

## الأنثوسيانينات

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

### الأنثوسيانينات

#### المقدمة

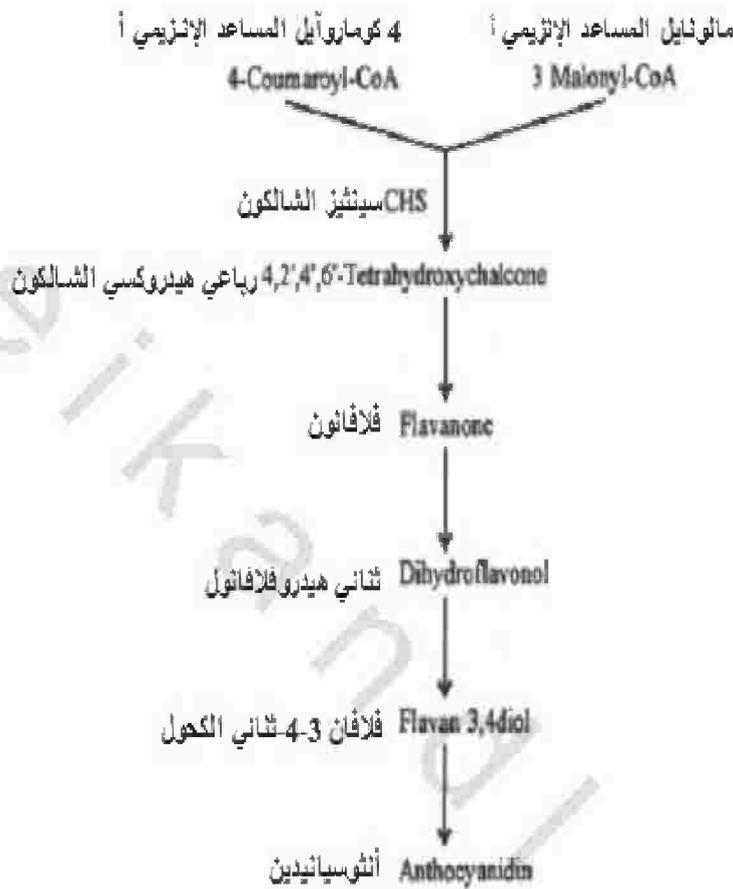
تعد الأنثوسيانينات Anthocyanins ملونات طبيعية وأكثر الصبغات النباتية جذباً لعين الإنسان حيث تتميز بمدى واسع من الألوان من الأحمر إلى الأزرق/فوق البنفسجي، مثل بعض الألوان الجذابة للخضراوات والأزهار والفواكه، وهي أيضاً من أهم الصبغات النباتية بعد الكلوروفيل. لقد اشتق الاسم من اليونانية فكلمة *anthos* تعني 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 المجموع النباتية الأخرى كالسراخس والحزازيات (Anderson, 1992). تعتبر الأنثوسيانينات طائفة من أشباه الفلافون حيث مسار بنائها جزء من مسار بناء أشباه الفلافونيات الأخرى وألوانها المميزة تتأثر بوجود الصبغات المساعدة والأيونات والرقم الهيدروجيني.

### بناء وتركيب الأنثوسيانينات الكيميائي

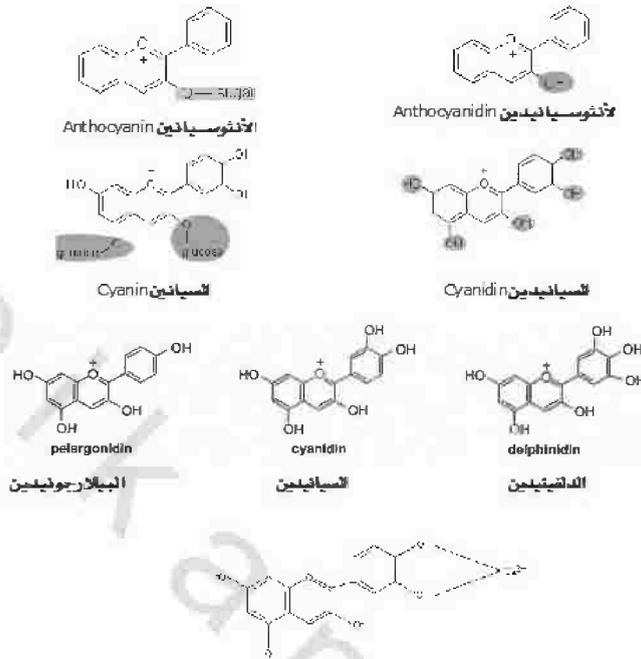
تعد الأنثوسيانينات كيميائياً من مركبات أشباه الفلافون المكونة من ١٥ ذرة كربون (حلقتين بنزين مربوطة بسلسلة من ثلاث ذرات كربون). لقد ورد ذكر نظام ترقيم الحلقات وتسميتها في فصل أشباه الفلافون (انظر الشكل رقم ١، ٤ والشكل رقم ٢، ٤).

