

اثر مقدار یون‌های فلزی در بافت گلبرگ بر ظهور رنگ نهائی گل‌های ژربرا

عبداله حاتم زاده^{۱*} - راضیه اکبری^۲ - ریحانه سریری^۳ - داود بخشی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۲/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۶/۰۵

چکیده

برهمکنش بین رنگدانه‌های گل و یون‌های فلزی می‌تواند رنگ نهایی گلبرگ‌ها را تغییر دهد. یون‌های فلزی به واسطه تأثیری که بر اسیدیت گلبرگ‌ها و فعالیت آنزیم‌های مختلفی که در بیوسنتز، تخریب، تجمع و انتقال انواع رنگدانه‌ها دارند، می‌توانند نقش اساسی در تثبیت رنگ گلبرگ‌ها داشته باشند. در این تحقیق مقدار یون‌های فلزی و ارتباط آن با مولفه‌های رنگ گل در شش رقم ژربرا با رنگ‌های مختلف در مرحله شکوفائی مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. در بررسی مقدار یون‌ها در ارقام مختلف، تفاوت معنی‌داری از نظر آماری در مقدار مس مشاهده نشد. نتایج نشان داد که هرچه میزان آهن در گلبرگ‌ها افزایش می‌یابد، میزان تمایل به قرمزی و مقدار رنگ‌مایه گل‌ها بیشتر و شدت روشنائی گل‌ها کاهش می‌یابد، همچنین با کاهش میزان روی در بافت گلبرگ، تمایل به تیرگی رنگ افزایش می‌یابد. منیزیم نیز برعکس کلسیم، همبستگی مثبت و معنی‌داری با درجه رنگ‌مایه و تمایل به قرمزی و همچنین همبستگی منفی و معنی‌داری با شدت روشنائی یا شفافیت گلبرگ‌ها نشان داد. در مجموع در این مطالعه، از بین یون‌های ارزیابی شده در ژربرا یون‌های آهن، کلسیم و منیزیم ارتباط موثرتری با مولفه‌های رنگ نشان دادند. هم‌چنین مقدار یون‌های فلزی آهن، مس، روی، منگنز، کلسیم و منیزیم در بافت گلبرگ ارقام مختلف ژربرا به ترتیب در محدوده ۰/۰۰۷۶-۰/۰۱۲، ۰/۰۰۳۵-۰/۰۰۴، ۰/۰۰۱۷-۰/۰۰۳، ۰/۰۰۲۱-۰/۰۰۲۱ میلی‌گرم در هر گرم وزن تر گلبرگ متغیر بود.

واژه‌های کلیدی: رنگ‌مایه، شفافیت گل، طیف جذبی رنگ، یون‌های فلزی، ژربرا (*Gerbera hybrida*)

مقدمه

فلاونوئیدهای چون کوئرستین می‌باشد. هم‌چنین در گونه *T. erecta* برای تثبیت رنگدانه‌های کوئرستین و لوتئین نیاز به یون قلع می‌باشد (۱۴). در چندین مطالعه تأثیر یون‌های فلزی بر دوام رنگدانه‌های آنتوسیانین و درجه رنگ‌مایه مورد بررسی قرار گرفته است، مازا و مینیاتا (۱۳) گزارش کردند که یون‌های قلع، مس و آلومینیوم قادر به ایجاد کمپلکس‌های پایدار با رنگدانه‌های نوع آنتوسیانین هستند. کمپلکس‌های سه گانه پایدار حاوی آنتوسیانین، یک ترکیب ناشناخته بی‌رنگ و منیزیم یا منیزیم با یون آهن یا آلومینیوم تشریح شده است (۱۱ و ۲۳). گل‌های هورتانسیا در صورتی که خاک دارای آلومینیوم باشد، آبی می‌شود، طوری که آلومینیوم و رنگدانه دلفینیدین یک کمپلکس بسیار پایدار و بسیار آبی تشکیل می‌دهند. چنان‌چه آلومینیوم در دسترس خاک، کم و میزان مولیدن بیشتر باشد، همین رنگدانه با یون‌های مولیدن برهمکنش نموده و باعث می‌شود که گل‌ها به رنگ صورتی روشن آشکار شوند. به طور کلی مشخص شده است که یون‌های منیزیم، آهن و آلومینیوم با آنتوسیانین‌ها در جهت تغییر طیف جذبی آنها به سمت رنگ آبی برهمکنش دارند (۲۹). بنابراین با توجه به نقشی که یون‌های فلزی در ساختار و فعالیت آنزیم‌های مختلف که

رنگ گل توسط دو عامل اصلی، رنگدانه‌های موجود در واکوئل و شرایط درون واکوئلی، مثل اسیدیت و واکوئل و یون‌های فلزی تعیین می‌شود. گزارشات متعددی وجود دارد که نشان می‌دهند رنگ گل به طور مستقیم یا غیر مستقیم تحت تأثیر اسیدیت و میزان یون‌های فلزی می‌باشد (۱۹). انواع یون‌های فلزی مثل آهن، آلومینیوم، کلسیم، منیزیم، مس، روی در ساختار رنگدانه‌ها دخالت نموده و رنگ گلبرگ‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۲). برای مثال گل جعفری (*Tagetes patula*) در حالت طبیعی دارای رنگ زرد است، اما با اتصال رنگدانه‌ها به یون آلومینیوم به رنگ زرد طلائی، با یون کروم به رنگ زرد نارنجی و با یون مس به رنگ زرد مایل به قهوه‌ای در می‌آید. ثابت شده است که چنین تغییراتی ناشی از تغییر ساختار

