الفصل الخامس

الأنثوسيانينات

- المقدمة • بناء وتركيب الأنثوسيانينات الكيميائي
- تصنيف ألأنثوسيانينات • أهمية الأنثوسيانينات
- صبغات الأزهار والثمار • تحوير ألوان الزهرة بتقنية الهندسة الوراثية • طرق التعرف على الأنثوسيانينات

المقدمة

تعد الأنثوسيانينات Anthocyanins ملونات طبيعية وأكثر الصبغات النباتية جذباً لعين الإنسان حيث تتميز بمدى واسع من الألوان من الأحمر إلى الأزرق/فوق البنفسجي، مثل بعض الألوان الجذابة للخضراوات والأزهار والفواكه، وهي أيضاً من أهم الصبغات النباتية بعد الكلوروفيل. لقد أشتق الإسم من اليونانية فكلمة *anthos* تعني زهرة وكلمة *kyanos* تعني أزرق. توجد الأنثوسيانينات في فجوة الخلية بعد بنائها في السيتوبلازم (Tanaka, et al., 2008)، حيث تذوب في الماء وذلك في الجذور والسيقان والأوراق ولكنها أكثر شيوعاً في تويجيات معظم مجاميع النباتات الزهرية (كاسيات البذور) (Cooper-Driver, 2001) وفي كل من التراكيب الخضرية والتكاثرية في العديد من

عاريات البذور وبعض المجاميع النباتية الأخرى كالسراخس والحزازيات (Anderson, 1992). تعتبر الأنثوسيانينات طائفة من أشباه الفلافون حيث مسار بنائها جزء من مسار بناء أشباه الفلافونات الأخرى وألوانها المميزة تتأثر بوجود الصبغات المساعدة والأيونات والرقم الهيدروجيني.

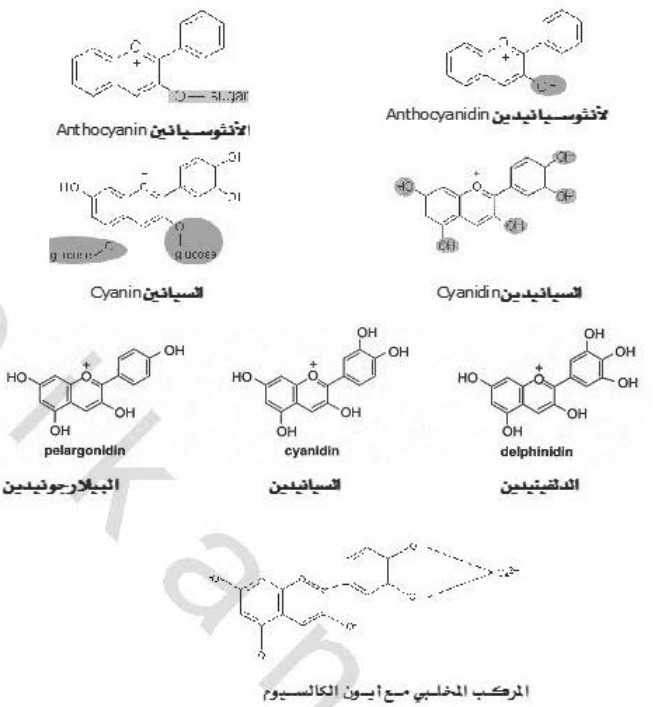
بناء وتركيب الأنثوسيانينات الكيميائي

تعد الأنثوسيانينات كيميائيا من مركبات أشباه الفلافون المكونة من ١٥ ذرة كربون (حلقتين بنزين مربوطة بسلسلة من ثلاث ذرات كربون) . لقد ورد ذكر نظام ترقيم الحلقات وتسميتها في فصل أشباه الفلافون (انظر الشكل رقم ٤,١ والشكل رقم ٤,٢) .

يساهم مسار حمض الشيكيميك في تكوين جزء من مكونات جزيئات الأنثوسيانين وهو مركب ٤-كوماروآيل المساعد الإنزيمي أ 4-Coumaroyl-CoA والجزء الآخر من ثلاثة جزيئات من مالونيل المساعد الإنزيمي أ Malonyl-CoA ، ويربطهما إنزيم سينثيز الشالكون Chalcone synthase (CHS; EC 5.5.1.6) ليتكون مركب الشالكون (Yu, et al., 2006). تستمر التفاعلات من هذا المركب بواسطة عدة إنزيمات لتكون المركب غير الثابت وهو الأنثوسيانيدين anthocyanidin (انظر الشكل رقم ٥,١)، وهذا يتحول إلى جلوكوسيد بواسطة إنزيم ٣-أرثو-جلوكوزايل ترانسفيريز Flavonoid 3-O-glucosyl transferase (3GT; EC 2.4.1.115)، ويسمى هذا الجلوكسيد بالأنثوسيانين. بالطبع يتكون في هذا المسار عدد من المركبات الوسطية والتي يتكون من بعضها أشباه الفلافون الأخرى (Forkmann and Martens, 2001).

الشكل رقم (٥,١) . عنصر لمسار بناء الأنثوسيانينين . (مقتبس من Ozeki, et al., 1999) .

يوضح الشكل رقم (٥,٢) الصيغة الكيميائية لبعض الأنثوسيانينات والفروق بين الأنثوسيانيدين والأنثوسيانين وارتباط أيون العنصر.



الشكل رقم (٥,٢). التركيب الكيميائي للأنثوسيانيدين والأنثوسيانين ؛ والسيانيدين والسيانين ، ومقارنة لثلاثة مركبات أخرى ، والمركب المخلبي.

من ناحية أخرى قد تكون الأنثوسيانينات مركبات مخلبية مع بعض أيونات العناصر كما في الشكل رقم (٥,٢) . مما يؤيد تكوين المركبات المخلبية ما وُجِد في دراسة على نبات *Brassica juncea* وارتباط أيون الموليبدينوم مع الأنثوسيانين لتكوين معقد في خلايا البشرة (Hale, *et.al.* 2001) . ويؤيد ذلك أيضاً ولو بطريق غير مباشر أن تجمع الأنثوسيانين مع الصبغة المساعدة وأيونات المعادن يشكل عند رقم هيدروجيني مناسب معقداً ثابتاً ذو خصائص ضوئية مميزة حيث عُزل العديد منها وحدد تركيبها والشكل البلوري لها (Ellestad, 2006). وكمثال لذلك، ما نشر عن دراسة اللون الأزرق في زهرة نبات *Centaurea cyanus* بأن الزهرة تحوي بروتوسيانين protocyanin وهو جزيء كبير يتشكل من :

١-٦ جزيئات من لسيانيدين ٣-أرثو (٦-أورثوجلوكوسيد السكسينيل)-٥-أورثو-جلوكوسيد] ، (cyanidin 3-*O*-(6-*O*-succinylglucoside)-5-*O*-glucoside) .

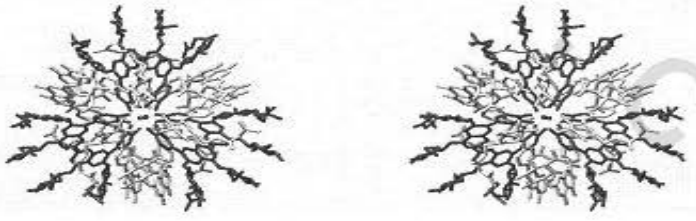
٢- ٦ جزيئات من الفلافون [أبيجينين ٧-أورثو-جلوكويورونايد-٤-أورثو-(٦-أورثو-مالونايل جلوكوسيد)]، (apigenin 7-*O*-glucuronide-4'-*O*-(6-*O*-malonylglucoside)) .

٣- أيون حديد

٤- أيون مغنيسيوم

٥- أيونين من الكالسيوم (Takeda, et al,. 2005) .

لقد تمكن العلماء من توليف التركيبة من هذه المركبات والأيونات لتتخذ الشكل البلوري (Shiono, *et al*., 2005) الموضح في الشكل رقم (٥,٣) . يوجد في فجوات بعض النباتات أجسام صبغية يطلق عليها أحيانا "البلورات الزرقاء" "Blue crystals" وهي عبارة عن بروتين غير مرتبط بغشاء الفجوة ويربط الأنثوسيانينات مما يزيد كثافة الزرقة في المنطقة التي يوجد فيها كما عرف في نبات *Lisianthus* حيث البروتين يربط أربعة أنواع من الأسايل جلوكوسيد acylated glycoside لكل من السيانيدين والديلفينيدين لتكون تركيباً واحدا (Markham, *et al*., 2000)، وقد يكون التركيب أكبر في عدد الجزيئات المرتبطة (Yu, *et al*., 2006) .