يساهم مسار حمض الشيكيميك في تكوين جزء من مكونات جزيئات الأنثوسيانين وهو مركب ٤-كومارويل 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 ١، ٥)، وهذا يتحول إلى جلوكوسيد بواسطة إنزيم ٣-أرثو-جلوكوزايل ترانسفيريز Flavonoid 3-O-glucosyl transferase (3GT; EC 2.4.1.115) ، ويسمى هذا الجلوكوسيد بالأنثوسيانين. بالطبع يتكون في هذا المسار عدد من المركبات الوسيطة والتي يتكون من بعضها أشباه الفلافون الأخرى (Forkmann and Martens, 2001).



الشكل رقم (٥، ١) . ملخص مسار بناء الأنثوسيانيدين . (مقتبس من Oozeki, et al., 1999) .

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



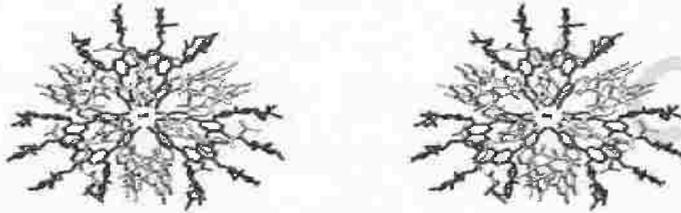
المركب المخليبي مع أيون الكالسيوم

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

من ناحية أخرى قد تكون الأنثوسيانينات مركبات مخليبية مع بعض أيونات العناصر كما في الشكل رقم (٥،٢) . مما يؤدي تكوين المركبات المخليبية ما وُجد في دراسة على نبات *Brassica juncea* وارتباط أيون الموليبدنوم 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 cyamus* بأن الزهرة تحوي بروتوسيانين protocyanin وهو جزيء كبير يتشكل من :

- ١-٦ جزئيات من لميانيدين ٣-أرثو (٦-أورثوجلووكوسيد السكسينيل) -٥-  
 أورثو-جلوكوسيدنا ، (cyanidin 3-O-(6-O-succinylglucoside)-5-O-glucoside) .  
 ٢-٦ جزئيات من الفلافون أليجنتين ٧-أورثو-جلوكوبورونيد-٤-  
 أورثو- (٦-أورثو-مالوناييل جلوكوسيد) ، (6-O-(4'-O-glucuronide-7-O-apigenin  
 Omalonylglucoside)) .  
 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 صلبة يطلق عليها أحيانا "البلورات الزرقاء" "Blue crystals" وهي عبارة عن بروتين غير مرتبط بنشاء الفجوة ويربط الأنتوسيانينات بما 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 واحداً (Markham, et al., 2000) ، وقد يكون التركيب أكبر في عدد الجزئيات المرتبطة (Yu, et al., 2006) .



الشكل رقم (٥،٣) . التركيب البلوري لعقد الأنتوسيانين كما يظهر بالألوان السببية ، البروتوسيانين حيث الأزرق أنتوسيانين ، 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 ، مثلاً نحو اللون الأزرق عند الارتباط بأيونات الحديد  $Fe^{3+}$  والمغنيسيوم  $Mg^{2+}$  في أزهار نبات *Centaurea cyanus* (Takeda, et al., 2005) وأزهار نبات *Meconopsis grandis* (Yoshida, 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 و ٦,٥ 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 C٥ ، 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 لأشياء الفلافونات عامة :

- ١- الرقم الهيدروجيني للفجوة .
- ٢- الصبغات المساعدة وأيونات العناصر ،
- ٣- تكوين معقد الصبغة مع العناصر كما ورد سابقاً في الشكل رقم (٥,٣) ،

٤- تنظيم النسخ لإنزيمات مسار أشباه الفيناييل بروبان phenylpropanoid pathway ومنها الأثوسيانينات ،