۱، ۲ و ۴ - به ترتیب دانشیار، دانشجوی دکتری گیاهان زینتی و استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان

* نویسنده مسئول: (Email: hatamzade@guilan.ac.ir)

۳ - استاد گروه بیوشیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان

مواد و روش‌ها

منابع گیاهی

از گل‌های شش رقم ژربرا شامل Eco به رنگ قرمز، Malibu به رنگ بنفش قرمز، Pink Elegance به رنگ صورتی، Advance به رنگ گلبهی، Double Dutch به رنگ زرد و Bastion به رنگ نارنجی که تحت شرایط کاملاً مشابه در یکی از گلخانه‌های تولید ژربرا در پاکدشت (طول ۵۰ درجه و ۴۱ دقیقه شمالی و عرض ۲۸ درجه و ۳۵ دقیقه جنوبی) کشت شده بودند، نمونه برداری شده و برای انجام آزمایشات مورد نظر در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. لازم به توضیح است که در تمام آزمایشات فقط از گلچه‌های شعاعی استفاده شد.

ارزیابی ویژگی‌های ظاهری رنگ

ویژگی‌های ظاهری رنگ شامل نام و کد رنگ در مناطق مشابهی از بافت گلبرگ (بخش مرکزی روی گلبرگ‌های شعاعی) با استفاده از دو جدول استاندارد رنگ رویال RHSCC, The Royal Horticultural Society Color Chart, UK) و مانسل مورد ارزیابی قرار گرفت (۸).

رنگ سنجی

ویژگی‌های کمی رنگ شامل مولفه‌های L^* (درجه شفافیت رنگ)، a^* (درجه تمایل به قرمزی)، b^* (درجه تمایل به زردی)، C^* (شدت رنگ‌مایه) و h (تونالیته) یا زاویه رنگ) در مناطق مشابهی از بافت گلبرگ (بخش مرکزی روی گلبرگ‌ها)، مطابق با سیستم CIELAB (Commission International de l'Eclairage) با استفاده از کالریومتر مدل CM-Minolta Japan- CR-400 مورد ارزیابی قرار گرفت (۹).

اندازه‌گیری طیف جذبی رنگدانه‌ها در عصاره گلبرگ

طیف جذبی عصاره متانول اسیدی (MeOH:HCL) آنتوسیانین‌ها یا رنگدانه‌های قرمز - بنفش و طیف جذبی عصاره متانول استونی (MeOH:Aceton) کارتنوئیدها یا رنگدانه‌های زرد- نارنجی توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر UV/Vis مدل PG Instrumen+T80 ثبت شد (۲۴).

اندازه‌گیری مقدار یون‌های فلزی

گلبرگ‌ها با آب دیوار تقطیر شسته و خشک شدند. یک گرم بافت گلبرگ که طی ۲۴ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد در اون

منجر به تولید رنگدانه‌های مختلف می‌شوند و یا تشکیل کمپلکس‌های یون- رنگدانه دارند، می‌توانند بر تثبیت رنگ نهایی گلبرگ اثر بگذارند (۲). برای مثال آنزیم‌های گلايکوزیل ترانسفراز گروه عمده‌ای از آنزیم‌ها هستند که مسیر گسترده فنیل پروپانوئیدی (مسیر سنتز رنگدانه‌ها) را کنترل می‌کنند (۱). در مطالعات بازدارندگی این آنزیم‌ها، اثر یون‌های فلزی و شلات کننده‌های فلزی در بسیاری از گزارشات تشریح شده است. برای مثال ثابت شده است که فعالیت یکی از آنزیم‌های گروه گلايکوزیل ترانسفراز توسط یک میلی‌مول از یون‌های دو ظرفیتی مس، منگنز و روی به طور کامل ممانعت می‌شود (۴ و ۲۰). همچنین باید توجه داشت که این اثرات بازدارندگی ممکن است ناشی از تخریب آنتوسیانین‌های پیش‌ماده توسط یون‌های فلزی باشد (۴). همچنین مطابق بسیاری از مطالعات انجام شده، دخالت یون‌های فلزی در بسیاری از فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی ثابت شده است و کمبود هر یک از این یون‌ها می‌تواند بر عملکرد هر یک از مسیرهای متابولیتی اثر بگذارد. نقش کوآنزیمی روی، آهن، مس و منگنز نیز در بسیاری از فرایندهای متابولیکی ثابت شده است (۱۸). نیسان- لوی و همکاران (۱۶) نقش منیزیم را در افزایش رنگ در گل‌های چند گیاه زینتی مورد بررسی قرار دادند. در مطالعات آن‌ها اضافه کردن منیزیم در *Anigozanthos* با گل‌های قرمز، *Limonium* با براکت‌های آبی، *Gypsophila* با گل‌های صورتی و *Aconitum* با گل‌های آبی باعث افزایش محتوای آنتوسیانین، حتی در دماهای بالا شد. طی مطالعه‌ای در گل‌های *Gentiana triflora*، تاثیر یون‌های فلزی بر فعالیت یکی از آنزیم‌های گروه آسپیل ترانسفراز نشان داد که فعالیت این آنزیم تحت تاثیر یون‌های منگنز و روی به شدت افزایش می‌یابد و یون‌های کلسیم و منیزیم تاثیر کمتری بر فعالیت این آنزیم دارند (۵). در مورد متیل ترانسفرازها، گروه دیگری از آنزیم‌های مسیر بیوسنتزی رنگدانه‌ها نیز ثابت شده است که این آنزیم‌ها برای فعال شدن نیاز به یون‌های دو ظرفیتی مثل Mg^{2+} دارند (۱۰).