الشكل رقم (٥,٣). التركيب البلوري لعقد صبغة الأنثوسيانين كما يظهر بالأشعة السينية ، البروتوسيانين حيث الأزرق الثوسيانين ، والأصفر جلوكوسيد الفلافون ، والكروي في الوسط (الأحمر أيون الحديد ، والأخضر أيون المغنيسيوم ، والأسود أيون الكالسيوم) .

المصدر : أورده (Yu, et al., 2006) عن (Shiono, *et al*., 2005) .

إن ارتباط بعض الأيونات يؤدي إلى إزاحة في لون العضو ، مثلا نحو اللون الأزرق عند الارتباط بأيونات الحديد Fe^{3+} والمغنيسيوم Mg^{2+} في أزهار نبات *Centaurea cyanus* (Yoshida, *et al.*, 2005) وأزهار نبات *Meconopsis grandis* (Takeda, *et al.*, 2006) والغلاف الزهري لنبات الزنبق *Tulipa gesneriana* cv.Murasakizuisho (Shoji, *et al.*, 2007) . إن وجود أيون الألومنيوم Al^{3+} أو الحديد Fe^{3+} قد يكون ضرورياً لتثبيت الصبغة الزرقاء الفيسيليانين phacelianin في أزهار نبات *Phacelia campanularia* (Mori, et al., 2006) يعد أيون الألومنيوم ضرورياً لثبات صبغات الأنثوسيانين ومنه يعتمد تكوين لون الزهرة في نبات *Hydrangea. macrophylla* من الفصيلة Hydrangeaceae على توافر أيون الألومنيوم في محلول التربة حيث ذوبان الألومنيوم يتأثر بالرقم الهيدروجيني لمحلول التربة ومنه يتيسر في التربة الحمضية (٥,٥ أو أصغر) وتكون أزهار النبات زرقاء blue ، ويقل تيسره في التربة المتعادلة إلى القلوية (٦,٥ أو أكبر) وتكون الأزهار أرجوانية pink . عند الرقم الهيدروجيني للتربة ما بين ٥,٥ و٦,٥ تكون الأزهار أرجوانية أو خليط من الزرقاء والأرجوانية ، انظر العنوان التالي : <http://www.usna.usda.gov/Gardens/faqs/hydrangeafaq2.html>

وكما سبق التلميح فإن الأنثوسيانينات من مجموعة أشباه الفلافون من عديدات الفينول ذات الوزن الجزيئي ٢٠٠٠ لكنها تتميز بوجود شحنة موجبة في الموقع C_5 ، وتوجد طبيعياً على هيئة جلوكوسيدات أما تلك التي لا يرتبط بها السكر فتدعى أنثوسيانيدات anthocyanidins (Moreno, 2008).

على العموم لا يحدد ألوان الأزهار نوع ومستوى الأنثوسيانينات الموجودة في نوع نباتي معين فقط ، بل هناك عوامل أخرى تغير من خصائص مولد اللون ، ذكر منها في مراجعة للعوامل المؤثرة في الكيمياء الحيوية لأشباه الفلافونات عامة :

١- الرقم الهيدروجيني للفجوة .

٢- الصبغات المساعدة وأيونات العناصر ،

٣- تكوين معقد الصبغة مع العناصر كما ورد سابقا في الشكل رقم (٥,٣)،

٤- تنظيم النسخ لإنزيمات مسار أشباه الفينايل بروبان phenylpropanoid pathway ومنها الأنثوسيانينات ،

٥- مكونات الترانسبوسومات للحمض النووي DNA transposons elements والتي قد تخمد أو تعيد تنشيط مسار أشباه الفينايل بروبان وكذك العوامل المؤثرة في النمطين الظاهري والوراثي عدا دور تتابع الحمض النووي DNA في إنزيمات الأنثوسيانين المبنية epigenetics والتي قد تحدث أنماطا لونية مختلفة .

٦- الأيض الهدمي للأنثوسيانينات (Yu, *et al.*, 2006).

تتهدم الأنثوسيانينات في النباتات أساساً بالأكسدة (إنزيمات البيروكسيديسيز في وجود بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 والرقم الهيدروجيني المناسب) كما يحدث في عصير الفواكه والعنبيات (Kader,*et al.*, 2002) وقد لا يحدث هذا في الظروف الطبيعية لوجود الأنثوسيانينات في الفجوة والإنزيمات الهادمة في حيز آخر بالإضافة إلى ضرورة فصل السكر ليصبح سيانيدين قبل عملية التكسير (Yu, *et al.*, 2006) . أما في عمليات التصنيع فقد وجد أن المحلول الكحولي من الأنثوسيانين (٣-أورثو جلوسيد السيانيدين) يتكسر عند البسترة إذا كان الضغط فوق ٤٠٠ ميجاباسكال ودرجة حرارة ٥٠ درجة مئوية والزمن أكثر من ٣٠ دقيقة لكن لم يكن هناك تغير في محتوى ثفال العنب grape حتى عند ٦٠٠ ميجاباسكال ودرجة حرارة ٧٠ درجة مئوية إذا كان الزمن لمدة ١٠ دقائق (Moreno, 2008) .

تصنيف الأنثوسيانينات

هناك أكثر من ٢٠٠ نمط من الأنثوسيانينات تضم في مجاميع رئيسية ستة :

١- الدلفينديدينات delphinidin .

٢- السيانيدينات cyanidin .

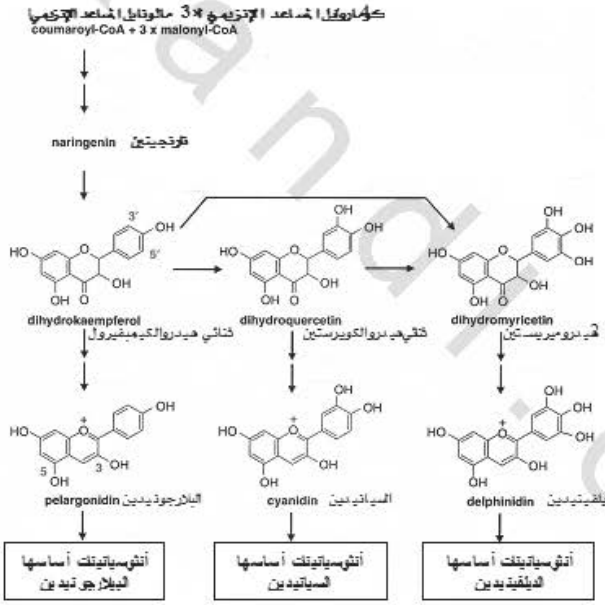
٣- البتيونيدينات petunidin .

٤- البيلارجونيدينات pelargonidin .

٥- البيونيدينات peonidin .

٦- المالفيدينات malvidin ، <Flora Health Supplement Encyclopedia.htm>.

يلاحظ في الشكل رقم (٥,٢) ثلاثة أمثلة من مجاميع الأنثوسيانينات الأكثر شيوعاً في أعضاء النباتات والمسئولة عن تكوين ألوان الأزهار الأساسية في العديد من كاسيات البذور وهي : الدلفينيدين والسيانيدين والبيلارجونيدين (Hanumappa, *et al.*, 2007) وهذه تكون مشتقات مختلفة يكون الأساس فيها واحد من هذه الثلاثة أي أنثوسيانينات أساسها الدلفينيدين أو أنثوسيانينات أساسها السيانيدين أو أنثوسيانينات أساسها البيلارجونيدين (Katsumoto, *et al.*, 2007) لأن مسار بناء الثلاثة متشعب من مسار بناء الأنثوسيانيات الأساسي كما في الشكل رقم (٥,٤) .



الشكل رقم (٥,٤). جزء من مسار بناء الأنثوسيانينات لتوضيح مسار تكوين صبغات الأنثوسيانينات بالأساسات الثلاثة الدلفينيدين والسيانيدين والبيلارجونيدين والمبسيط حذفت أسماء الإنزيمات الموجودة في أصل المصدر وكذلك بعض التشعبات من مسار بناء الأنثوسيانينات الأصلي .

المصدر : بتصرف (Katsumoto, *et al.*, 2007) .

من ناحية أخرى قد تصنف هذه الأنثوسيانينات حسب الإرتباط بالسكر وموقعه إلى أربع طوائف :

- الطائفة الأولى وتتميز بالارتباط 3-monosides
- الطائفة الثانية وتتميز بالارتباط 3-biosides
- الطائفة الثالثة وتتميز بالارتباط 3,5-diglycosides
- الطائفة الرابعة وتتميز بالارتباط 3,7-diglycosides

تشير مراجعة عامة إلى التعرف على أكثر من ٥٥٠ مركبا من الأنثوسيانيات الطبعية حتى الآن (Andersen and Jordheim, 2006).