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

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

تتهدم الأثوسيانينات 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 الأثوسيانينات 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 الأثوسيانين (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 الأثوسيانينات

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

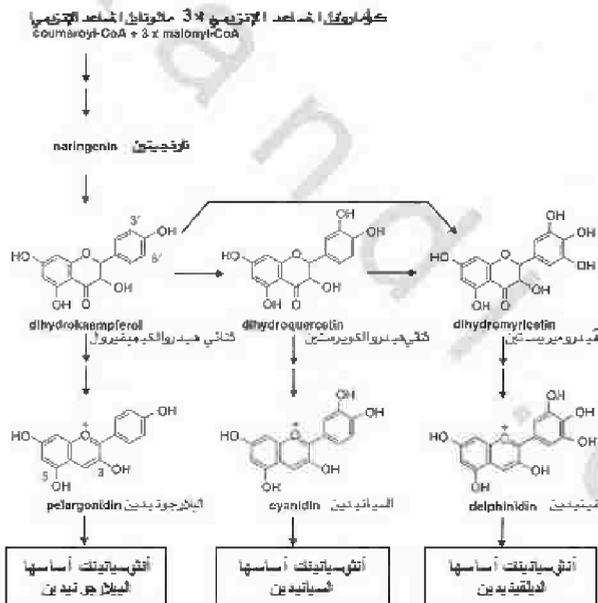
- ١- الدلفيندينات delphinidin .
- ٢- السيانيدينات cyanidin .
- ٣- البتيونيدينات petunidin .

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 الأنثوسيانينات 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 وللصبيط حذفت أسماء الإرتيمات الموجودة في أصل المصدر وكذلك بعض التشعبات من مسار بناء الأنثوسيانينات الأصلي .

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

من ناحية أخرى قد تصنف هذه الأثوسيانينات حسب الارتباط 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 الأثوسيانينات الطبيعية حتى الآن (Andersen and Jordheim, 2006).

#### أهمية الأثوسيانينات

تتوسع إحدى المراجعات في إبراز أهمية الأثوسيانينات ودورها الأحيائي وأنها تؤثر معنويًا في طريقة استجابات الورقة للإجهادات البيئية . تشير هذه المراجعة إلى أن الأثوسيانينات مرتبطة بتحمل الإجهادات المختلفة من الجفاف والأشعة فوق البنفسجية والعناصر الثقيلة ومقاومة آكلات الأعشاب والمرضات . تضيف المراجعة أيضا دور الأثوسيانينات 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 الأثوسيانينات الطبيعية في خصائص ثبات الحمض النووي DNA وعدم تأثر الحمض بالأشعة فوق البنفسجية 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 catechin 3-glycosides من الفلافونولات flavonols و الكاتيكين catechin والإبيكاتكين epicatechin والبروسيانيدين من 3-أحادي كحول الفلافان flavan-3-ols ، أما في الأصناف الزراعية ذات اللون الأحمر فيوجد الأنثوسيانين مثل 3-جلوسيدات السيانيدين cyanidin 3-glycosides بالإضافة إلى مشتقات حمض السيناميك hydroxycinnamic acid والمثلة 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 البنفسجية إلى أن جلوسيدات الكويرستين 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 منحصرأ 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-جلانكوسيد السيانيدين (Ubi, 2004) .

تميز بعض الفصائل النباتية بثمار ذات ألوان مختلفة من البرتقالي إلى الأسود مثل الفصيلة الحماوية 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 3-sambubioside-5-cyanidin glucoside ومشتقاته ، لكن الأنواع في الجنس الآخر 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 البنفسجية ب UV-B (الطول الموجي ٢٨٠ إلى ٣٢٠ نانومتر) والهدف الرئيسي هو بروتين ، ذو الوزن الجزيئي ٣٢ كيلودالتون 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-جلوكوبيرانوسيد 5-carboxypyranocyanidin 3-O-b-glucopyranoside	كربوكسي بايرانو سيانيدين carboxypyranocyanidin
٥-كربوكسي بايرانو سيانيدين ٣-أرثو-(٦"-أرثو-مالوناييل-ب-جلوكوبيرانوسيد 5-carboxypyranocyanidin 3-O-(6"-O-malonyl-b-glucopyranoside)	كربوكسي بايرانو سيانيدين carboxypyranocyanidin
شبيه البتيونيدين petunidin analogous	كربوكسي بايرانو سيانيدين carboxypyranocyanidin
شبيه المالفيدين* malvidin analogous	كربوكسي بايرانو سيانيدين carboxypyranocyanidin