بنابراین بررسی تغییرات میزان یون‌های فلزی در گل‌ها می‌تواند اطلاعات مهمی در زمینه فعالیت آنزیم‌های موثر بر سنتز یا تخریب رنگدانه‌ها و مطالعه مسیرهای بیوسنتزی آنها، مکانیسم تحمل در مبحث تغذیه و همچنین مکانیسم توسعه رنگ فراهم نماید (۲۵). امروزه دستکاری مسیرهای بیوسنتزی رنگدانه‌ها تحت تاثیر عوامل موثر بر رنگ همچون آنزیم‌های بیوسنتزی در برنامه‌های اصلاحی به منظور تولید رنگ‌های جدید و خاص در گل‌ها محور تحقیقات جدید است (۳۰). در این تحقیق میزان بعضی از این یون‌ها و ارتباط آن با بعضی از مولفه‌های رنگ در شش رقم ژربرا مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت.

بر اساس نتایج حاصله میزان پارامترهای رنگ براساس ارزش‌های CIELAB به این ترتیب توزیع شده بود که مقادیر L^* بین ۷۶/۲۰ در رقم Pink Elegance و ۳۲/۲۷ در رقم Eco، مقدار a^* بین ۶۱/۰۸ در رقم Malibu و ۱۸/۸۴ در رقم Pink Elegance، مقدار b^* بین ۷۴/۱۳ در رقم Double Dutch و ۱۷/۳۹ در رقم Pink Elegance، مقدار C^* بین ۸۷/۵۶ در رقم Malibu و ۲۵/۶۳ در رقم Pink Elegance و مقدار h بین ۵۷/۵۴ در رقم Advance و ۲۵/۳۰ در رقم Malibu متغیر بود (جدول ۳).

در بررسی مقدار یون‌های فلزی در ارقام مختلف، تفاوت معنی‌داری از نظر آماری در مقدار مس مشاهده نشد (جدول ۴). بیشترین میزان آهن در رقم Malibu و کمترین مقدار آهن در رقم Advance مشاهده شد (جدول ۵). تفاوت معنی‌داری در مقدار روی به استثناء رقم Advance که میزان روی کمتری نسبت به بقیه داشت، مشاهده نشد. مقدار منگنز نیز جز در رقم Double Dutch به رنگ زرد که از همه بیشتر بود، در بقیه قابل توجه نبود. مقدار کلسیم به طور مشابه در این رقم از همه بیشتر و در ارقام قرمز- بنفش (ارقام حاوی آنتوسیانین) از همه کمتر بود. بالاترین میزان منیزیم نیز در ارقام زرد و نارنجی یعنی Bastion و Double Dutch و کمترین مقدار در رقم Advance مشاهده شد.

خشک شده بود، در بوته چینی ریخته شده و به مدت ۶ ساعت در کوره‌ای با دمای ۴۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از اینکه خاکستر سفید رنگ حاصل خنک شد، مقدار ۵ میلی لیتر اسید کلریدریک ۲ نرمال به آن اضافه شده و سپس روی یک هات پلیت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت گرما داده شد. عصاره حاصل فیلتر شده و با آب دیونیزه به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد. یون‌های دو ظرفیتی آهن، مس، روی، منگنز، کلسیم و منیزیم در بافت گلبرگ به وسیله دستگاه جذب اتمی واریان مدل Spectra-AA 220FS اندازه گیری شد (۲۶). ویژگی‌های دستگاه جهت شناسایی و اندازه گیری یون‌های فلزی در جدول ۱ ارائه شده است.

آنالیز آماری

کلیه آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. آنالیز واریانس داده‌ها توسط نرم افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

ویژگی‌های ظاهری رنگ گل‌ها شامل نام و کد رنگ و هم‌چنین ثبت مقدار مولفه‌های L^* ، a^* ، b^* ، C^* و h مطابق با جداول استاندارد رنگ جهانی و سیستم CIELAB در جداول ۲ و ۳ ارائه شده است.

