



Identification of anthocyanin-rich tea accession in different tea growing areas of Gilan province

Tahereh Rezaei¹, Amir Sahraroo^{2*} , Ehsan Kahneh³, Moazzam Hassanpour Asil²

¹ MSc. student, Dept. of Horticultural Sciences, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Guilan, Iran

² Faculty member, Dept. of Horticultural Sciences, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Guilan, Iran, Email: asahraroo@gmail.com; asahraroo@guilan.ac.ir

³ Tea Research Center, Horticultural Science Research Institute, AREEO

Article type:

Research article

Abstract

Diversifying products and increasing added value by producing new medicinal and health products from tea is a strategic method to improve the production situation and economize tea. In recent years, tea genotypes resulting from the natural selection of the purple-leafed variety have been introduced in some tea-growing countries. Considering that there is a possibility of the presence of such genotypes in the tea gardens of Gilan, the present research was carried out with the aim of identifying and selecting the constant purple colored tea plants that contain higher amounts of anthocyanins. For this purpose, through field monitoring, purple tea plants with stable color were identified and labeled from the cities of Gilan province, and then the leaves (one bud and two leaves) were examined to analyze the amount of pigments. The results showed that the environmental factors, soil nutrition and pruning operations in different places had a positive effect on the amount of pigments during the growth and development of purple tea plants. So that sample numbers 10 ($12.5983 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$), 19 ($50.4865 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$) and 16 ($10.4451 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$) respectively in Lahijan and Astana Ashrafieh had the highest anthocyanin activity and the lowest anthocyanin activity in sample number 3 ($1390/93 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$) in Langrod city. The highest amount of chlorophyll a, total and carotenoid in sample number 35 (1.07, 1.53 and $2.49 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$) respectively and the lowest amount of chlorophyll a, total and carotenoid in sample number 5, respectively ($0.46, 0.71$ and $1.26 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$) were obtained in Astana Ashrafieh, and factors such as (radiation intensity, soil fertility, altitude above sea level and pruning operation) were involved in this phenomenon. Therefore, extractions with a higher amount and less temporal changes in the amount of anthocyanin can be monitored and studied for future research in order to produce tea seedlings rich in anthocyanin.

Article history

Received: 2024-4-20

Revised: 2024-6-5

Accepted: 2024-7-16

Keywords

tea

Genotype

Anthocyanin

purple

Cite this article as: Rezaei, T., Sahraroo, A., Kahneh, E., Hassanpour Asil, M. (2024). Identification of anthocyanin-rich tea accession in different tea growing areas of Gilan province. *Eco-phytochemical of Medicinal Plants.*, 12(2): 45-58.



©The author(s)

Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch



شناسایی اکسشن های چای غنی از آنتوسیانین در مناطق مختلف چایکاری استان گیلان

طاهره رضائی خویده^۱، امیر صحرارو^{۲*}، احسان کهنه^۳، معظم حسن پور اصیل^۲

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، گیلان، ایران
^۲ هیات علمی گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، ایران، رایانامه: asahraro@gmail.com; asahraro@guilan.ac.ir
^۳ هیات علمی، پژوهشکده چای، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی، لاهیجان، ایران

نوع مقاله:

مقاله پژوهشی

چکیده

تنوع بخشی به محصولات و افزایش ارزش افزوده با تولید فرآورده های جدید دارویی و بهداشتی از چای، یک روش استراتژیک برای بهبود وضعیت تولید و اقتصاد کردن چای است. در سالیان اخیر ژنوتیپ های چای حاصل از انتخاب طبیعی بارنگ برگ ارغوانی در برخی از کشورهای چای خیز معرفی شده است. با توجه به اینکه امکان حضور این قبیل ژنوتیپ ها در باغ های چای گیلان نیز وجود دارد، تحقیق حاضر باهدف شناسایی و انتخاب بوته های چای بارنگ ثابت ارغوانی که حاوی مقادیر بیشتر آنتوسیانین است اجرا شد. بدین منظور با پایش میدانی، بوته های چای ارغوانی با رنگ پایدار از شهرهای استان گیلان شناسایی و پلاک گذاری گردید و سپس برگ ها (یک غنچه و دو برگ) برای آنالیز مقدار رنگدانه ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که عوامل محیطی، تغذیه خاک و عملیات هرس در مکان های مختلف توانسته تأثیر مثبتی بر میزان رنگدانه ها در طی رشد و نمو بوته های چای ارغوانی داشته باشد. به طوری که نمونه شماره های ۱۰ ($19 \mu\text{g.g}^{-1} \text{FW}$)، ۱۹ ($5983/12 \mu\text{g.g}^{-1} \text{FW}$) و ۱۶ ($4452/10 \mu\text{g.g}^{-1} \text{FW}$) به ترتیب در شهرستان های لاهیجان و آستانه اشرفیه دارای بیشترین فعالیت آنتوسیانین و کمترین فعالیت آنتوسیانین در نمونه شماره ۳ ($1390/93 \mu\text{g.g}^{-1} \text{FW}$) در شهرستان لنگرود بود. بالاترین میزان کلروفیل های a، کل و کاروتنوئید در نمونه شماره ۳۵ به ترتیب ($1/07$ ، $1/53$ ، $2/49 \mu\text{g.g}^{-1} \text{FW}$) و کمترین مقدار کلروفیل های a، کل و کاروتنوئید در نمونه شماره ۵ به ترتیب ($1/26 \mu\text{g.g}^{-1} \text{FW}$)، $0/71$ ، $0/46$) در شهرستان آستانه اشرفیه به دست آمد که عواملی از قبیل (شدت تابش، حاصلخیزی خاک، ارتفاع از سطح دریا و عملیات هرس) در این پدیده دخیل بودند. لذا اکسیشن های با مقدار بالاتر و تغییرات زمانی کمتری در مقدار آنتوسیانین دارد می تواند برای تحقیقات بعدی به منظور تولید نهال چای غنی از آنتوسیانین مورد پایش و مطالعه قرار گیرد.

واژه های کلیدی:

چای
ژنوتیپ
آنتوسیانین
ارغوانی

استاد: رضائی خویده، طاهره؛ صحرارو، امیر؛ کهنه، احسان؛ حسن پور اصیل، معظم (۱۴۰۳). شناسایی اکسشن های چای غنی از آنتوسیانین در مناطق مختلف چایکاری استان گیلان. فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۱۲ (۲)، ۵۸-۴۵.

Doi:
Dor:

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان

© نویسنده گان.



مقدمه

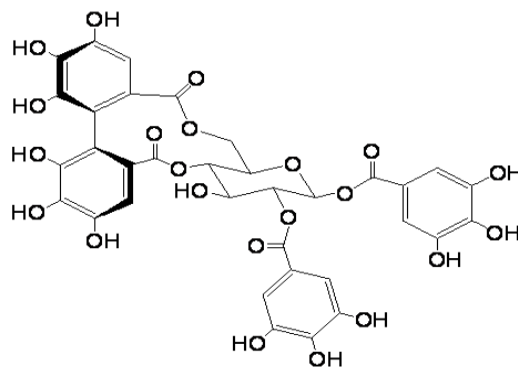
چای گیاهی از شاخه نهاندانگان، یک پایه، از رده دولپه‌ای‌ها، درختچه‌ای، چند ساله و همیشه سبز است اسم علمی چای *Cammellia sinensis* L.O.Kuntze از خانواده Theaceae است (Kumari et al., 2019) که به طور گسترده به عنوان یک نوشیدنی معطر و غیرالکلی در سراسر جهان پس از آب مصرف می‌شود (Hodgson and Croft, 2010). به طور کلی، برگ‌های گیاه چای، سبز هستند با این حال در روند تکامل، گیاهان در مواجهه با محیط‌های مختلف اکولوژیکی، تکامل پیدا خواهند کرد و انواع مکانیسم‌های پیچیده را برای پاسخ به تنش‌ها و سازگاری با محیط به کار می‌برند که تغییر میزان رنگدانه‌های برگ یکی از این راهکارها می‌باشد (Xu et al., 2021). با توجه به شرایط محیطی خاص، مکانیسم‌های تجمع رنگدانه‌ها در گیاه چای متفاوت است که این امر باعث می‌شود برگ‌ها زرد، سفید، ارغوانی یا ترکیبی از رنگ‌ها را نشان دهند، در گیاه چای عوامل مستقیم اثرگذار بر فنوتیپ رنگ برگ‌ها، رنگدانه‌ها از جمله کلروفیل، کاروتنوئیدها و فلاونوئیدها هستند (Shin et al., 2018). در سال‌های اخیر، مصرف چای به دلیل فواید تغذیه‌ای و درمانی در بهبود بیماری‌ها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سراسر دنیا مورد توجه قرار گرفته است (Zhang et al., 2015) و به همین دلیل به طور گسترده در کشورهای گرمسیری و نیمه گرمسیری کشت می‌گردد (Zhou et al., 2017).

