartea *et al*, 2010) از آنجایی که عصاره‌های گیاهی غلیظ بودند قبل از قرائت جذب، نمونه‌ها به نسبت (۱:۴) با استون ٪ ۸۰ رقیق و ضریب رقت در محاسبات اعمال شد. در نهایت با استفاده از رابطه زیر کاروتنوئید برحسب میلی گرم در ۱۰۰ g وزن خشک نمونه محاسبه گردید.

رابطه ۵ Carotenoid (µg/mL) = (1000 A470-1.82Chl a-85.02 Chl b)/ 198)

نتایج حاصل از این اندازه گیری بر حسب میلی گرم در ۱۰۰ g وزن خشک محاسبه گردید..

رابطه ۶ $\text{Carotenoids (mg/g)} = \text{Carotenoids (µg/mL)} (V) / 1000\ W$

W=وزن بذر V= حجم عصاره

میزان آنتوسیانین و کاروتنوئید گیاهچه های پیش تیمار نیز مورد بررسی قرار گرفت.

سنجش رنگ در عصاره گیاهچه ها

جهت سنجش رنگ روغن و عصاره کلزا، از طیف‌سنج نشری مینیاتوری (UVS-2500) قسمت مربوط به شاخص رنگ سنجی استفاده شد ؛ این دستگاه دارای استانداردهای اندازه‌گیری مقادیر فام CIE1931، CIE1960 و CIE1976 است. برای کمی کردن مقادیر رنگ از مشخصه‌های a* ، b* و L* استفاده شد که با مشخصه‌های X،Y وZ ارتباط دارند (Zhao *et al*, 2021).

پارامترهای رنگ

L* بیانگر روشنایی (۰= سیاه، ۱۰۰= سفید) ، a* بیانگر سبز و قرمز بودن (a*- سبز، a*+ قرمزی) و b* بیانگر آبی و زرد بودن (b*– آبی، b*+ زردی) می‌باشد.

مشخصه‌های a*، b* و L* با X،Y وZ به صورت رابطه‌های ۴ ، ۵ و ۶ است:

رابطه ۴ $L^*=۱۱۶\ (Y/Y_n)^{۱/۳}-۱۶$

رابطه ۵ $a^*=۵۰۰[(X/X_n)^{۱/۳}-(Y/\ Y_n)^{۱/۳}]$

رابطه ۶ $b^*=۵۰۰[(Y/Y_n)^{۱/۳}-(X/\ X_n)^{۱/۳}]$

تغییررنگ‌کل در گیاهچه‌های بذر کلزا قبل و بعد از شفاف‌سازی به عنوان ΔE بیان شد و طبق رابطه ۷ محاسبه گردید.

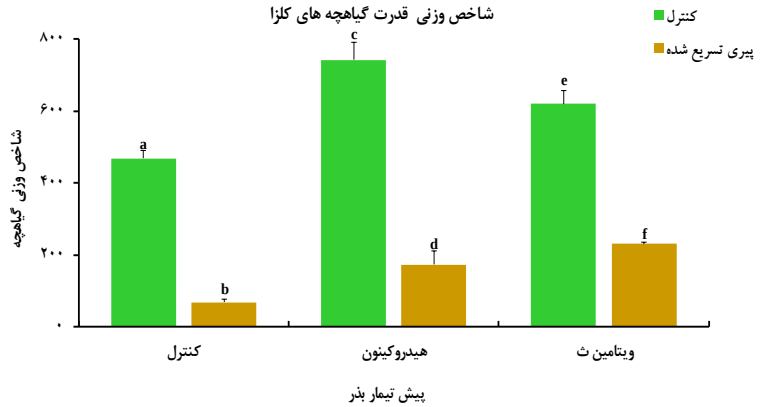
رابطه ۷ $$\Delta E^* = \sqrt{(L_0^* - L^*)^2 + (a_0^* - a^*)^2 + (b_0^* - b^*)^2}$$

آنالیز آماری داده‌ها با نرم افزار SPSS۲۰ انجام شد. مقایسه میانگین سه تکرار داده‌ها با روش دانکن و تی‌تست بررسی شد. نمودارهای مقایسه میانگین با نرم‌افزار اکسل رسم گردید.

نتایج و بحث

بررسی میزان تغییرات شاخص وزنی گیاهچه‌های کلزای حاصل از پیش‌تیمار بذرهای تحت پیری تسریع شده

بررسی تغییرات شاخص وزنی گیاهچه‌های کلزای حاصل از پیش‌تیمار بذرهای تحت پیری تسریع شده نشان داد که بین نمونه‌ی کنترل و نمونه‌های پیش‌تیمار با ویتامین ث و هیدروکینون تفاوت معناداری وجود دارد. بیشترین و کمترین میزان تغییرات وزن به ترتیب مربوط به کنترل پیش‌تیمار با هیدروکینون و نمونه تحت پیری تسریع شده بود. میزان تغییرات شاخص وزنی در نمونه‌ی تحت پیری تسریع شده نسبت به نمونه‌ی کنترل حدود یک هشتم کاهش پیدا کرد. همین روند در نمونه کنترل با پیش‌تیمار هیدروکینون کاهش سه و نیم برابری و در ویتامین ث کاهش دو ونیم برابری داشت ($p < ۰/۰۵$) (شکل ۱).