جدول ۱- شرایط دستگاه جذب اتمی برای اندازه گیری یون‌های فلزی در بافت گلبرگ

یون‌های فلزی	طول موج (نانومتر)	دامنه شناسایی (میلی‌گرم / لیتر)	عرض شکاف (نانومتر)	شدت جریان لامپ (میلی آمپر)	نسبت گازها	
					استیلن (در دقیقه)	هوا (در دقیقه)
Fe ²⁺	۲۴۸/۳	۰/۰۰۶	۰/۲	۳۰	۲/۰	۱۷/۰
Cu ²⁺	۳۲۴/۸	۰/۰۰۳	۰/۷	۱۵	۲/۰	۱۷/۰
Zn ²⁺	۲۱۲/۹	۰/۰۰۱	۰/۷	۱۵	۲/۰	۱۷/۰
Mn ²⁺	۲۷۹/۵	۰/۰۰۲	۰/۲	۲۰	۲/۰	۱۷/۰
Ca ²⁺	۲۳۹/۹	۰/۶	۰/۲	۱۰	۱/۰	۱۱/۰
Mg ²⁺	۲۰۲/۵	۰/۴	۰/۷	۴	۱/۰	۱۱/۰

جدول ۲- ویژگی‌های بصری رنگ گل مطابق جداول استاندارد رنگ جهانی در ارقام مختلف ژربرا

شماره	رقم	جدول استاندارد رنگ مانسل	جدول استاندارد رنگ رویال	
			کد رنگ	نام رنگ
۱	Advance	2.5 R 8/4	36A	Light Yellowish Pink
۲	Bastion	10 R 5/14	32B	Strong Reddish Orange
۳	Double Dutch	2.5 Y 8/12	8A	Vivid Yellow
۴	Eco	7.5 R 4/14	44C	Vivid Reddish Orange
۵	Malibu	7.5 RP 3/10	67B	Vivid Purplish Red
۶	Pink Elegance	10 RP 7/8	39D	Light Pink

جدول ۳- مولفه‌های کمی رنگ مطابق سیستم CIELAB در ارقام مختلف ژبررا

شماره	رقم	مولفه‌های CIELAB				
		L*	a*	b*	C*	h
۱	Advance	۶۲/۹۷	۲۴/۰۹	۳۷/۸۸	۴۴/۸۹	۵۷/۵۴
۲	Bastion	۴۲/۹۱	۴۸/۶۲	۶۶/۸۰	۸۲/۶۳	۵۳/۹۵
۳	Double Dutch	۶۴/۲۳	۲۳/۹۹	۴۷/۱۳	۷۷/۹۱	۵۲/۰۷
۴	Eco	۳۲/۲۷	۵۶/۴۰	۵۱/۶۷	۷۶/۴۹	۴۲/۴۹
۵	Malibu	۳۴/۳۶	۶۱/۰۸	۲۸/۷۸	۸۷/۵۶	۲۵/۳۰
۶	Pink Elegance	۷۶/۲۰	۱۸/۸۴	۱۷/۳۹	۲۵/۶۳	۴۲/۷۰

و همچنین آشکارترین اثر عمده فلزات بر روی آنتوسیانین‌های موجود در گلبرگ‌ها تغییر در میزان رنگ‌مایه گل‌ها عنوان شده است (۱۱) و (۲۳).

بین میزان روی و تونالیته رنگ یک همبستگی منفی مشاهده شد، بدین معنی که با کاهش میزان روی در بافت گلبرگ، تونالیته یا زاویه رنگ افزایش می‌یابد، طوری که Advance با بیشترین تونالیته رنگ دارای کمترین مقدار روی بود (جدول ۳ و ۵). همچنین که مطابق نتایج حاصل یک همبستگی مثبت و معنی‌دار بین مولفه‌های h^* و b^* و یک همبستگی منفی و معنی‌دار بین مولفه‌های h^* و a^* تایید می‌شود (جدول ۵)، بدین معنی که با افزایش b^* و کاهش a^* ، میزان تونالیته رنگ افزایش می‌یابد (شکل ۲).

همچنان که بین میزان آهن و پارامترهای a^* و C^* یک همبستگی مثبت و معنی‌دار و بین میزان آهن و پارامترهای L^* و h یک همبستگی منفی و معنی‌داری نیز مشاهده شد (جدول ۶). بدین معنی که هرچه میزان آهن در گلبرگ افزایش می‌یابد، میزان تمایل به قرمزی و مقدار رنگ‌مایه گل‌ها بیشتر و شدت روشنایی گل‌ها کاهش می‌یابد، طوری که بالاترین درجه رنگ‌مایه (C^*) و بالاترین شدت تمایل به قرمزی (a^*) در رقم Malibu با بالاترین میزان آهن (۱۲ میلی‌گرم در گرم بافت تر گلبرگ) و بالاترین مقدار جذب (نمودار ۱) مشاهده شد. همچنان که ثابت شده است پارامتر C^* معمولاً با میزان رنگدانه‌های آنتوسیانین، پارامتر b^* با میزان رنگدانه کارتنوئید و L^* با میزان فلاونوئیدها در ارتباط می‌باشد (۹، ۲۲ و ۲۷).