أهمية الأنثوسيانينات

تتوسع إحدى المراجعات في إبراز أهمية الأنثوسيانينات ودورها الأحيائي وأنها تؤثر معنوياً في طريقة استجابات الورقة للإجهادات البيئية . تشير هذه المراجعة إلى أن الأنثوسيانينات مرتبطة بتحمل الإجهادات المختلفة من الجفاف والأشعة فوق البنفسجية والعناصر الثقيلة ومقاومة آكلات الأعشاب والممرضات . تضيف المراجعة أيضا دور الأنثوسيانينات في الوقاية من الأكسدة الضوئية واقتناص الشقوق الحرة (Gould, 2004).

من المحتمل أن أفضل استراتيجية، على المدى البعيد، لتأقلم النباتات للإضاءة الشمسية ومنها الأشعة فوق البنفسجية هو مراكمة مركبات فينولية معينة في الأدمة والبشرة (Liakoura, *et al.*, 2003) للحماية من أضرار زيادة الإضاءة.

تشير دراسة إلى فعالية الأنثوسيانينات الطبيعية في خصائص ثبات الحمض النووي DNA وعدم تأثر الحمض بالأشعة فوق البنفسيجة وما تكونه من شقوق حرة

بأن الأنثوسيانينات وحيدة الجلوكوسيد 3-o-β-D-glucopyranoside من سيانيدات كل من المالفيدين malvidin و البيونيدين peonidin والديلفينيدين delphinidin والبتيونيدين petunidin والسيانيدين cyanindin تكون رابطة ضعيفة مع الحمض DNA ولكنها ذات تأثير معنوي في ثباته (Mas, et.al., 2000).

تحوي البشرة الخارجية لثمار التفاح ، والتي تساهم في جودة النوعية للثمار ، طوائف من أشباه الفلافون، والرئيسية منها هي من جلايكوسيدات الكويرستين quercetin 3-glycosides من الفلافونولات flavonols و الكاتيكين catechin والإيبيكاتكين epicatechin والبروسيانيدين من ٣-أحادي كحول الفلافان flavan-3-ols، أما في الأصناف الزراعية ذات اللون الأحمر فيوجد الأنثوسيانين مثل ٣-جلوسيدات السيانيدين cyanidin 3-glycosides بالإضافة إلى مشتقات حمض السينامك hydroxycinnamic acid والممثلة بحمض الكلوروجينيك chlorogenic acid بصورة رئيسية (Solovchenko and Schmitz-Eiberger, 2003). طبيعياً، جزء من سطح ثمرة التفاح يكون معرضاً لجزء الإضاءة الشمسية المباشر والجزء الآخر يتعرض لجزء الإضاءة الشمسية غير المباشر ونتيجة لذلك يتميز جزء البشرة المعرض للضوء المباشر بأنماط مميزة من توليفة الصبغات نتيجة للتأقلم للإضاءة الشمسية المباشرة (Merzlyak and Solovchenko, 2002) . تشير دراسة على ثمار التفاح (*Malus domestica* Borkh.) ودور صبغات أشباه الفلافون في تفادي ضرر الأشعة فوق البنفسيجية إلى أن جلوسيدات الكويرسيتين قد يكون لها دور في تصفية هذا الإشعاع وبالتالي حماية جهاز البناء الضوئي ، أما الأنثوسيانين (بالتركيز المسجل في الدراسة) فلا يبدو كذلك وقد يكون دوره منحصراً في الوقاية من ضرر الإضاءة العالية في جزء الطيف الأزرق-الأخضر من الضوء المرئي (Solovchenko and Schmitz-Eiberger, 2003).

تقترح الدراسات الوراثية التقليدية لتلون قشرة ثمرة التفاح (*Malus x domestica* Borkh) الحمراء عدة نظريات غير نهائية ، لكن نظرية سيطرة مورث واحد هي التي تبدو مقبولة ظاهرياً ويبدو أنه من الضروري تأكيدها في الدراسات القادمة ، خاصة تلك التي أساسها صبغة الأنثوسيانين الرئيسية ٣-جلاكتوسيد السيانيدين (Ubi, 2004) .

تتميز بعض الفصائل النباتية بثمار ذات ألوان مختلفة من البرتقالي إلى الأسود مثل الفصيلة الخمانية Caprifoliaceae نتيجة لوجود صبغات نباتية غالبيتها أنثوسيانينات مما حدا بالعلماء إلى استغلال هذه الخاصية (خصائص الثمرة) في تصنيف الأجناس المثمرة (Manchester and Donoghue, 1995). أجريت دراسة لبعض أنواع (١٩ نوعاً) تابعة لثلاثة أجناس في هذه الفصيلة وهي *Sambucus* و *Lonicera* و *Viburnum* وتم تقدير المحتوى من الأنثوسيانينات من حيث النوعية والمحتوي النسبي، فتبين أن هناك ١٢ مركبا من الأنثوسيانينات في هذه الأنواع. تشير الدراسة من ناحية التصنيف الكيموحيوي إلى أنه على الرغم من اختلاف لون الثمرة في أنواع الجنس *Sambucus* إلا أن معظم هذه الأنواع تتميز بوجود الأنثوسيانين cyanidin 3-sambubioside-5-glucoside ومشتقاته ، لكن الأنواع في الجنسين الآخرين كانت الخاصية محدودة (Jordheim et al., 2007) .

والأنثوسيانينات ذات نشاط متوقع في العلاج الوقائي كيميائياً {انظر المراجعة التفصيلية (Boyer and Liu, 2004) عن ذلك} ومنها أنها تعمل كمضادة للأكسدة antioxidant، ومضادة للإلتهابات anti- inflammatory ومضادة لنشاط الأورام antitumor activity وقدرة الأنثوسيانينات على خفض خطورة أمراض القلب decrease the risk of heart disease.

يعد جهاز البناء الضوئي في النباتات الزهرية من أكثر مكونات الخلية حساسية للضرر الناتج عن التعرض للأشعة فوق البنفسجة ب UV-B (الطول الموجي ٢٨٠ إلى ٣٢٠ نانومتر) والهدف الرئيسي هو بروتين ، ذو الوزن الجزيئي ٣٢ كيلو دالتون 32 kDa D1 protein في مركز التفاعل الثاني photosystem II ومعقد تحلل الماء (Janssen *et al.*, 1998) . والمعتقد أن النباتات تتفادى ذلك بتراكم المركبات الفينولية والتي تمتص إختيارياً الإشعاعات فوق البنفسجية وذلك في الأدمة وخلايا البشرة (Mazza *et al.*, 2000) .

تقترح إحدى الدراسات (Fossen and Andersen, 2003) أسماء لمركبات الأنثوسيانين الموجودة في طبقات قواعد الأوراق التخزينية (القشرة الخارجية الجافة والداخلية الطرية المستخدمة للأكل) للبصل الأحمر *Allium cepa* L. لتلافي التكرار واللبس لأن جلوكوسيد مركب شبيه المالفدين قد أعطي الاسم فيتيسين أ vitisin A وهو اسم أحد مركبات الستيلبين stilbene . والجدول رقم (٥,١) يوضح المقترح :

الجدول رقم (٥,١) . الأسماء الشائعة لأربعة أنثوسيانينات موجودة في البصل مع الأسماء المقترحة ، بناء على بيانات (Fossen and Andersen, 2003) .

الاسم الشائع	الاسم المقترح
٥-كربوكسي بايرانو سيانيدين ٣-أرثو-ب-جلوكوبايرانوسيد 5-carboxypyranocyanidin 3-O-b-glucopyranoside	كربوكسي بايرانوسيانيدين carboxypyranocyanidin
٥-كربوكسي بايرانو سيانيدين ٣-أرثو-(٦"-أرثو-مالونايل-ب-جلوكوبايرانوسيد 5-carboxypyranocyanidin 3-O-(6"-O-malonyl-b-glucopyranoside)	
شبيه البتيونيدين petunidin analogous	كربوكسي بايرانوبتيودينين carboxypyranopetunidin
شبيه المالفيدين* malvidin analogous	كربوكسي بايرانومالفيدين carboxypyranomalvidin

*يسمى جلوكوسيد هذا المركب فيتيسين أ vitisin A

تجمل مراجعة عامة (Close and Beadle, 2003) للعوامل المؤثرة في تراكم الأنثوسيانينات في المجموع الخضري أثناء التكشف وكذلك المجموع الخضري في فصل الخريف ، أنها تشتمل على عدة عوامل ومنها نقص التغذية والتعرض للأشعة فوق البنفسجية والتعرض للإصابة كوسيلة دفاعية ضد آكلات الأعشاب والإصابة بالفطريات الممرضة .