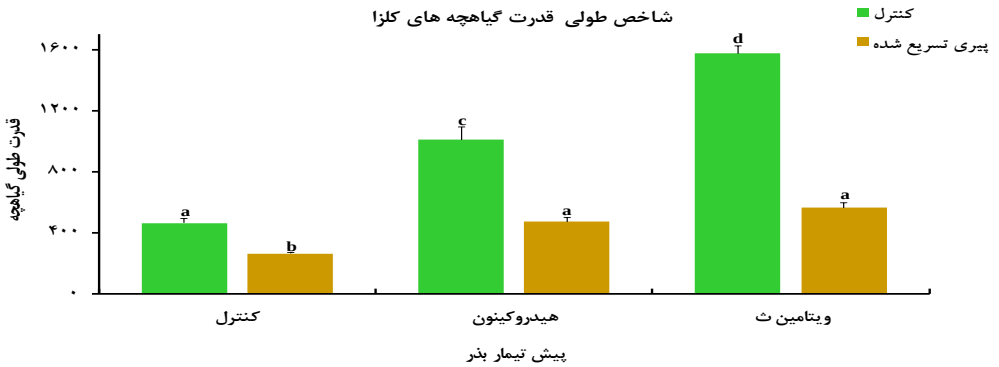


شکل ۱: تغییرات شاخص وزن گیاهچه‌های کلزای حاصل از پیش‌تیمار بذرهای تحت پیری تسریع شده. مقادیر ذکر شده میانگین ۳ بار تکرار± خطای استاندارد می‌باشد. حروف مشابه در بالای ستون‌ها معرف عدم تفاوت معناداری بین میانگین‌ها می‌باشد.

بررسی میزان تغییرات شاخص طولی گیاهچه‌های کلزای حاصل از پیش‌تیمار بذرهای تحت پیری تسریع شده

بررسی تغییرات شاخص طولی گیاهچه‌های کلزای حاصل از پیش‌تیمار بذرهای تحت پیری تسریع شده نشان داد که بین نمونه‌ی کنترل و نمونه‌های پیش‌تیمار با ویتامین ث و هیدروکینون تفاوت معناداری وجود دارد. بیشترین و کمترین میزان

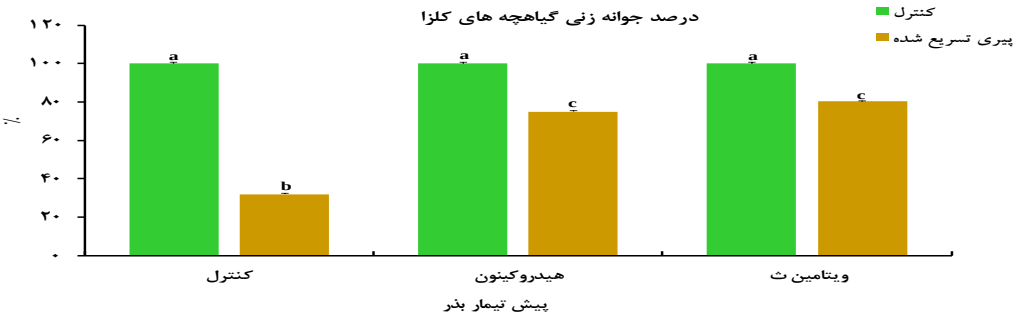
تغییرات شاخص طولی گیاهچه‌ها به ترتیب مربوط به کنترل پیش‌تیمار با ویتامین ث و نمونه تحت پیری تسریع شده بود. میزان تغییرات شاخص طولی گیاهچه در نمونه‌ی تحت پیری تسریع شده نسبت به نمونه‌ی کنترل نصف شد. همین روند در نمونه کنترل با پیش‌تیمار هیدروکینون و ویتامین ث نیز مشاهده شد که نمونه تحت پیری تسریع شده با پیش‌تیمار ویتامین ث و نمونه تحت پیری تسریع شده با پیش تیمار هیدروکینون به ترتیب یک سوم و یک دوم کاهش داشتند (p <۰/۰۵) (شکل ۲).



شکل ۲: تغییرات شاخص طولی گیاهچه‌های کلزای حاصل از پیش‌تیمار بذرهای تحت پیری تسریع شده. مقادیر ذکر شده میانگین ۳ بار تکرار± خطای استاندارد می‌باشد. حروف مشابه در بالای ستون‌ها معرف عدم تفاوت معناداری بین میانگین‌ها می‌باشد.

بررسی میزان تغییرات درصد جوانه زنی گیاهچه‌های کلزای حاصل از پیش‌تیمار بذرهای تحت پیری تسریع شده

