

### نقش رنگدانه سیانیدین-۳- گلوکوزاید بر رنگ نهائی گل در چهار جنس زینتی با رنگ مایه صورتی

فاطمه آزرمی (۱)، عبدالله حاتم زاده (۲)، راضیه اکبری (۳)

۱- دانش آموخته گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز ۲- دانشیار گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان ۳- دانشجوی دکتری گیاهان زینتی دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان

رنگدانه سیانیدین-۳-گلوکوزاید یکی از رایج ترین آنتوسیانین هاست که مسئول تولید رنگهای قرمز و مایل به قرمز در گلها می باشد. در این تحقیق مقدار این رنگدانه و تاثیر آن بر میزان آنتوسیانین کل و ویژگیهای کمی و کیفی رنگ در چهار جنس زینتی مورد بررسی قرار گرفت. براساس جدول استاندارد رنگ رویال، گلهای آلسترومریا با رنگ ظاهری گلبهی، رز به رنگ قرمز روشن، کالانکوئه به رنگ صورتی مایل به قرمز و گلابول به رنگ سرخابی همگی در گروه رنگ صورتی قرار گرفتند که به ترتیب با شماره های رنگ D ۵۸، D ۴۴، D ۵۲ و B ۶۸ کدگذاری شدند. تفاوت معنی داری در میزان آنتوسیانین کل بین هر چهار جنس مشاهده شد. بالاترین میزان آنتوسیانین کل مربوط به رز و کمترین آن مربوط به آلسترومریا بود. میزان سیانیدین-۳-گلوکوزاید در گلابول، آلسترومریا، رز و کالانکوئه به ترتیب ۶۹/۴، ۳۴/۳، ۷۹/۶ و ۷۳/۱ درصد بود. بین رز و کالانکوئه تفاوت معنی داری در میزان سیانیدین-۳-گلوکوزاید مشاهده نشد. همبستگی مثبت و معنی داری بین درجه اشباع رنگ و میزان سیانیدین-۳-گلوکوزاید ( $R^2 = 0/97$ ) مشاهده شد، در حالیکه همبستگی بین میزان رنگ مایه و نوع آنتوسیانین معنی دار نبود. نتایج این تحقیق نشان می دهد که ترکیب انواع آنتوسیانین ها نقش تعیین کننده ای بر رنگ گلها دارد.

کلمات کلیدی: آنتوسیانین، سیانیدین-۳- گلوکوزاید، رنگ مایه، درجه اشباع رنگ، رنگ گل

#### مقدمه

رنگ گل، یکی از ویژگی های بسیار مهم در اصلاح گیاهان زینتی است و در افزایش ارزش اقتصادی گل ها نقش به سزایی دارد، همچنین موفقیت در مهندسی ژنتیک که ابزار قدرتمندی در ایجاد رنگ های جدید در محصولات باغبانی، گل ها و گیاهان زینتی می باشد، مشروط به جمع آوری اطلاعات پایه در زمینه تنوع و میزان رنگدانه های موجود در ارقام و گونه های مختلف است. امروزه از طریق مهندسی متابولیت ارقام جدیدی از گل ها مثل رزهای آبی و میخک های بنفش، که دارای رنگ های خاص هستند، حاصل شده است (کاتسوموتو و همکاران، ۲۰۰۷). آنتوسیانین ها بزرگ ترین زیرگروه از فلاونوئیدها می باشند که مسئول تولید طیف وسیعی از رنگ ها از نارنجی- قرمز تا بنفش- آبی در گل ها بوده و نقش بسیار مهمی در زیبایی جهان طبیعت و دنیای گیاهی دارند (گولد، ۲۰۰۹). رنگدانه سیانیدین-۳-گلوکوزاید نیز یکی از رایج ترین آنتوسیانین ها می باشد که بیشتر مسئول تولید رنگهای قرمز و مایل به قرمز در گلهاست. در این تحقیق غلظت رنگدانه سیانیدین-۳-گلوکوزاید و تاثیر آن بر میزان آنتوسیانین کل و ویژگی های کمی و کیفی رنگ در چهار جنس زینتی مورد بررسی قرار گرفته است.

#### مواد و روش ها

ارزیابی ویژگی های کمی و کیفی رنگ بر اساس جداول استاندارد رنگ رویال و مانسل از گل های چهار جنس زینتی با رنگ مایه صورتی، شامل آلسترومریا، گلابول، رز و کالانکوئه در مرحله شکوفائی نمونه برداری شد، ویژگی های ظاهری رنگ شامل نام، کد و گروه رنگی مطابق با جدول استاندارد رنگ رویال ارزیابی شد، درجه اشباع رنگ، ارزش رنگ و میزان رنگ مایه مطابق با جدول استاندارد رنگ مانسل مورد بررسی قرار گرفت.