إن تراكم الأنثوسيانينات في المجموع الخضري في فصل الخريف متعلق بديناميكية شيخوخة العضو (الورقة على سبيل المثال) ثم تساقطها كما هو الحال في المناطق الباردة . في هذا الفصل تزهو النباتات متساقطة الأوراق بألون تسمى ألوان الخريف من الأحمر والأصفر والبني نتيجة لتراكم صبغات الأنثوسيانينات وأشباه الكاروتين والتنينات على التوالي .انظر الشكل رقم (٥,٥) للون الورقة في نبات السماق *Rhus* sp. . تجمل دراسة بيئية لهذه الظاهرة (Lee, *et al.*, 2003) في احدى الغابات أن ٧٠٪ من الأشجار الخشبية تحوي أوراق الصيف الخضراء أنثوسيانينات في فجوات الخلايا العمادية لنسيج الورقة . وتعود الألوان الصفراء إلى ظهور لون صبغات الزانثوفيلات في البلاستيدات الآيلة للشيخوخة، أما في الأنواع ذات الألوان الحمراء فتعود إلى بناء الأنثوسيانينات من جديد. ومن النتائج لهذه الدراسة ، الإشارة إلى أن بناء الأنثوسيانينات لم يؤثر في درجة حرارة الورقة -كما كان يعتقد- أثناء الأيام الباردة والمشمسة في نبات البلوط الأحمر *Quercus rubra* . كما تنهي الدراسة ثبات توقيت سقوط الأوراق في الخريف بالنسبة للنوع الواحد . يستدل من دراسة أخرى (Keskitalo, *et al.*, 2005) على نبات الحور الرجراج *Populus tremula* تراكم الأنثوسيانينات في الأوراق التي في طور الشيخوخة في فصل الخريف نتيجة لإجهاد الأكسدة الضوئية .

الشكل رقم (٥,٥) أوراق نبات السماق *Rhus* sp. في الخريف ولونها الزاهي الأحمر .

المصدر: www.cartage.org.lb/.../Chemistryofautumn.htm

تشير نتائج دراسة على السويقة تحت الفلقية لبادرات الفجل *Raphanus sativus* إلى أن الموقع الرئيسي لتراكم الأنثوسيانين هو الدائرة المحيطية pericycle والاسم العام لهذه المركبات هوالرافانوسينات raphanusins وأنه يُستَحث بناؤها بالسكروز (١٧٥ ميلليجزيئي) (Hara, et al., 2003). وتضيف الدراسة أيضاً إلى أن هذه المعاملة بالسكروز نشطت معنويا إنزيمين في مسار بناء الأنثوسيانين وهما سينثيز الشالكون chalcone synthase وسينثيز الأنثوسيانيدين anthocyanidin synthase.

من حيث الرقم الهيدروجيني فمحلول السيانيدين ، على سبيل المثال، لونه أحمراً في الوسط الحمضي وبنفسجياً في الوسط المتعادل بينما لونه أزرقاً في الوسط القاعدي (Raven, et. Al. 1999) . يتفاوت الرقم الهيدروجيني في فجوة الخلية في البشرة من ٤,٥ إلى ٥,٥ لكن قد يكون مداه من ٢,٨ كما قيس في صنف من نوع *Begonia* إلى ٧,٥ في صنف Heavenly Blue من نبات شب النهار Morning Glory *Ipomoea*، ويتقدم العمر غالباً يزداد الرقم الهيدروجيني.

من أكثر المواضيع المثيرة للجدل العلمي هو دور الأنثوسيانينات الفسيولوجي البيئي حيث أقترح عدد من الأدوار بما فيها مضادة الأكسدة والوقاية من الأشعة

البنفسجية وخفض شدة الإضاءة المرئية (Close and Beadle, 2005) والأدلة المباشرة لكل دور غير متوافرة ويبقى الإستنتاج النهائي لأشباه الفلافون عموماً بأن أفضل الأدوار هو كونها صبغات نباتية في الأزهار والثمار والبذور لجلب الملقحات والناثرات من الحيوانات (Salisbury and Ross, 1992) و (Harborne and Williams, 2000).

هناك علاقة وثيقة بين نمط الأنثوسيانين (لون الزهرة) ومتطلبات التلقيح حيث يستدل من البحوث أن الانتخاب الطبيعي لألوان محددة في البيئات المختلفة يعتمد على وجود أكثر الملقحات نشاطاً في تلك البيئة (Harborne, 1993) . فعلى مستوى الفصيلة يستدل من تحليل الأنثوسيانينات في ١٨ نوعا ممثلة للفصيلة البوليمونية Polemoniaceae أن هناك علاقة واضحة تماماً بين لون الزهرة ونمط الأنثوسيانين والملقحات (Harborne and Smith, 1978) . تبع ذلك دراسة مستفيضة للفصيلة الشفوية Lamiaceae (Labiatae) وكانت النتائج مؤكدة لمثل هذه العلاقة (Saito and Harborne, 1992) . بالإضافة إلى ذلك ، يمكن ملاحظة مثل هذه العلاقة في مرتبة تصنيفية أصغر وهي النوع . فعلى سبيل المثال أنواع زهرة القرود monkey flower في الجنس *Mimulus* يلاحظ أن النوع *M. lewisii* يلقحه النحل الطنان bumblebees والنوع *M. cardinalis* يلقحه الطائر الطنان humming bird كما ورد في إحدى الدراسات (Bradshaw, *et.al.*, 1995).

تلخص إحدى المقالات العامة (انظر العنوان التالي : <http://www.charlies-web.com/specialtopics/anthocyanin.html>) دور الأنثوسيانينات الأحيائي بثلاثة أدوار رئيسية هي :

أولاً : جذب الحشرات بهدف التلقيح ، حيث أن الأنثوسيانينات في الأزهار والنباتات اللاحمة carnivorous plants تمتص في منطقة فوق البنفسجي مما يجذب الحشرات بألوان ذات طول موجي غير مرئي بواسطة البشر . وتبعاً لذلك ما هو ملاحظ

في أنواع معينة من النباتات البروميللينية أنها تتحول إلى اللون الأحمر vivid red مباشرة قبل التلقيح ثم بعد ذلك تتحول سريعاً إلى اللون الأخضر الأصلي مما يجعل الأنثوسيانينات مركبات يمكن تكوينها عند الحاجة للمساعدة في عملية التلقيح.

ثانياً : تساهم الأنثوسيانينات في تصفية الضوء بامتصاصها في منطقة فوق البنفسجي عند تسليط الأشعة فوق البنفسجية على النبات وهذا فيه مساهمة لحماية الحمض النووي DNA من التأثير المدمر للمادة الوراثية.

ثالثاً : تعمل الأنثوسيانينات كمادة طاردة للمفترسات من الحشرات.

من ناحية أخرى، يمكن استحثاث تكوين الأنثوسيانينات في أنسجة النباتات التي ليس بها هذه الصبغات عند زراعتها طبيعياً ومعملياً بزراعة الأنسجة. يمكن استحثاث تكوين الأنثوسيانينات بالإضاءة (حسب الطول الموجي وشدة الإضاءة حيث الأكثر فعالية هو الأشعة فوق البنفسجية) ودرجة الحرارة ومستوى السكريات والمحتوى المائي وتركيز عناصر النيتروجين والفوسفور والبورون في وسط النمو (Reinert and Yeoman, 1982) .

صبغات الأزهار والثمار

تعد الأنثوسيانينات مع أشباه الكاروتين الصبغات الرئيسية المسئولة عن ألوان الأزهار . من الطوائف الرئيسية للأنثوسيانينات التي تساهم في تكوين ألوان الأزهار : البيلارجونيدين (برتقالي إلى أحمر طوبي) والسيانيدين (أحمر إلى قرنفلي) والديلفينيدين (أرجواني إلى الأزرق) (Tanaka, *et al.*, 1998). يستفاد من دراسة مسح لثمار٥٢ نوعاً تابعة لسبعة عشر فصيلة من كاسيات البذور وجود ثمانية جلوكوسيدات أشهرها ٣-جلوكوسيد السيانيدين cyanidin 3-monoglucoside، وبصورة عامة تتشابه الأنثوسيانينات في الجنس الواحد (Ishikura, 1975) . تم التعرف على سبعة عشر مركبا من السيانيدات في الطبيعة كما يتضح من الجدول رقم (٥,٢) وألوانها (Kong, *et.al.*, 2003) .

الجدول رقم (٥,٢) . مركبات الأنثوسيانيدين الطبيعية وألوانها المميزة .