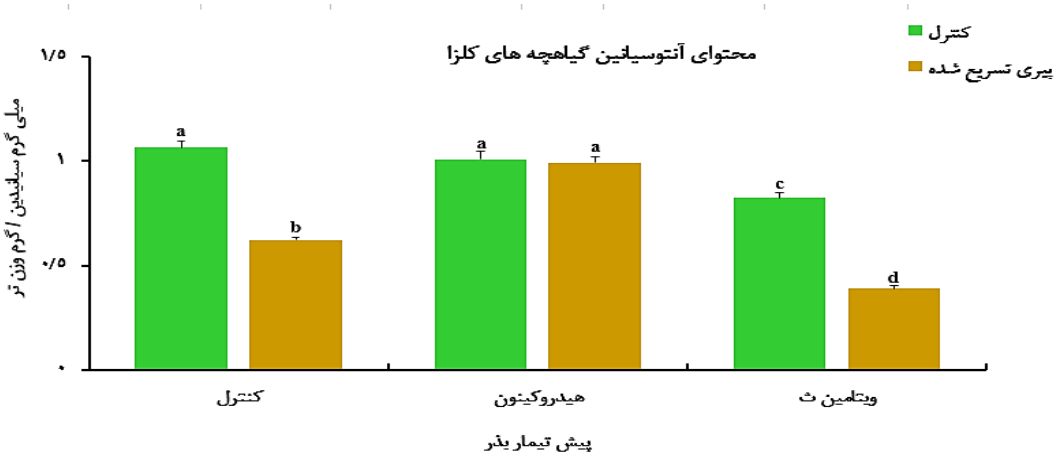
بررسی تغییرات درصد جوانه زنی گیاهچه‌های کلزای حاصل از پیش‌تیمار بذرهای تحت پیری تسریع شده نشان داد که بین نمونه‌ی کنترل و نمونه‌های پیش‌تیمار با ویتامین ث و هیدروکینون تفاوت معناداری وجود دارد. بیشترین و کمترین میزان تغییرات درصد جوانه زنی به ترتیب مربوط به نمونه‌ی کنترل و کنترل‌های پیش تیمار شده، نمونه تحت پیری تسریع شده بود. میزان تغییرات درصد جوانه زنی در نمونه‌ی تحت پیری تسریع شده نسبت به نمونه‌ی کنترل حدود یک سوم کاهش پیدا کرد. همچنین در نمونه کنترل با پیش‌تیمار هیدروکینون و ویتامین ث مشاهده شد که نسبت به نمونه تحت پیری تسریع شده با پیش‌تیمار هیدروکینون و ویتامین ث کاهش معناداری وجود داشت (p <۰/۰۵) (شکل۳).



شکل ۳: تغییرات درصد جوانه زنی گیاهچه‌های کلزای حاصل از پیش‌تیمار بذرهای تحت پیری تسریع شده. مقادیر ذکر شده میانگین ۳ بار تکرار± خطای استاندارد می‌باشد. حروف مشابه در بالای ستون‌ها معرف عدم تفاوت معناداری بین میانگین‌ها می‌باشد.

بررسی میزان تغییرات آنتوسیانین در گیاهچه‌های کلزای حاصل از پیش‌تیمار بذرهای تحت پیری تسریع شده

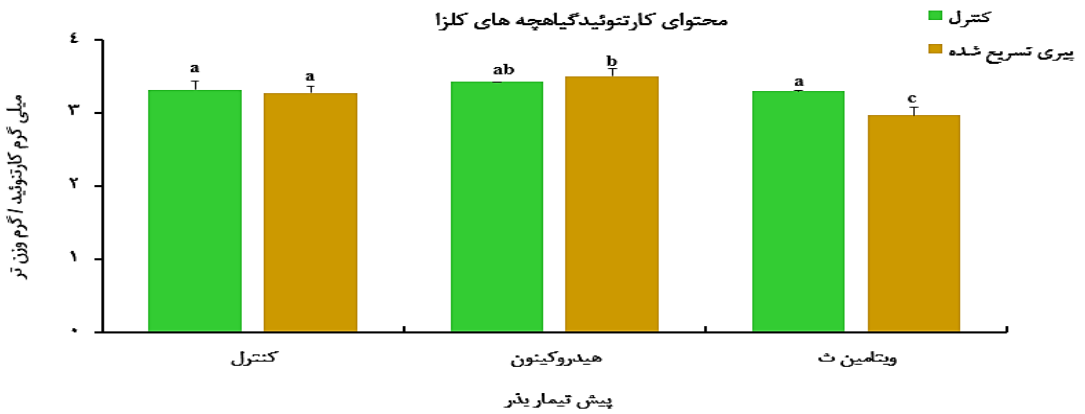
بررسی میزان تغییرات آنتوسانین در گیاهچه‌های کلزای حاصل از پیش‌تیمار بذرهای تحت پیری تسریع شده نشان داد که بین نمونه‌ی کنترل و نمونه‌های پیش‌تیمار با ویتامین ث و هیدروکینون تفاوت معناداری وجود دارد. بیشترین میزان آنتوسانین مربوط به نمونه کنترل و نمونه پیش‌تیمار با هیدروکینون و کمترین میزان آنتوسانین در نمونه‌ی تحت پیری تسریع شده پیش‌تیمار با ویتامین ث بود. میزان آنتوسانین در نمونه‌ی تحت پیری تسریع شده بدون پیش‌تیمار نسبت به نمونه‌ی کنترل کاهش معناداری نشان داد. همین روند در نمونه پیش‌تیمار با هیدروکینون و ویتامین ث مشاهده شد که نسبت به نمونه تحت پیری تسریع شده با پیش‌تیمار هیدروکینون افزایش معناداری نشان داد. در گیاهچه تحت پیری تسریع شده با پیش‌تیمار ویتامین ث مشاهده شد که نسبت به نمونه کنترل پیش‌تیمار با ویتامین ث میزان آنتوسانین نصف شده¬است (p <۰/۰۵) (شکل ۴).