\* يسمي 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 تزهر النباتات متساقطة الأوراق بألوان تسمى ألوان الخريف من الأحمر والأصفر والبني نتيجة لتراكم صبغات الأنثوسيانينات وأشباه الكاروتين والتينينات على التوالي .انظر الشكل رقم (٥,٥) للون الورقة في نبات السماق *Rhus sp.* . تجمل دراسة بيئية لهذه الظاهرة (Lee, et al., 2003) في إحدى 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](http://www.cartage.org.lb/~Chemistryofautumn.htm)

تشير نتائج دراسة على السوقية تحت الفلجية لبادرات الفجل *Raphanus sativus* إلى أن الموقع الرئيسي لتراكم الأنثوسيانين هو الدائرة المحيطية *pericycle* والاسم العام لهذه المركبات هو الرافانوسينات *raphanusins* وأنه يُستَحث بناؤها بالسكرز (١٧٥ ميلليجزيثي) (Hara, et al., 2003). وتضيف الدراسة أيضاً إلى أن هذه المعاملة بالسكرز نشطت معنوياً إنزيمين في مسار بناء الأنثوسيانين وهما سيتيز الشالكون *chalcone synthase* وسيتيز الأنثوسيانيدين *anthocyanidin synthase*.

من حيث الرقم الهيدروجيني فمحلول السيانيدين ، على سبيل المثال ، لونه أحمر في الوسط الحمضي وينفسجياً 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 نوعاً 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 القروود 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](http://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 تتمص 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 البروميلينية 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 استحداث تكوين الأنثوسيانينات في أنسجة النباتات التي ليس بها هذه الصبغات عند زراعتها طبيعياً ومعملياً بزراعة الأنسجة. يمكن استحداث 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 : البيلاجونين (برتقالي إلى أحمر طوي) والسياندين (أحمر إلى قرنفلي) والديلفيندين (أرجواني إلى الأزرق) (Tanaka, et al., 1998). يستفاد من دراسة مسح لثمار ٥٢ نوعاً تابعة لسبعة عشر فصيلة من كاسيات البذور وجود ثمانية جلووكوسيدات أشهرها ٣-جلوكوسيد السياندين cyanidin 3-monoglucoside ، وبصورة عامة تتشابه الأنثوسيانينات في الجنس الواحد (Ishikura, 1975) . تم التعرف على سبعة عشر مركباً من السيانيدات في الطبيعة كما يتضح من الجدول رقم (٢، ٥) وألوانها (Kong, et al., 2003) .

الجدول رقم (٢، ٥) . مركبات الأنثوسيانيد الطبيعية وألوانها المميزة .

م	الاسم المعرب	الاسم المقابل	اللون
١	أبيجينيندين	Apigeninidin	برتقالي
٢	أورانتينيندين	Aurantininidin	برتقالي
٣	كابنيسينيندين	Capensininidin	أحمر ضارب للزرقة
٤	سيانيدين	Cyanidin	أحمر برتقالي
٥	ديلفينيندين	Delphinidin	أحمر ضارب للزرقة
٦	يوروينيندين	Europininidin	أحمر ضارب للزرقة
٧	هيرسيوتيندين	Hirsutidin	أحمر ضارب للزرقة
٨	هيدروكسي سيانيدين	6-Hydroxycyanidin	أحمر
٩	ليوتولينيندين	Luteolinidin	برتقالي
١٠	مالفيدين	Malvidin	أحمر ضارب للزرقة
١١	٥-ميثيل سيانيدين	5-Methylcyanidin	أحمر برتقالي
١٢	بيلاجونيندين	Pelargonidin	برتقالي
١٣	بيونيدين	Peonidin	أحمر برتقالي
١٤	بيتونيندين	Petunidin	أحمر ضارب للزرقة
١٥	بالشيليدين	Pulehellidin	أحمر ضارب للزرقة
١٦	روزينيدين	Rosinidin	أحمر
١٧	ترايسيتينيندين	Tricetinidin	أحمر

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

تعود الفروق بين مركبات الأنثوسيانينات 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 غالباً 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 محتوى الأنثوسيانينات في صنفي Elstar و Jonagold إزداد في بداية

النمو ثم انخفاض 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 الحبازية 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<sub>3</sub> و البنزاييل 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 (PAL, EC, 4.3.1.1) phenylalanine ammonia lyase وتيروسين أمونيا لاييز (TAL, EC, 4.3.1) tyrosine ammonia lyase والفينولات الكلية في المجموع الخضري (Hassanein, et al., 2005).