م	الاسم المعرب	الاسم المقابل	اللون
١	أبيجينيدين	Apigeninidin	برتقالي
٢	أورانتينيدين	Aurantinidin	برتقالي
٣	كابينسينيدين	Capensinidin	أحمر ضارب للزرقة
٤	سيانيدين	Cyanidin	أحمر برتقالي
٥	ديلفينيدين	Delphinidin	أحمر ضارب للزرقة
٦	يوروبينيدين	Europinidin	أحمر ضارب للزرقة
٧	هيرسيوتيدين	Hirsutidin	أحمر ضارب للزرقة
٨	هيدروكسي سيانيدين	6-Hydroxycyanidin	أحمر
٩	ليوتيولينيدين	Luteolinidin	برتقالي
١٠	مالفيدين	Malvidin	أحمر ضارب للزرقة
١١	٥-ميثيل سيانيدين	5-Methylcyanidin	أحمر برتقالي
١٢	بيلارجونيدين	Pelargonidin	برتقالي
١٣	بيونيدين	Peonidin	أحمر برتقالي
١٤	بيتيونيدين	Petunidin	أحمر ضارب للزرقة
١٥	بالشيلليدين	Pulchellidin	أحمر ضارب للزرقة
١٦	روزينيدين	Rosinidin	أحمر
١٧	ترايسيتينيدين	Tricetinidin	أحمر

المصدر (بتصرف الاختصار : (Kong, et.al., 2003) .

تعود الفروق بين مركبات الأنثوسيانيات إلى عدة أسباب، منها عدد المجموعات الهيدروكسيلية المرتبطة بالحلقات، وطبيعة وعدد السكريات المرتبطة بالمركب وموقعها، وطبيعة وعدد المجموعات الأليفاتية والعطرية المرتبطة بالمركب . من تلك المركبات السيانيدية الطبيعية هناك ستة أنثوسيانيدات غالبا هي الموجودة في النباتات بنسب عالية (Kong, et.al., 2003) كالتالي :

١- السيانيدين cyanindin ويشكل نحو ٥٠٪ واللون أحمر برتقالي كما في قشور البصل الأحمر والعنبيات Berries.

٢- البيلارجونيدين pelargonidin ويشكل نحو ١٢٪ واللون برتقالي كما في توتة العليق Raspberries .

٣- البيونيدين peonidin ويشكل نحو ١٢٪ واللون أحمر برتقالي كما في العنب الأحمر Red grapes .

٤- الديلفينيدين delphinidin ويشكل نحو ١٢٪ واللون أحمر مزرق كما في الكرز Cherries .

٥- البتيونيدين petunidin ويشكل نحو ٧٪ واللون أحمر مزرق مثل جلوكوسيد البتيونين في نبات *Atropa belladonna* والفراولة والشاي .

٦- المالفيدين malvidin ويشكل نحو ٧٪ واللون أحمر مزرق كما في بعض أصناف العنب Grapes .

يعود اللون الزاهي لأوراق بعض النباتات في فصل الخريف إلى تحول كميات كبيرة من الفلافونولات flavonols إلى أنثوسيانينات أثناء تكسر الكلوروفيل بسبب البرودة.

تختلف الأنواع النباتية في محتواها من مركبات أشباه الفلافون وكذلك يختلف المحتوى في الأصناف الزراعية. ففي ثمار التفاح *Malus domestica* Borkh وجد اختلاف واضح بين أربعة أصناف زراعية تستخدم لصناعة صلصة التفاح حيث كان أعلى محتوى في صنف Rome Beauty apples وأقل محتوى في صنف Cortland apples لكن صنف Idared يحوي أعلى كمية من الأنثوسيانينات (Wolfe, *et al.*, 2003). أما أثناء نمو الثمرة فقد وجد أن محتوي الأنثوسيانينات في صنفي Elstar و Jonagold إزداد في بداية

النمو ثم انخفض لكنه إزداد قبل النضج مع ارتباطه بالتعرض للضوء المباشر (Awad, *et al.*, 2001) . تؤثر بعض المعاملات في محتوى الثمرة حيث أن التسميد النيتروجيني يؤدي إلى خفض المحتوى من الأنثوسيانينات وأشباه الفلافون (Awad, and deJager, 2002a) وكذلك المعاملة بهرمون الجبريللين Gibberellins بينما التسميد بالكالسيوم يزيد المحتوى وكذلك الرش بالإيثيفون Ethephon الذي يكون هرمون الإيثيلين (Awad, and deJager,, 2002a and 2002b) . تستخدم تويجيات نبات *Hibiscus sabdariffa* L. التابع للفصيلة الخبازية Malvaceae ذات اللون الأرجواني في تحضير مشروب شائع في بعض الدول هو "الكركديه" "Karkadeh" . تشير دراسة على صنف من هذا النبات تويجياته ذات لون أحمر غامق بأن المعاملة بهرموني حمض الجبريلليك GA_3 و البنزايل أدنين BA قد أدت إلى زيادة معنوية لمؤشرات النمو وأكبر كمية من الأنثوسيانينات والمحتوى الحمضي والسكريات الذائبة وعناصر البوتاسيوم والكالسيوم والمغنيسيوم والفوسفور والحديد بينما قل المحتوى من الصوديوم في التويجيات ، مصحوباً بزيادة في نشاط إنزيمي فينيل ألانين- أمونيا ليز phenylalanine ammonia lyase (PAL, EC, 4.3.1.1) وتيروسين أمونيا لايز tyrosine ammonia lyase (TAL, EC, 4.3.1) والفينولات الكلية في المجموع الخضري (Hassanein, *et al.*, 2005) .

ويعد مركب cyanidin 3-glycoside من أكثر الأنثوسيانيات انتشاراً. والمثل على ذلك ، إن الصبغة المسئولة عن اللون الأحمر لثمار بعض التفاح يعو إلى وجود واحداً من جلوكوسيدات الأنثوسيانين وهو ٣-جالاكتوسيد السيانيدين cyanidin-3-galactoside ويشكل ٨٠٪ من الأنثوسيانينات الموجودة في بشرة الثمرة حيث البقية جلوكوسيدات سكريات أخرى غير الجالاكتوز.

تتواجد الأنثوسيانينات بعد بنائها في فجوة الخلية في الأزهار والثمار ونسيجياً في خلايا البشرة في الغالب أو في طبقات الخلايا الخارجية في الأوراق والسيقان والجذور. عرف وجود الأنثوسيانينات بكثرة في بعض الأنواع النباتية مثل جنس *Vaccinium* sp. وأنواعه بأسمائها العامة blueberry و cranberry, و bilberry وفي جنس *Rubus* sp. بما في ذلك توت العليق الأسود black raspberry وتوت العليق الأحمر red raspberry وتوت العليق الشوكي black berry وأنواع نباتية أخرى مثل الأرز الأسود والكرز والباذنجان وأصناف من العنب والزبيب الأسود والكرنب الأحمر. من ناحية أخرى تقل وفرة الأنثوسيانينات في بعض النباتات مثل الموز والهيليون والبسلة والبطاطس وقد لاتكون موجودة في عدد قليل من الأنواع النباتية الأخرى، وللتحديث انظر العنوان التالي: <http://en.wikipedia.org/wiki/Anthocyanin>

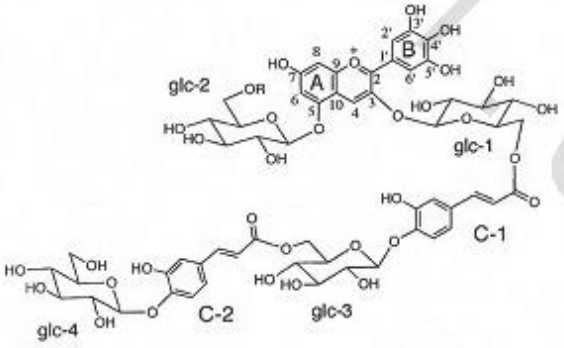
من ناحية أخرى تلخص بعض الدراسات (Cooper-Driver, 2001) تحورات الإصطباغ في الأزهار وتعزوها إلى بعض العوامل ومنها:

- اختلاف مجموعات الصبغات.
- تركيز كل صبغة منفردة.
- الإختلافات التركيبية بين مجموعات الصبغات.
- تحورات الجلوكوسيد المرتبط في الموقع ٣ مثل :

- زيادة عدد وحدات السكر.
- إضافة المجموعة الميثيلية.
- التحول بأسيتيل المركبات العطرية (تكوين إيسترمع مشتق من حمض السينامیك).
- التحول بأستيل الأحماض الأليفاتية ثنائية المجموعة الكربوكسيلية (المالونات).
- وجود الفلافون (أي صبغة أخرى مساعدة co-pigment).