شکل ۴: محتوای آنتوسانین گیاهچه‌های کلزا حاصل از پیش‌تیمار بذرهای تحت پیری تسریع شده. مقادیر ذکر شده میانگین ۳ بار تکرار± خطای استاندارد می‌باشد. حروف مشابه در بالای ستون‌ها معرف عدم تفاوت معناداری بین میانگین‌ها می‌باشد.

بررسی میزان تغییرات کارتنوئید در گیاهچه‌های کلزای حاصل از پیش‌تیمار بذرهای تحت پیری تسریع شده

بررسی میزان کارتنوئید در گیاهچه‌های کلزای حاصل از پیش‌تیمار بذرهای تحت پیری تسریع شده نشان داد که بین نمونه‌ی کنترل و نمونه‌های پیش‌تیمار با ویتامین ث و هیدروکینون تفاوت معناداری وجود دارد. بیشترین و کمترین میزان کارتنوئید مربوط به نمونه تحت تیمار پیری تسریع شده پیش‌تیمار با هیدروکینون و نمونه تحت پیری تسریع شده پیش‌تیمار با ویتامین ث بود. میزان کارتنوئید در نمونه‌ی تحت پیری تسریع شده بدون پیش‌تیمار نسبت به نمونه کنترل افزایش معناداری نشان داد. همین روند در نمونه‌ی پیری تسریع شده با پیش‌تیمار هیدروکینون مشاهده شد که نسبت به نمونه‌ی کنترل با پیش‌تیمار هیدروکینون افزایش نشان داد. در صورتی که در گیاهچه‌های تحت پیری تسریع شده با پیش‌تیمار ویتامین ث نسبت به نمونه‌ی کنترل پیش‌تیمار با ویتامین ث کاهش نشان داد (p <۰/۰۵) (شکل ۵).



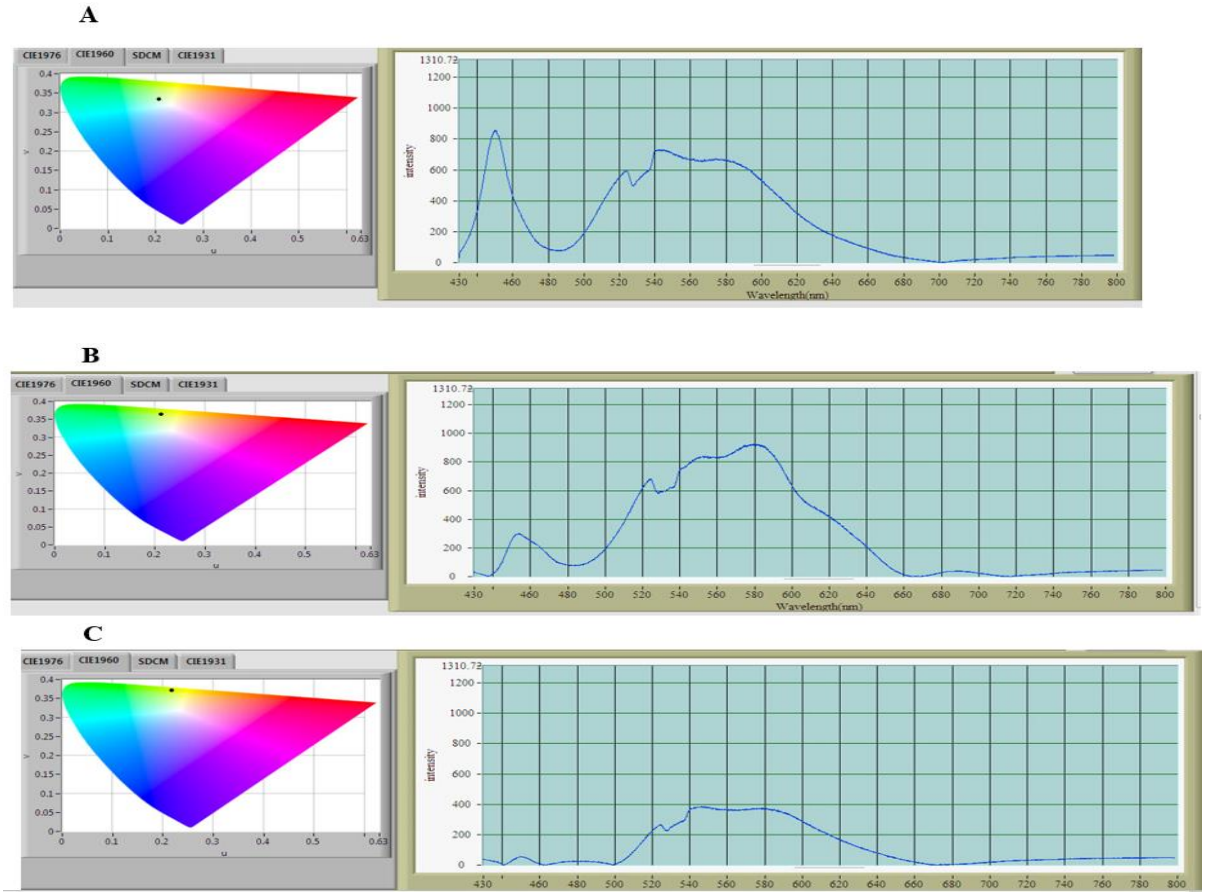
شکل ۵: محتوای کارتنوئید گیاهچه‌های کلزا حاصل از پیش‌تیمار بذرهای تحت پیری تسریع شده. مقادیر ذکر شده میانگین ۳ بار تکرار± خطای استاندارد می‌باشد. حروف مشابه در بالای ستون‌ها معرف عدم تفاوت معناداری بین میانگین‌ها می‌باشد.