ويعد مركب cyanidin 3-glycoside من أكثر الأنثوسيانينات انتشاراً. والمثل على ذلك ، إن الصبغة المستولة عن اللون الأحمر لثمار بعض التفاح يعو إلى وجود واحداً من جلوكوسيدات الأنثوسيانين وهو 3-جالاكتوسيد السيانيدين 3-cyanidin-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 والبادنجان وأصناف من العنب والزبيب الأسود والكرنب الأحمر. من ناحية أخرى تقل وفرة الأنثوسيانينات في بعض النباتات مثل الموز والهيلون والبسلة والبطاطس وقد لا تكون 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

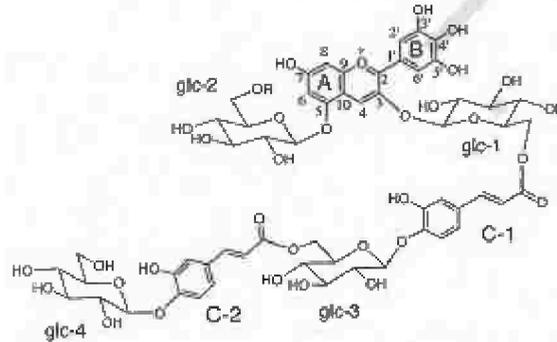
الإصطباغ في الأزهار وتعزوها إلى بعض العوامل ومنها:

- 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 بأستيل المركبات العطرية (تكوين إيستر مع مشتق من حمض السيناميك).
  - التحول بأستيل الأحماض الأليفاتية ثنائية المجموعة الكربوكسيلية (المالونات).
  - وجود الفلافون (أي صبغة أخرى مساعدة co-pigment).

- التخليب بالعناصر (المغنيسيوم والحديد).

- التخير في الرقم الهيدروجيني pH في الفجوة
- شكل الخلية

يُميز اللون الأزرق غالبية الأزهار التي أساس لونها الأنتوسيانينات ، لكن دراسة آلية تميز اللون تبدو قليلة ، ففي نباتي *Centaurea* و *Comnelina communis* *cyanus* نوات الأزهار الزرقاء يتكون اللون بمعدلات الجزئيات الكبيرة بواسطة أيونات المعادن (Kondo *et al.*, 1992) و (Kondo *et al.*, 1998) على التوالي . أما في نبات *morning glory*, *Ipamia* فيكون بارتفاع الرقم الهيدروجيني للفجوة إلى ٧,٧ (Yoshida *et al.*, 1995) ، لكن في نبات *Gentiana makinoi* فيكون بواسطة أنتوسيانينات متعددة الأستيل *polyacylated anthocyanins* (Goto and Kondo, 1991) . لقد درست آلية تميز اللون الأزرق في نبات *Phacelia campanularia* حيث الأنتوسيانين هو الفيسليانين ١ (phaceliamin 1) وحدد تركيبه وأنه من الأنتوسيانينات متعددة الأستيل من مشتقات الديلفينيدين الحاوية لبقايا المالتوناييل *malonyl residue* والكافويأيل *E-caffeoyl residues* حيث تتخذ نوعين من شكل ترابط الجزئيات : داخل الجزئي وما بين تراص الجزئيات للحامل الصبغي انظر الشكل رقم (٥, ٦) (Mori, *et al.*, 2006) .



الشكل رقم (٥, ٦) . مقد صيغة الأنتوسيانين الفيسليانين ١ (phaceliamin 1) حيث R عبارة عن مالتوناييل *malonyl* و C الكافويأيل *E-caffeoyl* .

المصدر : بصرف (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 ليلية 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](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 الفلافونوات والأنتوسيانينات في البرتقال الدموي صنفى مورو وسانقوييللو .