- التخليب بالعناصر (المغنيسيوم والحديد).
- التغير في الرقم الهيدروجيني pH في الفجوة
- شكل الخلية

يميز اللون الأزرق غالبية الأزهار التي أساس لونها الأنثوسيانينات ، لكن دراسة آلية تميز اللون تبدو قليلة ، ففي نباتي *Commelina communis* و *Centaurea cyanus* ذوات الأزهار الزرقاء يتكون اللون بمعقدات الجزيئات الكبيرة بواسطة أيونات المعادن (Kondo *et al.*, 1992) و (Kondo *et al.*, 1998) على التوالي . أما في نبات moming glory, *Ipomia* فيكون بارتفاع الرقم الهيدروجيني للفجوة إلى ٧,٧ (Yoshida *et al.*, 1995) ، لكن في نبات *Gentiana makinoi* فيكون بواسطة أنثوسيانينات متعددة الأستيل polyacylated anthocyanins (Goto and Kondo, 1991) . لقد درست آلية تميز اللون الأزرق في نبات *Phacelia campanularia* حيث الأنثوسيانين هو الفيسليانين ١ (phacelianin 1) وحدد تركيبه وأنه من الأنثوسيانينات متعددة الأسيتيل من مشتقات الديلفينيدين الحاوية لبقايا المالونايل malonyl residue والكافيوآيل *E*-caffeoyl residues حيث تتخذ نوعين من شكل ترابط الجزيئات : داخل الجزيئي وما بين تراص الجزيئات للحامل الصبغي انظر الشكل رقم (٥,٦) (Mori, et al., 2006) .



الشكل رقم (٥,٦) . معقد صبغة الأنثوسيانين الفيسليانين ١ (phacelianin 1) حيث R عبارة عن مالونايل malonyl و C الكافيوآيل *E*-caffeoyl .

المصدر : بتصرف (Mori, et al., 2006) .

يختلف جنس *Crocus* التابع للفصيلة السوسنية Iridaceae عن كثير من أجناس ذوات الفلقة الواحدة في كونه يتميز بأزهار ذات ألوان متباينة: بيضاء وصفراء وبنية شاحبة وأرجوانية إلى ليلكية اللون وبنفسجية باهتة وزرقاء لوجود أنثوسيانينات أساسها الديلفينيدين لكن هذا الجنس لا يوجد به أزهار حمراء (Norbaek and Kondo, 1998).

تتميز بعض أصناف البرتقال *Citrus sinensis* (L.) Osbeck بأصناف يطلق عليها البرتقال الدموي blood orange varieties منشؤها حوض البحر الأبيض المتوسط، ولها عدة أسماء محلية مشهورة مثل الطاروكو Tarocco وسانجوينيللو Sanguinello وأحدثها مورو Moro الشكل رقم (٥,٧).

الشكل رقم (٥,٧). البرتقال الدموي

المصدر http://en.wikipedia.org/wiki/Blood_orange

جاءت التسمية العامة من لون عصيرها الأحمر الزاهي لوجود صبغات نباتية تم التعرف على خمس من الفلافانونات وست صبغات من الأنثوسيانينات كما في الجدول رقم (٥,٣) علاوة على فينولات أخرى ذكرت علاقتها بتضاد الأكسدة (Kelebek, *et al.*, 2008)، لكن هذه الأنثوسيانينات حساسة للحرارة وبالتالي ثباتها في المستخلصات بمرور الزمن (Kirca and Cemeroglu, 2003).

الجدول رقم (٥,٣). مركبات الفلافانونات والأنثوسيانينات في البرتقال الدموى صنفي مورو وسانقوينيللو .

م	الفلافانونات		الأنثوسيانينات	
١	ناريريوتين	Narirutin	٣-جلوكوسيد الدلفينيدين	Delphinidin 3-glucoside
٢	نارينجين	Naringin	٣-جلوكوسيد السيانيدين	Cyanidin 3-glucoside
٣	هيسبيريدين	Hesperidin	٣-(٦-مالونايل جلوكوسيد) الدلفينيدين	Delphinidin 3-(6"-malonyl glucoside)
٤	نيوهيسبيريدين	Neohesperidin	٣-(٦-مالونايل جلوكوسيد) السيانيدين	Cyanidin 3-(6"-malonyl glucoside)
٥	دايدايمين	Didymin	٣-أورثو-(٦-مالونايل جلوكوسيد) السيانيدين	Cyanidin 3-O-(6"-dioxalyl glucoside)
٦			٣-(٦-مالونايل جلوكوسيد) البيونيدين	Peonidin 3-(6"-malonyl Glucoside)

المصدر : **(Kelebek, et al., 2008)**

أما أعلى نسبة من الأنثوسيانينات في النباتات أو أجزاء منها فكانت في قشور بذور نبات فول الصويا *Glycine max* L. Merr. حيث قدرت بنحو ٢٠٠٠ مجم/١٠٠ جم (Choung, *et al*,. 2001) .

تستهلك بعض الأزهار كغذاء أو ملونات طبيعية للمواد الغذائية مما وجه بعض االبحوث لتحليل مثل هذه الأزهار لمعرفة مكوناتها ومنها أنواع في الفصيلة الخبازية Malvaceae مثل دراسة تمت على ٢٩ نوعاً وهجيناً من جنس الخطمي *Hibiscus* sp. ذي الأزهار الملونة، حيث أشير إلى وجود صبغات الأنثوسيانين الست الشائعة وثلاثة من الفلافونات (أشباه الفلافون) هي كيمبفيرول Kaempferol ومايريسيتين myricetin وكويرسيتين Quercetin ، وأكثرها انتشاراً في هذه المجموعة من الأنواع والهجن هو الكويرسيتين والسيانيدين (Puckhaber, *et al.*, 2002) .

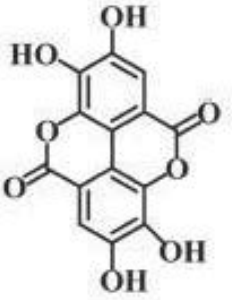
يستخلص عصير الرمان من الآرلة aril المحيطة بكل بذرة حيث يشكل نحو ٨٠٪ من الجزء القابل للأكل في ثمرة نبات الرمان *Punica granatum* L. التابعة للفصيلة اللاثيرية Lythraceae (وقد كان النبات يشكل فصيلة هي Punicaceae) حيث المعتقد أن موطنها الأصلي إيران وتزرع في مناطق أخرى مثل المناطق حول البحر الأبيض المتوسط وشمال الهند وغيرها، الشكل رقم (٥,٨).

الشكل رقم (٥,٨). ثمرة الرمان مفتوحة جزئيا حيث الجزء الصالح للأكل باللون الأحمر الزاهي وهو الآرلة Aril المحيطة بالبذرة .

المصدر : <http://en.wikipedia.org/wiki/Pomegranate>

تستهلك ثمار الرمان طازجة أو كعصير أو في المأكولات والمشروبات الأخرى بشكل واسع في مناطق نموها (El-Ashtoukhy *et al.*, 2008) . يحتوي العصير التجاري على نمطين من عديدات الفينول : أنثوسيانينات وهي المسؤلة عن اللون الأحمر الزاهي (مثل ديلفينيدين وسيانيدين وبيلارجونيدين) ، وتينانات قابلة للتميؤ (Gil, *et al.*, 2000) . تتبع هذه التينات مجموعة تينات الإيلاجين ellagitannins .التي تعد نشطة أحيائيا ومصدرها بشكل رئيسي قشرة الثمرة (Seeram, *et al.*, 2005) ، والمركب السائد في عديدات الفينول هذه هو مركب بيونيكالاجين punicalagin الذي عند تميؤه ينتج

حمض الإيلاجيك ellagic acid وتركيبه الكيميائي في الشكل رقم (٥,٩) أدناه (Seeram, *et al*, 2008) .



حمض الإيلاجيك Ellagic acid

الشكل رقم (٥,٩). التركيب الكيميائي لحمض الإيلاجيك .

المصدر : (Seeram, et al, 2008) .

تعزى خواص تضاد الأكسدة القوية إلى محتوى العصير العالي من أشكال البونيكالاجين punicalagin isomers (أكبر من ٢جم/لتر) ، يضاف إلى ذلك ما ذكر بأن لتنينانات الإيلاجين دور في النواحي الصحية للإنسان وأمراضه (Seeram, et al, 2008) . لقد زاد الإهتمام بفوائد ثمرة الرمان في الحاضر ويمكن الرجوع إلى الدراسات المدرجة في العنوان التالي http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=pomegranate حول دراسة تأثير مستخلص الرمان على بعض الأمراض .