بررسی رنگ سنجی عصاره‌ی گیاهچه‌های بذر کلزای تحت پیری تسریع شده

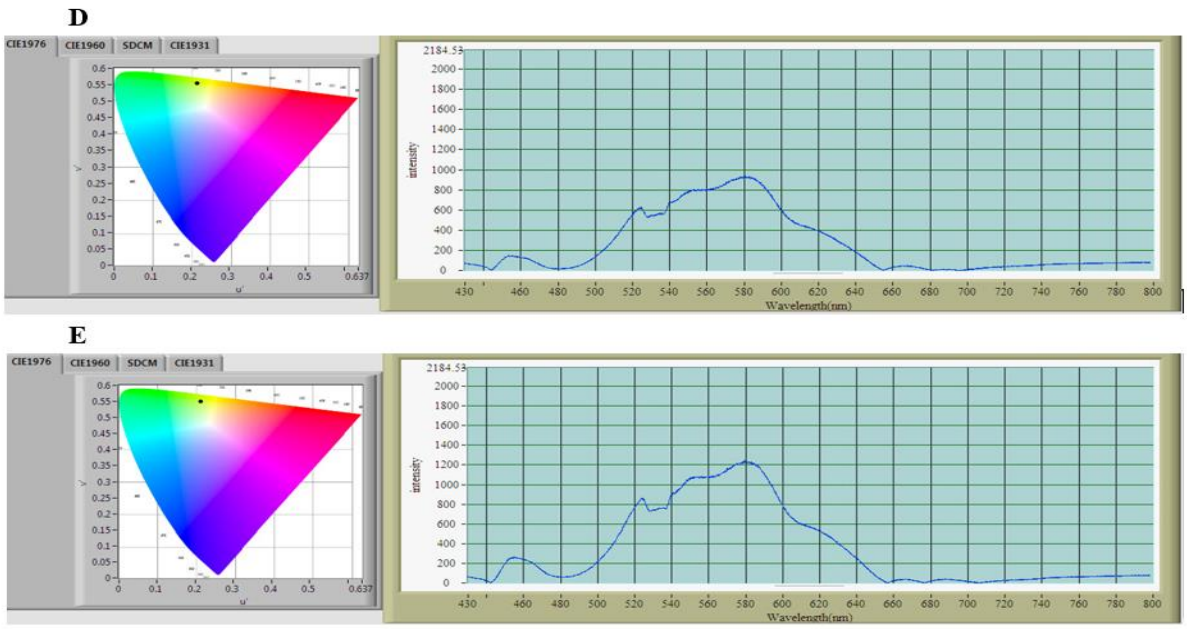
بررسی میزان پارامترهای رنگ سنجی در گیاهچه‌های کلزای حاصل از پیش‌تیمار بذرهای تحت پیری تسریع شده نشان داد که بین نمونه‌ی کنترل و نمونه‌های پیش‌تیمار با ویتامین ث و هیدروکینون تفاوت معناداری وجود دارد.نتایج مقایسه میانگین پارامترهای رنگ عصاره‌ی گیاهچه‌های بذر کلزا نشان داد، پارامتر L* در نمونه تحت پیری تسریع شده و نمونه کنترل اختلاف معناداری نداشت. پارامتر a* و پارامتر b* در گیاهچه تحت پیری تسریع شده نسبت به کنترل کاهش معناداری نشان داد. پارامتر a* و پارامتر b* درگیاهچه‌ی بذر کلزای تحت پیری تسریع شده با پیش تیمار هیدروکینون نسبت به گیاهچه‌ی کلزای کنترل افزایش معناداری را نشان دادند. پارامتر a* در گیاهچه‌های بذر کلزای تحت پیری تسریع شده با پیش تیمار ویتامین ث نسبت به گیاهچه‌ی بذر کلزای کنترل افزایش چهار برابری داشت، درصورتی که پارامتر b* در گیاهچه‌های بذر کلزای تحت پیری تسریع شده با پیش تیمار ویتامین ث نسبت به گیاهچه‌ی بذر کلزای کنترل کاهش شش برابری را نشان داد (p<۰/۰۵) (جدول ۱) (شکل ۶)

جدول ۱- تغییرات رنگ در گیاهچه‌های کلزای حاصل از پیش تیمار بذرهای تحت پیری تسریع شده. مقادیر ذکرشده میانگین ۳ بار تکرار± خطای استاندارد می‌باشد. حروف مشابه در بالای ستون‌ها معرف عدم تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها می‌باشد.