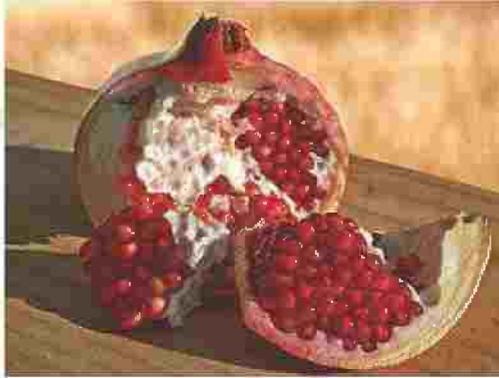
م	الفلافونوات	الأنتوسيانينات
١	Narirutin ناريريوتين	٣-جلوكوسيد الدلفينيدين
٢	Naringin نارينجين	٣-جلوكوسيد السيانيدين
٣	Hesperidin هيسبيريدين	٣-(٦-مالوناييل جلوكوسيد) الدلفينيدين
٤	Neohesperidin نيوهيسبيريدين	٣-(٦-مالوناييل جلوكوسيد) السيانيدين
٥	Didymin دايدامين	٣-أورثو-(٦-مالوناييل جلوكوسيد) السيانيدين
٦		٣-(٦-مالوناييل جلوكوسيد) البيونيدين

المصدر : (Kelebek, et al., 2008)

أما أعلى نسبة من الأنتوسيانينات 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 البحوث لتحليل مثل هذه الأزهار لمعرفة مكوناتها ومنها أنواع في الفصيلة الحبابية Malvaceae مثل دراسة تمت على ٢٩ نوعاً وهجيناً من جنس الحظمي *Hibiscus* sp. ذي الأزهار الملونة، حيث أشير إلى وجود صبغات الأنتوسيانين الست الشائعة وثلاثة من الفلافونوات (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 الأرة aril المحيطة بكل بذرة حيث يشكل نحو ٨٠٪ من الجزء القابل للأكل في ثمرة نبات الرمان *Punica granatum* L. التابعة للفصيلة اللاليرية Lythraceae (وقد كان النبات بشكل فصيلة هي Punicaceae) حيث يعتقد أن موطنها الأصلي إيران وتزرع في مناطق أخرى مثل المناطق حول البحر الأبيض المتوسط وشمال الهند وغيرها، الشكل رقم (٥,٨).

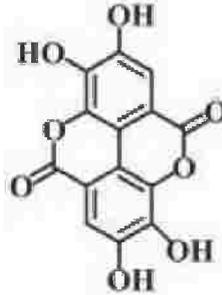


الشكل رقم (٥,٨). ثمرة الرمان مفروعة جزئياً حيث الجزء الصالح للأكل باللون الأحمر الزاهي وهو الأرة aril المحيطة بالبذرة.

المصدر : <<https://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 محطين من عديدات الفينول: أنثوسيانينات وهي المسؤولة عن اللون الأحمر الزاهي (مثل ديلفينيدين وسيانيدين وبيلارجونيدين) ، وتينانات قابلة للتمييز (Gil, et al., 2000). تتبع هذه التينينات مجموعة تينينات الإيلاجين ellagitannins التي تعد نشطة أحياناً ومصدرها بشكل رئيسي قشرة الثمرة (Seeram, et al., 2005) ، والمركب السائد في عديدات الفينول هذه هو مركب بيونيكالاجين punicalagin الذي عند تحميوه ينتج

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



حمض الإيلاجيك Ellagic acid

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

المصدر : (Secram, et al, 2008) .

تعزى خواص تضاد الأكسدة القوية إلى محتوى العصير العالي من أشكال البيونيكالاجين *punicalagin isomers* (أكبر من ٢-٣ جم/ لتر) ، يضاف إلى ذلك ما ذكر بأن لتينانات الإيلاجين دور في التواحي الصحية للإنسان وأمراضه (Secram, et al, 2008) . لقد زاد الاهتمام 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 .

### تحويل ألوان الزهرة بتقنية المتلصقة الوراثية

هناك عدد كبير من النباتات تتميز بمحدودية الألوان في أزهارها نتيجة إما لفقد مورث ضروري وإما لتخصصية إنزيم بناء الصبغة مادة التضائل (Johnson, et al, 2001). من الضروري فهم التغيرات في ألوان الزهرة من حيث العوامل المؤثرة في ذلك قبل محاولة تحويل ألوان الزهرة باللون المطلوب. ومن هنا درست ألوان الزهرة في نبات

تتوافر فيه غالبية الألوان مثل نبات (*Pelargonium X domesticum*. 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 للأنثوسيانينات (الشكل رقم ٥، ٢) (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) مما فتح المجال لمعرفة المورثات genes المشفرة لهذه الإنزيمات في كل من الذرة maize والبيتونيا *Petunia* وزهرة الخنم 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). نظرياً، 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. وعملياً 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 أيضاً 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 بواسطة 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 مثلاً 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). ويستتج 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 suppression