جدول ۴- خلاصه نتایج تجزیه واریانس میزان یون‌های فلزی اندازه‌گیری شده در بافت گلبرگ ارقام مختلف ژبررا

میانگین مربعات (MS)							منبع تغییر
منیزیم	کلسیم	منگنز	روی	مس	آهن	درجه آزادی	
۰/۰۴۹۹**	۰/۰۲۶۷**	۴/۷۸۲۲**	۷/۴۸۸۸*	۷/۶ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۹۶۱**	۵	تیمار
۰/۰۰۰۰۳	۰/۰۰۰۰۳	۷/۴۴۴۴	۵/۰۵۵۵	۳/۸۳۳۳	۰/۰۰۰۰۰۰۳	۱۲	خطا
						۱۷	کل
۱/۰۲۳۵	۰/۶۸۵۰	۱۱/۱۶۱۸	۸/۳۹۶۷	۵/۳۳۹۷	۱/۷۳۲۷		ضریب تغییرات

* معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد آزمون دانکن

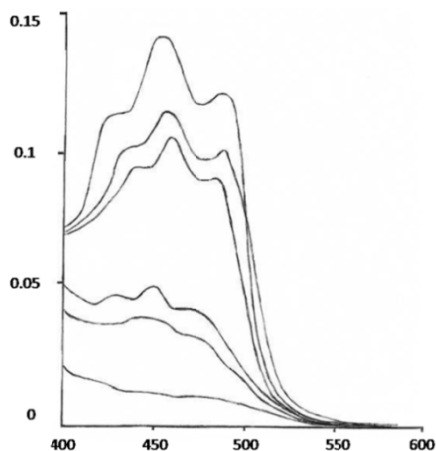
** معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد آزمون دانکن

ns غیر معنی‌دار

جدول ۵- مقدار یون‌های فلزی (میلی‌گرم در هر گرم بافت تر گلبرگ) در گل‌های ارقام ژبررا با رنگ‌های مختلف

شماره	رقم	آهن	مس	روی	منگنز	کلسیم	منیزیم
۱	Advance	^d ۰/۰۰۷۷	^a ۰/۰۰۳۸	^b ۰/۰۰۱۷	^b ۰/۰۰۲۲	^b ۲/۶۴	^c ۱/۵۷
۲	Bastion	^b ۰/۰۱۰۶	^a ۰/۰۰۴۰	^a ۰/۰۰۲۸	^b ۰/۰۰۲۱	^c ۲/۵۳	^a ۱/۷۹
۳	Double Dutch	^d ۰/۰۰۷۶	^a ۰/۰۰۳۷	^a ۰/۰۰۲۷	^a ۰/۰۰۳۲	^a ۲/۹۷	^a ۱/۷۸
۴	Eco	^b ۰/۰۱۰۵	^a ۰/۰۰۳۵	^a ۰/۰۰۲۷	^b ۰/۰۰۲۱	^b ۲/۱۸	^b ۱/۶۸
۵	Malibu	^a ۰/۰۱۲۰	^a ۰/۰۰۳۵	^a ۰/۰۰۳۰	^b ۰/۰۰۲۵	^b ۲/۱۸	^b ۱/۶۸
۶	Pink Elegance	^c ۰/۰۰۸۷	^a ۰/۰۰۳۵	^a ۰/۰۰۳۰	^b ۰/۰۰۲۴	^c ۲/۵۳	^d ۱/۴۵

در هر ستون حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین می‌باشد.

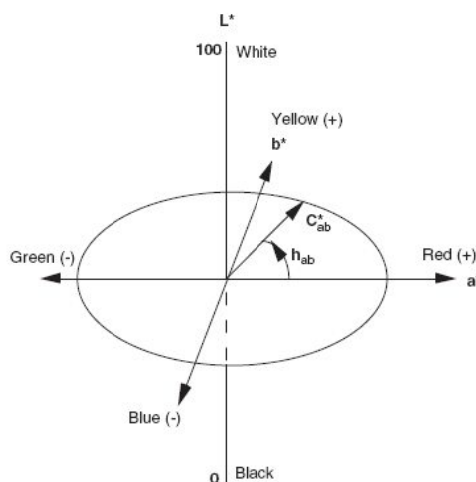


شکل ۳- طیف جذبی رنگدانه‌های زرد - قرمز در عصاره گلبرگ‌های ارقام مختلف؛ به ترتیب از بالاترین طیف: Double Dutch ، Pink Elegance ، Advance ، Malibu ، Eco ، Bastion

منیزیم مشابه کلسیم همبستگی مثبت و معنی‌داری با پارامتر b^* نشان داد، اما برعکس، همبستگی منیزیم با پارامترهای L^* ، a^* و C^* دقیقاً عکس همبستگی این پارامترها با کلسیم بود. بدین معنی که یک همبستگی مثبت و معنی‌داری با درجه رنگ‌مایه و تمایل به قرمزی و همبستگی منفی و معنی‌داری با شدت روشنایی یا شفافیت گلبرگ‌ها مشاهده شد. طوری که ارقام Advance و Pink Elegance با کمترین میزان C^* و a^* و بیشترین L^* از کمترین میزان منیزیم برخوردار بودند. نیسان - لوی و همکاران (۱۶) گزارش نمودند که گیاهان مختلف محتوی رنگدانه‌های مختلف آنتوسیانین، با افزایش منیزیم می‌توانند ۷۰ - ۱۵ درصد شدت رنگ داشته باشند.