نمونه	L*	a*	b*	ΔE*
گیاهچه کنترل	۱۰۰ (a)	-۸/۴۶۵۰۵ ± ۰/۲۱۱۳۴ (a)	۱۵۶/۷۳۴ ± ۵/۵۸۱۸ (a)	۱۸±۲/۱۳۴۴ (a)
پیری تسریع شده	۱۰۰ (a)	-۸/۸۱۰۸ ± ۰/۰۹۲۵ (b)	۱۵۱ /۱۳۷۸± ۲۱/۵۵۱ (b)	۱۹±۱/۶۵۷۷ (b)
کنترل پیش تیمار با هیدروکینون	۱۰۰ (a)	-۸/۷۷۳۶ ± ۰/۴۶۲۸ (a)	۲۰۶ /۷۱۵۲± ۱۵/۲۳۵۸ (a)	۱۴±۳/۸۷۴۴ (a)
پیری تسریع شده با پیش تیمار هیدروکینون	۱۰۰ (a)	-۸/۲۸۷۹۷ ± ۰/۵۹۳۹ (b)	۲۱۱ /۴۷۶۶± ۴/۴۷۷۲ (b)	۱۹±۱/۵۴۷۷ (b)
کنترل پیش تیمار با ویتامین ث	۱۰۰ (a)	-۸/۸۴۸۴ ± ۰/۳۸۳۶ (a)	۱۴۲ /۴۵۹۷± ۱۲/۰۷۲ (a)	۱۸±۱/۷۶۴۴ (a)
پیری تسریع شده با پیش تیمار ویتامین ث	۱۰۰ (a)	-۲/۸۵۰۵ ± ۰/۱۰۳۲ (b)	۲۵ /۷۵۰۵± ۱/۲۶۷۲ (b)	۱۱±۰/۹۳۴۴ (b)



شکل ۶- مثلث رنگ‌و طیف منبع نوری آن، (A) منبع نور در استاندارد CIE1976 (B) عصاره‌ی گیاهچه کنترل و طیف آن. (C)



عصاره‌ی گیاهچه تحت پیری تسریع شده و طیف آن (D) عصاره‌ی گیاهچه کنترل پیش تیمار با هیدروکینون، (E) عصاره‌ی گیاهچه پیری تسریع شده با پیش تیمار هیدروکینون و طیف آن، (F) عصاره‌ی گیاهچه کنترل پیش تیمار با ویتامین ث و طیف آن و (G) عصاره‌ی گیاهچه پیری تسریع شده با پیش تیمار ویتامین ث و طیف آن.

بحث

Bertoncelj et al در سال 2007 عنوان کردند که تغییرات رنگ در ترکیبات طبیعی به محتوای ترکیبات فیتوشیمیایی آن ترکیبات مرتبط است، همبستگی مثبتی بین محتوای فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی با پارامترهای رنگ می‌باشد. همچنین بررسی‌ها نشان داد که ظرفیت آنتی اکسیدانی DPPH با پارامتر *L بعنوان ویژگی درخشندگی ترکیبات طبیعی، همبستگی منفی داشت. به نظر می‌رسد ترکیبات طبیعی تیره‌تر محتوای فنولی و ظرفیت آنتی اکسیدانی بیشتری دارند. تجزیه و تحلیل پارامترهای رنگ در ترکیبات طبیعی از طیف سبز تا کهربایی بسیار تیره مایل به قرمز را نشان دادند (Bertoncelj *et al*, 2007). گزارش شده که همبستگی قوی بین محتوای فنولی، فعالیت آنتی اکسیدانی (DPPH) و مختصات رنگی *L*a*b وجود دارد. ترکیبات طبیعی پارامتر *b با مقادیر بیشتر از صفر، همبستگی مثبتی با محتوای فنولی و ظرفیت آنتی اکسیدانی (DPPH) نشان می‌دهد. شرایط نگهداری و کشت بر مقدار پارامترهای رنگ موثر است. مقدار پارامتر *a نیز برای ترکیبات طبیعی کمی زیر صفر بود. در ترکیبات طبیعی تیره‌تر محتوای فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتریی وجود دارد که دارای مقادیر بیشتری از پارامترهای ترکیب رنگ زرد و قرمز قوی هستند. مختصات رنگی *L*a*b ممکن است به عنوان شاخصی برای شناسایی ترکیبات طبیعی به کاررود، افزایش سن و گرما ممکن است بر رنگ ترکیبات طبیعی نیز تأثیر بگذارد (Kus *et al*, 2014). در گزارش دیگری عنوان شده که کاهش شاخص وزنی قدرت گیاهچه سیاهدانه ناشی از کاهش اجزا آن یعنی درصد جوانه زنی، وزن خشک گیاهچه، کاهش میزان پویایی ذخایر بذر و یا کاهش کارآیی تبدیل ذخایر بود که هر دو پارامتر، در گیاهچه‌های سیاهدانه تحت پیری تسریع شده کاهش یافت (Soltani *et al*, 2006). طی بررسی های انجام شده روی بذر کلزا مشاهده شد که با افزایش زمان پیری تسریع شده شاخص وزنی قدرت بذر کنجد کاهش یافت؛ اما شدت کاهش در بذر کلزای تحت پیش تیمار نسبت به کنترل کمتر بود (Kazem *et al*, 2010). در گزارش دیگری عنوان شده که بنیه بذر کنجد با پارامترهای مزرعه مانند سرعت ظهور گیاهچه، درصد استقرارگیاهچه و عملکرد، همبستگی مثبت و معناداری دارد. بنابراین کاهش در شاخص های طولی و وزنی گیاهچه بر اثر اعمال زوال سبب کاهش عملکرد خواهد شد. پیش تیمار بذرها با ترکیباتی نظیر اسیدآسکوربیک، قبل از پیری تسریع شده، بنیه بذر و مدت نگهداری بذرهای برنج، ذرت، کلزا، آفتابگردان، لوبیا فرانسوی، نخود و عدس را نیز بهبود بخشید (Cookson *et al*, 2001). در مطالعه‌ی شاخص طولی قدرت گیاهچه بذر کلزای پی برده شد که گیاهچه‌های بذر کلزا کنترل بیشترین شاخص طولی قدرت گیاهچه را داشتند و با افزایش زمان پیری تسریع شده شاخص طولی قدرت گیاهچه‌های بذر کلزا پیر شده کاهش یافت (Neto *et al*, 2001). گزارش شد که پیش تیمار از طریق تسریع و بهبود جوانه زنی از یک طرف و افزایش طویل شدن و تقسیم سلولی از طرف دیگر موجب افزایش شاخص طولی قدرت گیاهچه-های کلزا می‌شود (DaSilva *et al*, 2005). در مطالعه دیگری گزارش شد که پیری تسریع شده بذر کلزا به دلیل تخریب DNAمنجر به اختلال در رونویسی و در نتیجه سنتز ناقص آنزیم‌های ضروری در مراحل اولیه جوانه زنی در گیاه کلزا شد که