#### استخراج آنتوسیانین

مقداری از بافت گلبرگ در ۳ CC متانول اسیدی شده حل شد، برای حذف کلروفیل و رنگدانه های دیگر از حلال استون: آب (۷/۷:۱) استفاده شد. به ۲ CC از عصاره آنتوسیانینی ۱/۵ آب و ۲/۵ CC کلروفرم اضافه شد و بعد از سانتریفوژ در ۱۶۰۰ دور در مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۰C، محلول روشنوار محتوی آنتوسیانین جمع آوری شد.

#### شناسایی و اندازه گیری رنگدانه سیانیدین-۳- گلوکوزاید با استفاده از روش HPLC

نمونه های حاصل از مرحله استخراج، توسط کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا جداسازی شد. به این منظور یک ستون شیشه ای به طول ۵۰ سانتی متر و قطر ۱۲ میلی متر محتوی سیلیکاژل کروماتوگرافی به عنوان فاز ثابت در نظر گرفته شد. این فاز در سیستم حلال شامل تری کلرومتان: متانول: آب (۱۵:۱۰:۲) به تعادل رسید. تغییرات جذب توسط آشکارساز UV ارزیابی شد. محلول خروجی از آشکارساز در فاصله ای که جذب قابل توجه بود (۵۳۰ نانومتر) برای مرحله کروماتوگرافی جمع آوری شد. برای تعیین غلظت آنتوسیانین در نمونه ها از نمونه استاندارد سیانیدین-۳- گلوکوزاید استفاده شد.

#### تعیین میزان آنتوسیانین کل

مقدار یک گرم وزن گلبرگ با محلول استخراج (متانول و HCL ۱/۵ نرمال به نسبت حجمی ۸۵ به ۱۵) عصاره گیری شد و به مدت یک شبانه روز در دمای ۴- درجه سانتی گراد قرارگرفت. عصاره حاصل به مدت ده دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد، سپس عدد جذب عصاره به کمک دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۳۰ نانومتر قرائت شد.

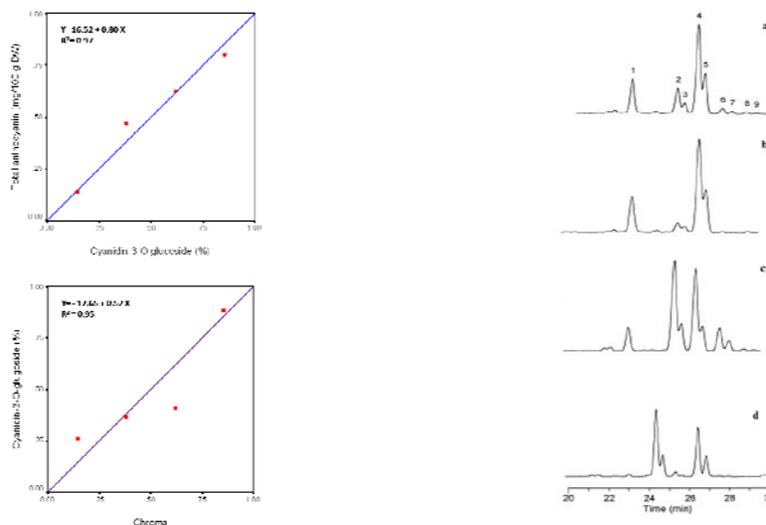
#### آنالیز آماری

کلیه آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار انجام شدند. آنالیز واریانس داده ها توسط نرم افزار SPSS و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن انجام شد.