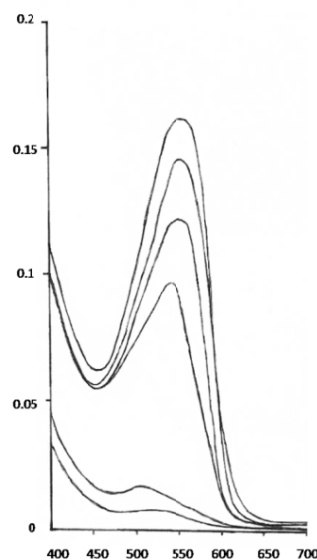
بین میزان کلسیم و تمایل به قهوه‌ای شدن (h) نیز یک همبستگی مثبت مشاهده شد، در حالی که همبستگی معنی‌داری بین این پارامتر و مقدار منیزیم وجود نداشت (جدول ۶). هم‌چنان که نتایج نشان می‌دهد بین مقادیر a^* و C^* و پارامتر L^* یک همبستگی منفی وجود دارد. بدین معنی که گل‌های روشن‌تر درجه شفافیت بیشتر و میزان رنگ‌مایه کمتری دارند (۹).

در بین یون‌های فلزی ارزیابی شده در ژبرای یون‌های آهن، کلسیم و منیزیم ارتباط موثرتری با مولفه‌های رنگ نشان دادند. این امر احتمالاً نتیجه تشکیل کمپلکس‌های ویژه یون - رنگدانه و یا دخالت آنزیم‌هایی خاص طی فرایندهای متابولیکی موثر در بیوسنتز، تخریب، تجمع و انتقال انواع رنگدانه‌ها می‌باشد که نقش اساسی در تثبیت رنگ نهائی گلبرگ‌ها دارند (۲، ۶ و ۷).



شکل ۱- نمایش سه بعدی فضای رنگ سیستم CIELAB (ام. رونی پرو، ۲۰۰۶).

بین میزان کلسیم و تمایل به قرمزی (a^*) یک همبستگی منفی و معنی‌دار و بین میزان کلسیم و شدت روشنی رنگ و تمایل به زردی یک همبستگی مثبت و معنی‌دار مشاهده شد، این نشان می‌دهد که میزان کلسیم با رنگدانه‌های زرد و نارنجی (کارتنوئیدها) ارتباط تنگاتنگی دارد، طوری که Double Dutch با بالاترین میزان b^* و بالاترین میزان کلسیم، مطابق شکل ۳ میزان جذب بیشتری نشان می‌دهد. بین میزان کلسیم و منگنز نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت (جدول ۶)، هم‌چنان که به طور مشابه رقم Double Dutch میزان منگنز بیشتری نسبت به سایر ارقام داشت (جدول ۵).



شکل ۲- طیف جذبی رنگدانه‌های قرمز - بنفش در عصاره گلبرگ‌های ارقام مختلف - به ترتیب از بالاترین طیف: Malibu ، Eco ، Double Dutch ، Bastion ، Advance ، Pink Elegance ،

جدول ۶- ضرائب همبستگی مولفه‌های رنگ و میزان یون‌های فلزی بافت گلبرگ در ارقام مختلف

	ه‌ا	c*	b*	a*	L*	منیزیم	کلسیم	منگنز	روی	مس	آهن
آهن	**	۰/۷۲ -	۰/۵۹*	۰/۱۵ -	۰/۹۳**	۰/۲۷ -	۰/۸۴**	۰/۴۲ -	۰/۵۳*	۰/۱۶ -	۱
مس	۰/۵۲	۰/۰۹	۰/۳۸	۰/۱۳ -	۰/۰۷	۰/۳۰	۰/۳۴	۰/۰۸	۰/۳۰ -	۱	
روی	۰/۵۷*	۰/۲۷	۰/۰۵ -	۰/۳۳	۰/۲۰ -	۰/۱۶	۰/۲۷ -	۰/۰۹	۱		
منگنز	۰/۰۲	۰/۰۷	۰/۲۶	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۱۹	۰/۶۰**	۱			
کلسیم	۰/۷۱**	۰/۲۲ -	۰/۴۷*	۰/۷۹**	۰/۷۲**	۰/۱۵	۱				
منیزیم	۰/۱۲	۰/۹۰**	۰/۸۷**	۰/۴۷*	۰/۵۵*	۱					
L*	۰/۴۶	۰/۸۰**	۰/۲۲ -	۰/۹۸**	۱						
a*	۰/۵۹*	۰/۷۷**	۰/۰۹	۱							
b*	۰/۵۲*	۰/۶۲**	۱								
c*	۰/۳۰ -	۱									
h	۱										

* معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد آزمون دانکن

** معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد آزمون دانکن

سنتاز در گل اطلسی ثابت شده است (۱۵). در ژربرا گزارش شده است که آنزیم آنتوسیانین سنتاز که از گروه اکسیژنازهای وابسته به آهن است، نقشی فراتر از اکسیداسیون لوکوسیانیدین‌ها یعنی تسریع تبدیل (+) - کاتچین به سیانیدین و یک نوع پروسیانیدین جدید دارد (۲۸) که این تبدیل مطابق نتایج حاصل از آزمایشات ما با حضور یون آهن و همبستگی معنی‌دار آن با مولفه‌های رنگ، قابل توجیه است.