در نهایت سبب کاهش شاخص طولی قدرت گیاهچه‌های بذر کلزای پیر شده گردید (Mahawar *et al*, 2016). در بررسی تاثیر قدرت جوانه زنی بذر کلزا مشخص شد که با افزایش زمان پیری تسریع شده بذر کلزا، شاخص وزنی قدرت گیاهچه‌های بذر کلزای پیر شده نسبت به گیاهچه‌های بذر کلزای کنترل کاهش معناداری نشان داد (Priestly *et al*,1986). در مطلعه ای دیگر گزارش شد که تنش‌های محیطی به شدت بر رشد و نمو محصول در هر مرحله از چرخه رشد تأثیر می‌گذارد. پیش تیمار بذر عملکرد، جوانه زنی و ظهور بذر را در کلزا افزایش می‌دهد. پیش تیمار بذر تکنیکی مفید برای افزایش جوانه زنی و رشد بذر در محیط تنش است. پیش تیمار بذر یک روش کنترلی است که پس از خشک کردن مجدد به بذر اجازه می‌دهد تا آب را جذب و فرآیند بیولوژیکی جوانه زنی را تحریک کند (Lemrasky *et al*, 2012). در بررسی دیگر عنوان شد که پیری تسریع شده در بذر کلزا منجر به کاهش معنادار صفات جوانه زنی در مقایسه با کنترل می‌گردد. از طرف دیگر پیش تیمار بذرهای پیر شده با ویتامین‌های اسیدآسکوربیک (ویتامین ث) در بیشتر غلظت‌ها سبب بهبود صفات جوانه زنی می‌شود (Powell *et al*,1998). هم چنین در گزارشی دیگر بیان شد که پیش‌تیمار بذر کلزا درصد جوانه زنی را از طریق کاهش صدمه به پروتئین‌ها، RNA و DNAافزایش می‌دهد (Farooq *et al*, 2008). مطالعات نشان می‌دهد که کارتنوئیدها نقش حفاظتی درمقابل تنش اکسیداتیو القا شده داشته ودر سمیت زدایی از کلروفیل نقش دارند و باعث کاهش اثرات سمی رادیکال‌های آزاد می‌شوند. به نظر می‌رسد پیش تیمار بذرها با ترکیبات آنتی اکسیدانی، با افزایش رنگیزه‌هایی نظیر کارتنوئید و مولکول‌های آب دوست وهمچنین به کمک آنزیم‌های سرکوب کننده رادیکال‌های آزاد، صدمات ناشی از زوال را کاهش می‌دهند (Jordi *et al*, 1995). همچنین بیان شد که کاروتنوئیدها از طریق دو مسیر اثر مستقیم کاروتن بر کلروفیل و از طریق چرخه تبدیل گزانتوفیل و نابود کردن کلروفیل‌های برانگیخته از کلروپلاست‌ها در مقابل تنش‌های محیطی حفاظت می‌کنند و با افزایش مقدار کاروتنوئیدها، خطرات تنش اکسیداتیو را کاهش می‌دهد (Rastgoo *et al*, 2011).

نتیجه‌گیری

مطالعه ویژگی های نموئی بذر پیر کلزا نشان داد فرایند پیری بذر موجب کاهش بنیه بذر و ضعف صفات مورفومتری گیاهچه های حاصل از بذرهای پیر می شود. به نظر می¬رسد این ویژگی¬های کاهش یافته در گیاهچه¬ها با تغییرات فیتوشیمیایی بذرها در ارتباط هستند. بررسی رنگیزه‌های بذر پیر کلزا نشان داد که متابولیسم و محتوای رنگیزه ها نقش مهمی در فرایند پیری بذر کلزا ندارد. به دنبال پیش تیمار بذر بر شاخص¬های جوانه زنی تأثیر مثبت داشت. پیش تیمار موجب تحریک فعالیت¬های متابولیکی جوانه زنی شده، این امر باعث بهبود و یکنواختی رشد گیاهچه¬ها شد. تغییرات رنگ در ترکیبات طبیعی به محتوای فنولی و ظرفیت آنتی اکسیدانی آن ترکیبات مرتبط است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به لحاظ تامین هزینه های این پژوهش صمیمانه تشکر و

قدردانی می نمایند.

منابع

Bertoncelj, J., Dobersek, U., Jamnik, M., Golob, T. (2007). Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of *Slovenian honey*. Food. Chem 105(2): 822-828.