#### نتایج و بحث

بر اساس جدول استاندارد رنگ رویال، گل های آلسترومریا با رنگ ظاهری گلبهی، رز به رنگ قرمز روشن، کالانکوه به رنگ صورتی مایل به قرمز و گلابول به رنگ سرخابی، همگی در گروه رنگ صورتی قرار گرفتند که به ترتیب با شماره های رنگ 52D، 44D، 58D و 68B کدگذاری شدند. از آنجا که جدول استاندارد رنگ مانسل معیار دقیق تری در ارزیابی ویژگی های رنگ گلبرگ ها معرفی شده است (گریباج و آستین، ۲۰۰۵)، ویژگی های کمی رنگ با این جدول استاندارد مورد ارزیابی قرار گرفت. بر این اساس، ارزش رنگ در هر چهار جنس زینتی ۱۰۰ و میزان رنگ مایه بین ۳۱۲ تا ۳۴۸ متفاوت بود. برابر بودن ارزش رنگ نشان می دهد که در هر چهار جنس میزان شفافیت رنگ یکسان می باشد. بالاترین درجه اشباع رنگ (۸۰) مربوط به گل رز و کمترین آن مربوط به آلسترومریا (۵۳) با رنگ صورتی و لکه های زرد بود. تفاوت معنی داری در میزان آنتوسیانین کل بین هر چهار جنس مشاهده شد. بالاترین میزان آنتوسیانین کل مربوط به رز (۲۴/۶) و کمترین آن مربوط به آلسترومریا (۱۲/۹) میلی گرم در هر ۱۰۰ گرم وزن خشک گلبرگ) بود. میزان سیانیدین-۳- گلوکوزاید در گلابول، آلسترومریا، رز و کالانکوه به ترتیب ۶۹/۴، ۳۴/۳، ۷۹/۶ و ۷۳/۱ درصد بود (شکل ۱). در گل های نارنجی تا قرمز گل های آلسترومریا حضور آنتوسیانین هائی از نوع سیانیدین و دلفینیدین شناسایی شده است (ساتیو و همکاران، ۱۹۸۵؛ ۱۹۸۸؛ تاتسوزاوا و همکاران، ۲۰۰۴) که در این مطالعه نیز حضور سیانیدین تایید می شود. بین رز و کالانکوه تفاوت معنی داری در درصد رنگدانه سیانیدین-۳- گلوکوزاید مشاهده نشد. این امر با توجه به اینکه میزان آنتوسیانین کل در رقم رز بیشتر از کالانکوه بود، نشان می دهد که در کالانکوه انواع دیگری از رنگدانه های آنتوسیانین - به احتمال زیاد انواعی از گروه پلارگونیدین ها - در تولید رنگ نقش موثرتری دارند و ترکیب رنگدانه های مختلف بر رنگ نهائی گلبرگ ها اثر می گذارد. علاوه بر این، نیلسن و همکارانش (۲۰۰۵) نیز گزارش نمودند که در کالانکوه انواع رنگ های صورتی، قرمز و سرخابی دارای مقادیر نسبتاً بالایی از فلاونول های کوئرستین (رنگدانه های دیگر) می باشد. همبستگی مثبت و معنی داری بین درجه اشباع رنگ (Chroma) و

غلظت سیانیدین-۳- گلوکوزاید ( $R^2 = 0.97$ ) مشاهده شد (مطابق جیا و همکاران، ۲۰۰۸) اما بین میزان رنگ مایه (Hue) و نوع آنتوسیانین همبستگی معنی داری مشاهده نشد (مطابق نتایج کووایاما و همکارانش، ۲۰۰۵). در برنامه های اصلاحی به منظور تولید رنگ های روشن فاقد آنتوسیانین در گل هایی مثل شمعدانی، لوپن، سیکلامن، بنفشه آفریقائی، نیلوفر و ... که قادر به تولید رنگ زرد نیستند و یا برعکس تولید رنگ های آبی- بنفش در گل هایی مثل رز، میخک، داوودی، ژربرا، کوبک، مینا و... که رنگ آبی تولید نمی کنند، درک ارتباط بین ترکیب، توزیع، میزان رنگدانه ها و تولید رنگ و نیز برهمکنش عوامل موثر بر بیوسنتز رنگدانه ها، در ارقام و گونه های مختلف ضرورت دارد.



شکل ۱- پروفایل HPLC آنتوسیانین های موجود در عصاره گلبرگ ها. پیک شماره ۴ مربوط به سیانیدین ۳- گلوکوزاید است. a: کالانکونه، b: رز، c: گلابول و d: آلسترومریا)

شکل ۲- نمودار رگرسیون سیانیدین-۳- گلوکوزاید با آنتوسیانین کل (بالا) و کروما یا درجه اشباع رنگ (پایین). هر نقطه نماینده میانگین ۴ تکرار برای هر جنس زینتی است.

## منابع

- Gribach, R. and S. Austin. 2005. Comparison of the Munsell and Royal Horticultural Society's color charts in describing flower color. *Taxon*. 54:3. 771-773.
- Kuwayama, S., Sh. Mori., M. Nakata., T. Godo. and M. Nakano. 2005. Analyses of anthocyanidins and anthocyanins in flower petals of *lychnis*, *senno* and its related species (Caryophyllaceae). *Bull. Facul. Agri. Niigata Univ.*, 58(1):35-38.
- Tatsuzawa, F., Saito, N., Murata, N., Shinoda, K., Shigihara, A., and Honda, T. 2003. 6-Hydroxypelargonidin glycosides in the orange-red flowers of *Alstroemeria*. *Phytochemistry*. 62, 1239-1242.
- Tatsuzawa, F., N. Saito., H. Seki., M. Yokoi., T. Yukawa., K. Shinoda. and T. Honda. 2004. Acylated anthocyanins in the flowers of *Vanda* (Orchidaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*. 32. 651-664.