نتایج بالا ثابت می‌کنند که یون‌های فلزی نقش اساسی در تثبیت رنگ نهائی گلبرگ‌ها دارند. همچنین نتایج نشان می‌دهند که مولفه‌های رنگ گل تحت تاثیر مقادیر یون‌های فلزی و احتمالا عوامل دیگری قرار دارند که با تغییر آنها مولفه‌های رنگ می‌توانند دستخوش تغییراتی هرچند جزئی شوند، امروزه در برنامه‌های اصلاحی دستکاری مولفه‌های موثر بر رنگ می‌تواند راه را به سوی دستیابی به رنگ‌های خاص و جدید در گل‌ها به ویژه گل‌های ارزشمندی چون ژربرا که فاقد رنگ آبی هستند، هموار سازد. در این مطالعه علاوه بر اینکه ارتباط مولفه‌های موثر بر رنگ با مقدار یون‌های درونی بافت گلبرگ ارزیابی شد، دامنه یون‌های فلزی در بافت گلبرگ، تحت شرایط تجاری کشت و تولید مشخص شده و مقدار این یون‌های در ارقامی با رنگ‌های مختلف مورد مقایسه و ارزیابی قرار گرفت.

آخرین مرحله از مکانیسم تثبیت رنگ اضافه شدن قند به آنتوسیانیدین‌هاست که باعث افزایش دوام رنگدانه‌ها و انحلال آنها در واکنش می‌شود (۳). در گل‌های کوکب در بررسی آنزیم ۵- گلوکوزیل ترانسفراز که انتقال یک گروه گلوکوزیل را از یوریدین بی فسفات گلوکز به موقعیت ۵ آنتوسیانیدین ۳- گلوکوزاید و ۳- مالونیل گلوکوزاید تسریع می‌کند، ثابت شد که یون‌های کلسیم و منیزیم تا حدی باعث فعالیت آنزیم گلوکوزیل ترانسفراز شده و بعضی از یون‌های فلزی مثل روی و مس از فعالیت این آنزیم ممانعت می‌نمایند (۱۷). هم‌چنان که در این مطالعه در مرحله شکوفائی کامل گل‌ها (آخرین مرحله از تثبیت رنگ) همبستگی مثبت و معنی‌داری بین کلسیم و منیزیم با مولفه‌های رنگ مشاهده شد، ولی روی و مس دخالتی در مکانیسم تثبیت رنگ نداشتند (جدول ۶).

دو آنزیم مهم دیگر مسیر بیوستنز آنتوسیانین، فلاونوئید ۳- هیدروکسیلاز و فلاونوئید ۳،۵- دی هیدروکسیلاز است که از گروه آنزیم‌های سیتوکروم P450 بوده و ثابت شده است که یون‌های فلزی دو ظرفیتی آهن و منیزیم در ژربرا و استوسپرمیوم هر دو از خانواده کمپوزیته نقش مهمی در فعالیت آن‌ها دارد (۲۱). همچنین دخالت یون دو ظرفیتی آهن در فعالیت آنزیم آنتوسیانین

منابع

- 1- Aksamit-Stachurska A., Korobczak-Sosna A., Kulma A., and Szopa J. 2008. Glycosyltransferase efficiently controls phenylpropanoid pathway. BMC Biotech. 8, 25-40.
- 2- Ellestad G.A. 2006. Structure and chiroptical properties of Advancemolecular flower pigments. Chirality 18, 134-144.
- 3- Ferrer J.L., Austin M.B., Stewart C. and Noel J.P. 2008. Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids. Plant Physiol. Biochem. 46, 356-370.
- 4- Ford C.M., Boss P.K., and Hoj P.B. 1998. Cloning and characterization of *Vitis vinifera* UDP-glucose: flavonoid 3-