تحوير ألوان الزهرة بتقنية الهندسة الوراثية

هناك عدد كبير من النباتات تتميز بمحدودية الألوان في أزهارها نتيجة إما لفقد مورث ضروري وإما لتخصصية إنزيم بناء الصبغة لمادة التفاعل (Johnson, *et al*., 2001).

من الضروري فهم التغيرات في ألوان الزهرة من حيث العوامل المؤثرة في ذلك قبل محاولة تحوير ألوان الزهرة باللون المطلوب. ومن هنا درست ألوان الزهرة في نبات

تتوافر فيه غالبية الألوان مثل نبات (*Pelargonium X domesticurn*. L.H. Bail.) والذي يكون أزهاراً بيضاء وتدرج من الألوان القشدية والأرجواني والبرتقالي والأحمر والبنفسجي الباهت والبنفسجي، ويفتقر هذا النبات إلى الأزهار الصفراء والزرقاء (Mitchell, *et al*., 1998). تشير الدراسة إلى وجود إما الفلافونولات وإما أشباه الكاروتين حيث أنها المسببة للألوان القشدية والأصفر الباهت بينما بقية الألوان يسببها خليط من الأنثوسيانينات . تتشكل هذه الأنثوسيانينات من جلوكوسيدات المجاميع الست المشهورة للأنثوسيانيات (الشكل رقم ٢,٥) (Fujioka,*et al*., 1991) .

لقد طرق مسار بناء الأنثوسيانينات وأشباه الكاروتين بواسطة العديد من العلماء وعرفت معظم إنزيمات هذا المسار وبمساعدة تقنيات التوليف الوراثي للحمض النووي DNA recombinant techniques (DNA) مما فتح المجال لمعرفة المورثات genes المشفرة لهذه الإنزيمات في كل من الذرة maize والبيتونيا Petunia وزهرة الخطم snapdragon . لقد ساهمت الهندسة الأيضية لهذه المسارات في تغيير ألوان بعض الأزهار إلى الألوان المفضلة والحصول على نباتات أكثر فائدة صحياً وتعد هذه الهندسة نموذجاً جيداً لدراسة كفاءة هذه الوسيلة (Cooper-Driver, 2001) و (Tanaka and Ohmuya, 2008) . نظريا، للحصول على زهرة بلون معين فيلزم مراكمة الصبغة (مركب أو مركبات) عن طريق تنظيم نشاط المسار المؤدي إلى تكوين الصبغة وتنظيم تثبيط المسار المؤدي إلى تكوين الصبغات (المركب أو المركبات) المنافسة ؛ أي يلزم تهيئة المورثات لأفضل تعبير في النبات المطلوب . وعمليا تتطلب الهندسة الأيضية بعض التقنيات :

١- عزل المورث المفيد.

٢- تطوير نظام للتحويل إلى النبات المستهدف، كما روجع في بعض المقالات مثل (Tanaka, *et al*., 2005a).

٣- التنظيم المعقد لتعبير المورث في النبات المستهدف (Tanaka and Ohmuya, 2008) .

من أوائل الدراسات الناجحة في الحصول على أزهار ذات ألوان غير موجودة طبيعياً في النوع النباتي ما تم نشره عن تكوين أزهار جديدة في لونها في نبات البتونيا وهو اللون البرتقالي عن طريق هندسته أيضيا بتعبير مورث من نبات آخر (الذرة maize) في نبات البتونيا (Meyer, *et al.*, 1987). لقد نشط نشر مثل هذا المقال البحوث الأخرى الهادفة إلى الوصول إلى نباتات ذات أزهار بألوان جذابة ومختلفة عن ما هو موجود في الأصناف الطبيعية أو المدجنة بواسط تربية النبات التقليدية {انظر جدول رقم ١ من مراجعة (Forkmann and Martens, 2001) لمجمل ما توصلت إليه البحوث حتى عام ٢٠٠٠م}.

أما استخدام الهندسة الوراثية بشكل عام ومن ضمنها الهندسة الأيضية فقد ركزت فيها غالبية البحوث على الوصول إلى تكوين الأزهار البيضاء والحمراء/برتقالي والصفراء والزرقاء .

من أبسط الأمور المباشرة في الحصول على أزهار بيضاء من أصناف ذات أزهار ملونة هو إيقاف فعالية (تخميد) silencing مسار بناء الأنثوسيانينات وقد طرق العلماء طرقاً منها: إما بإيقاف نشاط inactivation إنزيم رئيسي وإما بتنظيم عدم النسخ لمورثات المسار . لقد نجحت طريقة إيقاف نشاط الإنزيم الرئيسي سينثيز الشالكون chalcone synthase في عدد من الأجناس وتم التوصل إلى تكوين أزهار بيضاء، انظر مثلا نبات *Torenia fournieri* Lind. (Aida, et al., 2000). يشوب استخدام هذه الطريقة بعض المشاكل وهي أن إخماد مسار بناء الأنثوسيانينات بإيقاف نشاط الإنزيم الرئيسي سينثيز الشالكون قد يؤدي إلى العقم في بعض النباتات و أنها تكون أكثر حساسية للإجهادات البيئية (Yu, *et al.*, 2006). ويستنتج من دراسة أخرى على نبات *Torenia hybrida* استهدف الإخماد لنشاط إنزيم anthocyanidin synthase بطرق "إخماد المورث بعد النسخ post-transcriptional gene silencing" الثلاث :

antisense suppression
sense suppression
RNAi suppresion

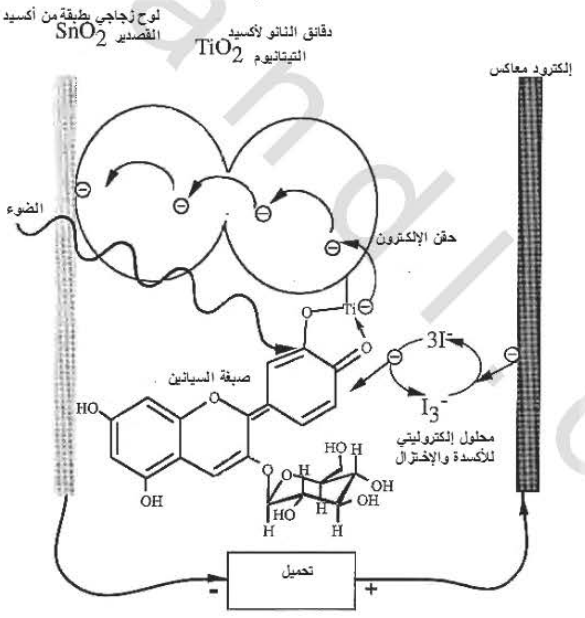
فكانت النتيجة الحصول على أزهار بيضاء ثابتة اللون (مدة ثلاث سنوات في غرفة النمو) في نصف النباتات المهندسة بالطريقة الثالثة RNAi suppresion ، بينما في الطريقتين الأخريتين كانت الأزهار البيضاء قليلة أو معدومة (Nakamura, et al., 2006) . جرت محاولة أخرى باستهداف إنزيمي ٣-هيدروكسيليز أشباه الفلافون flavonoid-3′-hydroxylase, F3′H و ٤-ريدكتيز ثنائي هيدرو الفلافنول Dihydroflavonol 4-reductase, DFR وكانت النتيجة أن إيقاف نشط إنزيم F3′H في نبات *Dianthus caryophyllus* L. cv. Eilat, Coket, Desio قد أدى إلى خفض مستويات صبغات الأنثوسيانين وفي الوقت نفسه أدى إلى زيادة في شذا الأزهار في النباتات المهندسة (Zuker, *et al*,. 2002) .

تفتقر بعض النباتات إلى الأزهار ذات اللون البرتقالي إلى الأحمر الطوبي وهو لون الأنثوسيانين البيلارجونيدين نتيجة لعدم اختزال ثنائي هيدروكيمبفيرول dihydrokaempferol ، لكن باستخدام مورث من نباتات أخرى مثل نبات الذرة أو الورد أمكن التوصل إلى تكوين أزهار برتقالية-حمراء في البتونيا *petunia* انظر (Mizutani, et al., 2003) .