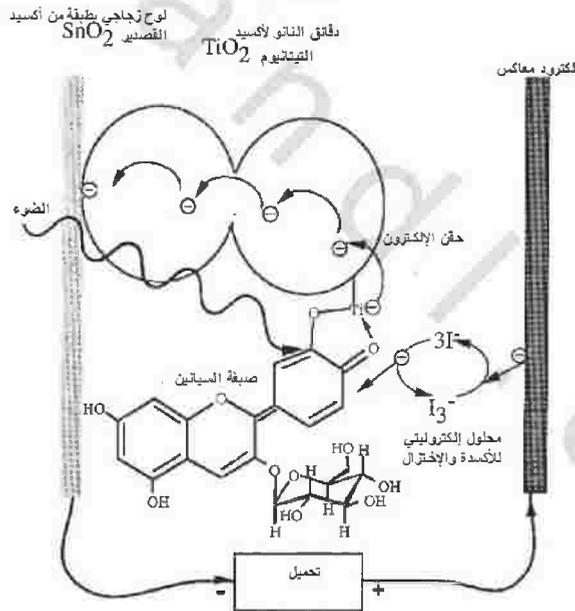
فكانت النتيجة الحصول على أزهار بيضاء ثابتة اللون (مدة ثلاث سنوات في غرفة النمو) في نصف النباتات المهندسة بالطريقة الثالثة RNAi suppression ، بينما في الطريقتين الأخرتين كانت الأزهار البيضاء قليلة أو معدومة (Nakamura, et al., 2006). جرت محاولة أخرى باستهداف إنزيمي ٣-هيدروكسيليز أشباه الفلافون 3'-flavonoid hydroxylase, F3'H و ٤-ريدكتيز ثنائي هيدرو الفلافونول 4-Dihydroflavonol reductase, DFR وكانت النتيجة أن إيقاف نشاط 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 شدة الأزهار في النباتات المهندسة (Zuker, et al., 2002).

تفتقر بعض النباتات إلى الأزهار ذات اللون البرتقالي إلى الأحمر الطوي وهو لون الأنثوسيانين البيلارجونيدين نتيجة لعدم اختزال ثنائي هيدروكيميبيرول dihydrokaempferol ، لكن باستخدام مورث من نباتات أخرى مثل نبات الذرة أو الورد يمكن 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 (F3'5'H) flavonoid 3',5'-hydroxylase (Katsumoto, et al., 2007). في دراسة موسعة تم مسح مئات الأصناف التجارية لاختيار العينة المناسبة لتحويل مسار بناء الأنثوسيانين ، وقد وقع الاختيار على مسار بناء الديلفينيدين وذلك بتعريف

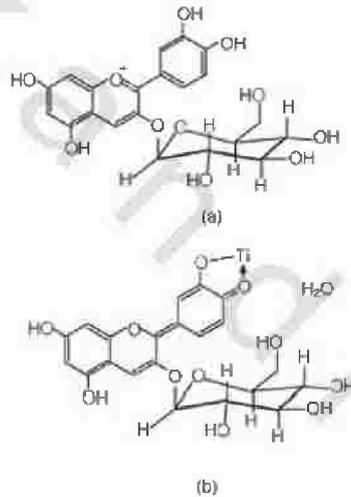
الصبغات الموجودة لتأثير البعض كصبغات مساعدة وقياس الرقم الهيدروجيني للفجوة لتأثيره في اللون النهائي . يذكر الباحثون أنه بتثبيط مورث إنزيم ريدكتيز 4-ثنائي هيدروكسي الفلافونول (DFR) *dihydroflavonol 4-reductase* وزيادة تعبير مورثه من نبات السوسن *Irisxhollandica* DFR وكذلك مورث نبات البنفسج *viola F3'5'H* 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 الأنتوسيانين كخلايا ضوئية عضوية ، لقدرة الصبغة على امتصاص الضوء وتحويله إلى إلكترونات (Cherepy, et al., 1997) الشكل رقم (١٠، ٥) .