- O*-glucosyltransferase, a homologue of the enzyme encoded by the maize *Bronze-1* locus that may primarily serve to glucosylate anthocyanidins *in vivo*. *J. Bio. Chem.* 273, 9224-9233.
- 5- Fujiwara H., Tanaka Y., Fukui Y., Nakao M., Ashikari T. and Kusumi T. 1997. Anthocyanin 5-aromatic acyltransferase from *Gentiana triflora*. *Eur. J. Biochem.* 249, 45-51.
 - 6- Goto T., and Kondo T. 1991. Structure and molecular stacking of anthocyanins – Flower color variation. *Angew. Chem. Int. Ed.* 30, 17–33.
 - 7- Gould K., Davis K. and Winefield C. 2009. Anthocyanins. Springer Press. LLC. 336 p.
 - 8- Gribach R. and Austin S. 2005. Comparison of the Munsell and Royal Horticultural Society's color charts in describing flower color. *Taxon* 54:3, 771-773.
 - 9- Jia N., Shu Q., Wang L., Du H., Xu Y., and Liu Z. 2008. Analysis of petal anthocyanins to investigate coloration mechanism in herbaceous peony cultivars. *Sci. Hort.* 117, 167–173.
 - 10- Joshi C.P. and Chiang V.L. 1998. Conserved sequence motifs in plant S-adenosyl-Lmethionine- dependent methyltransferases. *Plant Mol. Biol.* 37, 663–674.
 - 11- Kondo T., Yoshida K., Nakagawa A., Kawai T., Tamura H. and Goto T. 1992. Structural basis of blue-color development in flower petals from *Commelina communis*. *Nature* 358, 515-518.
 - 12- M.Ronnier L. 2006. Applying color science in color design. Department of Color and Polymer Chemistry, University of Leeds, Leeds LS2 9JT, UK, *Optics & Laser Technol.* 38, 392–398.
 - 13- Mazza G., and Miniati E., 1993. Anthocyanins in Fruits, Vegetables and Grains, CRC Press, Boca Raton. FL.
 - 14- Miller R.S. Owens J., and Rorslet B. 2009. Plants and color: Flowers and pollination. *Optics and Laser Technol.* 43:2, 282-294.
 - 15- Nakajima J.I., Tanaka Y., Yamazaki M., and Saito K. 2001. Reaction mechanism from leucoanthocyanidin to anthocyanidin 3-glucoside, a key reaction for coloring in anthocyanin biosynthesis. *J. Biol. Chem.*, 276, 25797-25803.
 - 16- Nissan-Levi A., Ovadia R., Foreer I. and Oren-Shamir, M. 2007. Increased anthocyanin accumulation in ornamental plants due to magnesium treatment. *J. Hort. Sci. Biotech.* 82, 481–7.
 - 17- Ogata J., Sakamoto T., Yamaguchi M., Kawanobu S. and Yoshitama K. 2001. Isolation and characterization of anthocyanin 5-*O*-glucosyltransferase from flowers of *Dahlia variabilis*. *Plant physiol.* 158, 709-714.
 - 18- Razic S., Dogo S., Slavkovic L., and Popovic A. 2005. Metal determination in herbal drugs originating from medicinal plants of the family Lamiaceae. *J. Serb. Chem. Soc.*, 70:11, 1347-1355.
 - 19- Reuveni M., Evenor D., Artzi B., Perl A. and Erner Y. 2001. Decrease in vacuolar pH during petunia flower opening is reflected in the activity of tonoplast H⁺-ATPase. *J. Plant Physiol.*, 158; 991-998.
 - 20- Sawada S., Suzuki H., Ichimaida F., Yamaguchi M.A., Iwashita T., Fukui Y., Hemmi H., Nishino T. and Nakayama T. 2005. UDP-glucuronic acid: anthocyanin glucuronosyltransferase from red daisy (*Bellis perennis*) flowers. Enzymology and phylogenetics of a novel glucuronosyltransferase involved in flower pigment biosynthesis. *J. Biol. Chem.*, 280, 899–906.
 - 21- Seitz C., Ameres S. and Forkmann G. 2007. Identification of the molecular basis for the functional difference between flavonoid 3'-hydroxylase and flavonoid 3',5'-hydroxylase. *FEBS Lett.*, 581, 3429-3434.
 - 22- Seroczyńska A., Korzeniewska A., Sztangret-Wiśniewska J., Niemirowicz-Szczytt K. and Gajewski M. 2006. Relationship between carotenoids content and flower or fruit flesh color of winter squash (*Cucurbita maxima* Duch.). *Folia Horticulturayae Ann.*, 18:1, 51-61.
 - 23- Takeda K., Yanagisawa M., Kifune T., Kinoshita T., and Timberlake C.F. 1994. A blue pigment complex in flowers of *Salvia patens*. *Phytochemistry* 35, 1167-1169.
 - 24- Tatsuzawa F., Ichihara K., Shinoda K. and Miyoshi K. 2010. Flower colors and pigments in *Disa* hybrid (Orchidaceae). *S. Afr. J. Bot.*, 76, 49–53.
 - 25- Toyama-Kato Y., Yoshida K., Fujimori E., Haraguchi H., Shimisu Y. and Kondo T. 2003. Analysis of metal elements of hydrangea sepals at various growing stages by ICP-AES. *Biochem. J.*, 14, 237–241.
 - 26- Tuzen M. 2003. Determination of heavy metals in soil, mushroom and plant samples by atomic absorption spectrometry. *Microchem. J.*, 74, 289–297.
 - 27- Uddin J.A.F.M., Hashimoto F., Miwa T., Ohbo K. and Sakata Y. 2004. Seasonal variation in pigmentation and anthocyanidin phenetics in commercial Eustoma flowers. *Sci. Hort.* 100, 103–115.
 - 28- Wellmann F., Griesser M., Schwab W., Martens S., Eisenreich W., Matern U. and Lukacin R. 2006. Anthocyanidin synthase from *Gerbera hybrida* catalyzes the conversion of (+)-catechin to cyanidin and a novel procyanidin, *FEBS Lett.* 580, 1642–1648.
 - 29- Yoshida K., Kawachi M., Mori M., Maeshima M., Kondo M., Nishimura M. and Kondo T. 2005. The involvement of tonoplast proton pumps and Na-(K⁻)/H⁻ exchangers in the change of petal color during flower opening of morning glory, *Ipomoea tricolor* cv. Heavenly Blue. *Plant Cell Physiol.* 46, 407–415.
 - 30- Yu O., Matsuno M. and Subramanian S. 2006. Flavonoid compounds in flowers: Genetics and Biotechnology. *Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology, Global Science Books.*, 1: 282- 292.