تتميز نباتات الورد الحديثة *Rosa hybrida* الناتجة من التهجين بشكل موسع بعدم وجود أزهار بنفسجية إلى الزرقاء لغياب الأنثوسيانينات التي أساسها الديلفينيدين. يعود ذلك إلى غياب إنزيم في مسار البناء وهو إنزيم هيدروكسيليز ٣′، ٥′ اشباه الفلافون flavonoid 3',5'-hydoxylase (F3'5'H) (Katsumoto, *et al*., 2007). في دراسة موسعة تم مسح مئات الأصناف التجارية لاختيار العينة المناسبة لتحوير مسار بناء الأنثوسيانين ، وقد وقع الاختيار على مسار بناء الديلفينيدين وذلك بتعريف

الصبغات الموجودة لتأثير البعض كصبغات مساعدة وقياس الرقم الهيدروجيني للفجوة لتأثيره في اللون النهائي . يذكر الباحثون أنه بتثبيط مورث إنزيم ريدكتيز ٤-ثنائي هيدروكسي الفلافونول (*DFR*) dihydroflavonol 4-reductase وزيادة تعبير مورثه من نبات السوسن *Irisxhollandica DFR* وكذلك مورث نبات البنفسج *viola F3'5'H* في نبات الورد (Katsumoto, *et al.*, 2007) قد أدى إلى تراكم الديلفينيدين في توجيات نبات الورد وهي نتيجة لم يتم التوصل إليها بطريقة التهجين . يضيف الباحثون أن صفة مراكمة الديلفينيدين تورث في الأجيال التالية .

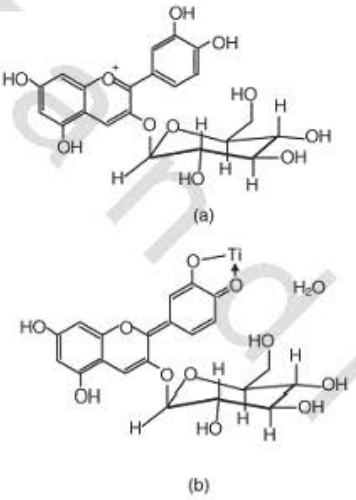
من التطبيقات الممكنة لاستغلال الصبغات النباتية طريقة استخدام صبغة الأنثوسيانين كخلايا ضوئية عضوية ، لقدرة الصبغة على امتصاص الضوء وتحويله إلى إلكترونات (Cherepy, *et al.*, 1997) الشكل رقم (٥,١٠) .



الشكل رقم (٥,١٠) . مخطط عام لأساسيات عمل الخلية الشمسية العضوية باستخدام صبغة الأنثوسيانين في إلكترود بلورات النانو لأكسيد التيتانيوم كمستشعر (راجع المصدر لتفاصيل أكثر) .

المصدر : (Cherepy, et al., 1997) بتصرف .

إن استخدام الصبغة بدلا من خلايا السيليكون الضوئية التقليدية ذو مزايا ومنها وفرة الأنثوسيانينات والكفاءة المتوقعة في حدود ٩٠٪ وإمكانية ثنيها (Gratzel, 2003) . لقد استخدمت عدة صبغات طبيعية في الخلايا الضوئية كمستقبلات للإضاءة وتمرير الطاقة (إلكترونات) إلى حزمة التوصيل ، لكن العديد منها سريع التكسر ضوئيا ولذا فإن مستخلص الصبغة من ثمرة نبات الرمان *Punica granatum* L. الحاوية على السيانين (الفلافيليوم flavylium) تكون معقدا مخليبا قويا مع أكسيد التيتانيوم TiO_2 (الشكل رقم ٥,١١) وذا كفاءة تحويل أفضل (Dai and Rabani, 2002; Sirimanne, *et al.*, 2006) .



الشكل رقم (٥,١١) . تكوين معقد الصبغة {الفلافيليوم flavylium (a) (٣-جلوكوسيد السيانيدين cyanadin 3-glucoside)} مع التيتانيوم (b) .

المصدر: (Sirimanne, et al., 2006)

يضاف لقائمة التطبيقات، تطبيق آخر وهو ما استنتجته دراسة على بادرات نوعين من نبات الأوكالبتوس *Eucalyptus globulus* Labill. و *E. nitens* [Deane and

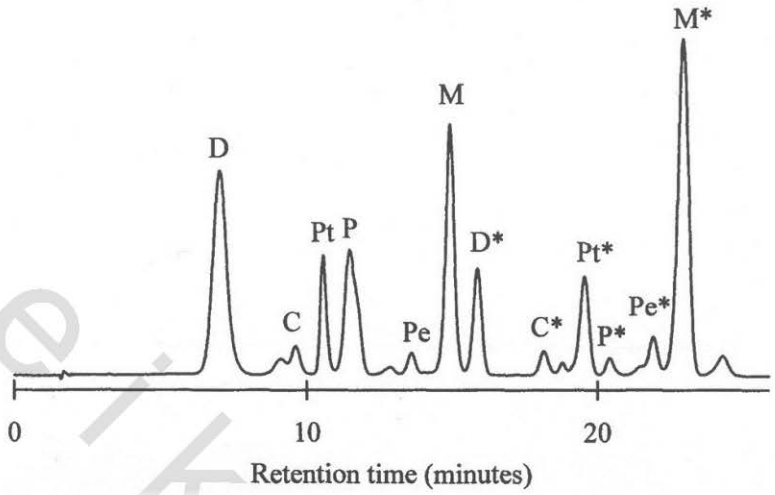
(Maiden] Maiden بأن قياس تراكم الأنثوسيانيات في النبات يمكن استخدامه كوسيلة أو معيار لتحديد المتطلبات الفسيولوجية أو مؤشرا لمدى التقسية للبرودة في البادرات (close, *et al*., 2004) .

طرق التعرف على الأنثوسيانينات

تؤثر طريقة الآستخلاص للأنثوسيانيات في بقاء المركبات سليمة وعدم تفككها وبالتالي إعطاء نتائج مختلفة (Revilla, *et. al*.., 1998) . استخدمت في السابق طرق الكشف اللونية (Harborne,1958) والتحليل اللوني الورقي paperchromatography للتعرف على مجاميع الأنثوسيانينات.

هناك طريقة لتقدير تركيز الأنثوسيانينات وحيدة الجلوكوسيد وتسمى طريقة "الرقم الهيدروجيني التفاضلي pH differential method " أوردها أحد البحوث (McGhie, *et.al*. 2003). تتلخص هذه الطريقة في استخدام جلوكوسيد السيانيدين كمادة قياسية وقراءة امتصاص المستخلص عند الطول الموجي ٥١٠ ورقم هيدروجيني ١,٠ والطول الموجي ٧٠٠ نانومتر ورقم هيدروجيني ٤,٥ وباستخدام معامل الإطفاء (ε) extinction coefficient ٢٦٩٠٠ لتر. سم$^{-١}$ جزيئي $^{-١}$ والوزن الجزيئي ٤٤٩,٢ جم. جزيئي $^{-١}$.

لكن بتقدم التقنيات التحليلية فغالبية الدراسات تستخدم التحليل اللوني السائل عالي الكفاءة HPLC وقياسات تذبذب الطنين الذري المغناطيسي NMR measurements في الكشف عن الأنثوسيانينات وتقديرها والتعرف على التركيب أو استخلاصها صناعياً كما في تنينات الإيلاجين ellagitannins (Seeram, et al., 2005) . وكمثال لنتائج التحليل باستخدام HPLC انظر الشكل رقم (٥,١٢) للأنثوسيانيات المستخلصة من نبات *Pelargonium* (*Pelargonium* X *domesticurn*.L.H.Bail.) حيث تتضح المجموعات الشائعة من الأنثوسيانينات (Mitchell, et.al. 1998) .



الشكل رقم (٥,١٢) . رسم يوضح التركيز النسبي وزمن الاستبقاء قبل اكتشافه في العمود للأنثوسيانينات حيث الرموز تمثل التالي :

D – الديلفينيدين delphinidin	**بعد ٧,١٤ دقيقة**
C – السيانيدين cyanindin	**بعد ٩,٧٣ دقيقة**
Pt – البتيونيدين petunidin	**بعد١٠,٦٩ دقيقة**
P – البيلارجونيدين pelargonidin	**بعد ١١,٦١ دقيقة**
Pe – البيونيدين peonidin	**بعد ١٣,٧٤ دقيقة**
M – المالفيدين malvidin	**بعد ١٥,٠٨ دقيقة**

أما بقية القمم فهي مشتقات أخرى .

المصدر (Mitchell, et.al. 1998)

والخلاصة أنه من الناحية البشرية فإن مركبات الأنثوسيانينات الموجودة في الثمار والفواكه تعد مفيدة للصحة وذات نشاطات حيوية مختلفة وكثيرة . وحتى الوقت الراهن لم يذكر في المجال العلمي أن هناك أي تأثيرات عرضية جانبية من استهلاكها ومن ذلك فإنها ذات إمكانيات كبيرة كمواد غذائية فعالة أو من ناحية أستخدامها مع الأدوية العلاجية.

obeikandl.com