الشكل رقم (١٠، ٥) . مخطط عام لأساسيات عمل الخلية الشمسية العضوية باستخدام صبغة الأنتوسيانين في إلكترود بلورات النانو لأكسيد التيتانيوم كمتشعشع (راجع المصدر لتفاصيل أكثر) .  
المصدر : (Cherepy, et al., 1997) بتصريف .

إن استخدام الصبغة بدلا من خلايا السيليكون الضوئية التقليدية ذو مزايا ومنها وفرة الأثوسيانينات والكفاءة المتوقعة في حدود ٩٠٪ وإمكانية ثنيها (Grazzel, 2003). لقد استُخدمت عدة صبغات طبيعية في الخلايا الضوئية كمستقبلات للإضاءة وتمير الطاقة (إلكترونات) إلى حزمة التوصيل، لكن العنيد منها سريع التكرس ضوئيا ولذا فإن مستخلص الصبغة من ثمرة نبات الرمان *Punica granatum* L. الحاوية على السيانين (الفلافيليوم flavylum) تكون معدنا محليا قويا مع أكسيد التيتانيوم  $TiO_2$  (الشكل رقم ٥، ١١) وذا كفاءة تحويل أفضل (Dai and Rabami, 2002; Sirimanne, et al., 2006).



الشكل رقم (٥، ١١). تكون معدن الصبغة (الفلافيليوم flavylum) (٣-جلوكوسيد السيانينين cyanidin 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

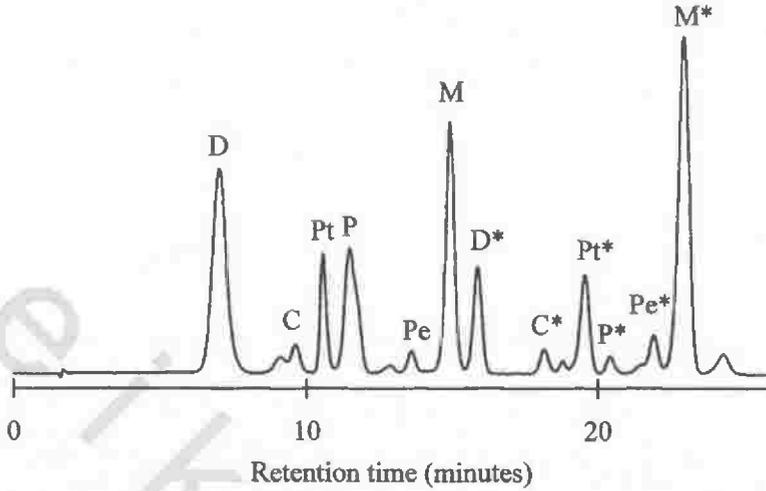
(Maiden] Maiden) بأن قياس تراكم الأثوسيانينات في النبات يمكن استخدامه كوسيلة أو معيار لتحديد المتطلبات الفسيولوجية أو مؤشرا لمدى التقسية للبرودة في البادرات . (close, et al., 2004).

### طرق التعرف على الأثوسيانينات

تؤثر طريقة الاستخلاص للأثوسيانينات 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 الأثوسيانينات.

هناك طريقة لتقدير تركيز الأثوسيانينات وحيدة الجلوكوسيد وتسمى طريقة "الرقم الهيدروجيني التفاضلي pH differential method" (أوردها أحد البحوث McGhie, et al. 2003). تلخص هذه الطريقة في استخدام جلوكوسيد السيانيد كإشارة قياسية وقراءة امتصاص المستخلص عند الطول الموجي ٥١٠ ورقم هيدروجيني ١,٠ والطول الموجي ٧٠٠ نانومتر ورقم هيدروجيني ٤,٥ وباستخدام معامل الإطفاء extinction coefficient ( $\epsilon$ ) ٢٦٩٠٠ لتر.سم<sup>-١</sup> جزيئي<sup>-١</sup> والوزن الجزيئي ٤٤٩,٢ جم. جزيئي<sup>-١</sup>.

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



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

بعد ٧,١٤ دقيقة	D - الديلفينيدين
بعد ٩,٧٣ دقيقة	C - السيانيدين
بعد ١٠,٦٩ دقيقة	Pt - البتونيدين
بعد ١١,٦١ دقيقة	P - البيلارجونيدين
بعد ١٣,٧٤ دقيقة	Pe - البيونيدين
بعد ١٥,٠٨ دقيقة	M - المالفيدين

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 إمكانات كبيرة كمواد غذائية فعالة أو من ناحية استخدامها مع الأدوية العلاجية.