Cartea, M.E., Francisco, M., Soengas, P., Velasco, P., Phenolic compounds in Brassica vegetables. Molecul. (2010), 16(1): 251-280

Chew, S.C. (2020). Cold-pressed rapeseed (*Brassica napus*) oil chemistry and functionality. Food Res. Int 131: 108997.

Cookson, W., Rowarth, J., Sedcole, J. (2001). Seed vigour in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.): effect and cause. Seed. Sci. Technol 29(1): 255-270.

Da Silva, E.A., Toorop, P.E., Nijsse, J., Bewley, J.D., Hilhorst, H.W.(2005) . Exogenous gibberellins inhibit coffee (*Coffea arabica* Cv. Rubi) seed germination and cause cell death in the embryo. Exp. Bot 56(413): 1029-1038.

Farooq, M., Aziz, T., Basra, S., Cheema, M., Rehman, H. (2008). Chilling tolerance in hybrid maize induced by seed priming with salicylic acid. J. Agron. Crop. Sci 194(2): 161-168.

Hoffman, R., Gerber, M. (2014). Can rapeseed oil replace olive oil as part of a Mediterranean-style diet. Br. J. Nutr 112(11): 1882-1895.

Jordi, W., Stoopen, G., Kelepouris, K., VanDer Krieken, W. (1995). Gibberellin-induced delay of leaf senescence of Alstroemeria cut flowering stems is not caused by an increase in the endogenous cytokinin content. J. Plant. Growth. Regula 14(3): 121-127.

Kazem, G-G., Sakineh, J., Saeed, Z-S., Abulghasem, M.(2010). Response of winter rapeseed (*Brassica napus* L.) cultivars to salt priming of seeds. Afr.J. Agric. Res 5(10): 1089-1094.

Khajeh-Hosseini, M., Lomholt, A., Matthews, S. (2009), Mean germination time in the laboratory estimates the relative vigour and field performance of commercial seed lots of maize (*Zea mays* L.). Seed. Sci. Technol 37(2): 446-456.

Kumar, S.S., Manoj, P., Shetty, N.P., Giridhar, P. (2015) Effect of different drying methods on chlorophyll, ascorbic acid and antioxidant compounds retention of leaves of (Hibiscus sabdariffa L). J. Sci. Food. Agric l95(9): 1812-1820.

Kus, P.M., Congiu, F., Teper, D., Sroka, Z., Jerkovic, I., Tuberoso, C.I.G.(2014). Antioxidant activity, color characteristics, total phenol content and general HPLC fingerprints of six Polish unifloral honey types**.** LWT. Food. Sci. Technol 55(1): 124-130.

Lemrasky, M.G., Hosseini, S.Z. (2012.) Effect of seed priming on the germination behavior of wheat. Int. J. Agric. Crop. Sci 4(9): 564-567.

Mahawar, M.K., Samuel, D., Sinha, J., Jalgaonkar, K. Optimization of pea (*Pisum sativum* L.) seeds

hydropriming by application of response surface methodology. Acta. Physiol. Plant. (2016), 38(9): 1-13.

Misra, B.B. . (2016). Cataloging the *Brassica napus* seed metabolome. Cogent. Food. Agric 2(1): 1254420.

Neto, N.M., Custodio, C.C., Takaki, M.(2001). Evaluation of naturally and artificially aged seeds of *Phaseolus vulgaris* L. Seed. Sci. Technol 29(1): 137-150.

Pallavi, M., Kumar, S., Dangi, K., Reddy, A.(2003). Effect of seed ageing on physiological, biochemical and yield attributes in sunflower (*Helianthus annuus* L). Morden. Seed Res-New Delhi 31(2): 161-168.

Powell, A. (1998). Seed improvement by selection and invigoration. Sci. Agric 55: 126-133.

Priestly, D.(1986). Seed Aging: Implications for seed storage and persistence in soil. Cornell. Uni. Press, Ithaca, NY, USA 39–75.

Rastgoo, L., Alemzadeh, A. (2011). Biochemical responses of Gouan (*Aeluropus littoralis*) to heavy metals stress. Aust. J. crop. Sci 5(4): 375-383.

Shahverdikandi, M.A, Tobeh, A., Godehkahriz, S.J., Rastegar, Z. (2011). The study of germination index of canola cultivars for drought resistance. Int. J. Agron. Plant. Prod. 2(3): 89-95.

Sharaf Eldin, S.G., Ziena, H., Khair, S., Rozan, M.A. (2018). Canola seed meal as a potential source of natural antioxidant. Agric. Sci. Exch 39: 615-619.

Soltani, A., Gholipoor, M., Zeinali, E.(2006). Seed reserve utilization and seedling growth of wheat as affected by drought and salinity. Environ. Exp. Bot 55(1-2): 195-200.

Szydlowska-Czerniak, A., Bartkowiak-Broda, I., Karlovic, I., Karlovits, G., Szlyk, E. (2011). Antioxidant capacity, total phenolics, glucosinolates and colour parameters of rapeseed cultivars. Food. Chem 127(2): 556-563.

Zhao, Y., Ou, C., Yu, J., Zhang, Y., Song, H., Zhai, Y. (2021) Facile synthesis of water-stable multicolor carbonized polymer dots from a single unconjugated glucose for engineering white light-emitting diodes with a high color rendering index. ACS. Appl. Mater, 1