امروزه در کشورهای چای خیز با استفاده از ژنوتیپ‌های جدید چای، سعی بر استفاده دارویی و پزشکی از چای است تا فقط به عنوان یک نوشیدنی.

تنوع بخشی به محصولات و افزایش ارزش افزوده چای تولیدی در بازارهای محلی و بین‌المللی با استفاده از تولید فرآورده‌های جدید دارویی و بهداشتی از چای، یک روش استراتژیک برای بهبود وضعیت تولید، کشت و کار و اقتصاد کردن چای است. با توجه به قدیمی بودن باغ‌ها و مسن بودن بوته‌ها چای ایرانی، احیا باغ‌ها امری ضروری است لذا با شناسایی ژنوتیپ‌های جدید و با خواص دارویی بهتر می‌توان در جهت بهبود وضعیت معیشتی چایکاران و کارخانه‌های چایسازی گام برداشت.

اخیراً رقم‌هایی از چای ارغوانی در کشورهایمانند کنا، چین، ژاپن و هند توسعه پیدا کرده‌اند (Chen et al., 2020). چای ارغوانی یک ژنوتیپ جدید، طبیعی از چای است که به جای برگ‌های سبز برگ‌های قرمز تا ارغوانی تولید می‌کند که این برگ‌ها غنی از آنتوسیانین می‌باشند و به علت خاص و منحصر بودن رنگ و مزایای سلامتی متعدد می‌توانند به خوبی توسعه پیدا کرده و به مرکز جذابیت تبدیل شوند (Kumari et al., 2019). انتظار می‌رود تنوع محصول و استفاده از سایر محصولات چای منجر به افزایش تولید و در نتیجه باعث افزایش قیمت چای گردد، در نتیجه تقاضای مصرف آن توسط مصرف کنندگان افزایش یابد (Hayat et al., 2015).

چای ساخته شده از برگ‌های چای ارغوانی رؤیت تیره‌تری دارند و چای دم‌کرده اغلب کمی ارغوانی است. برخی مطالعات نشان داده‌اند که این بوته‌ها به خشکی و سرما مقاوم هستند. نتایج تحقیقات نشان داده که پنج گروه اصلی از ترکیبات فراسودمند در عصاره چای ارغوانی وجود دارد (شکل ۱).



شکل ۱: ساختار ترکیبات خاص در عصاره چای ارغوانی (OOFC., 2016)

نزدیکی خط استوا منجر به تابش بالاتری از اشعه ماوراءبنفش می‌گردد و باعث می‌شود گیاهان سطوح بالاتری از آنتی‌اکسیدان‌ها را برای محافظت از برگ‌ها در برابر اشعه فرابنفش تولید کنند. چای ارغوانی به‌طور ویژه و با احتیاط انتخاب و دست‌چین شده و فقط برگ‌های جوان و شاخسارهای عاری از آفات جمع‌آوری می‌شود چای ارغوانی به دلیل رنگ زیبا و خاصیت منحصربه‌فرد و جذابیت و مزایای سلامتی متعدد، مورد توجه قرار گرفته است (Shimoda et al., 2015). دما هم یکی از مهم‌ترین فاکتورهای خارجی اثرگذار در تجمع آنتوسیانین‌ها در بافت‌های گیاهی است در دمای پایین تجمع آنتوسیانین‌ها اتفاق می‌افتد. دما اثرات مهمی بر روی بیان ژن‌های آنتوسیانین دارد دمای پایین همراه با چندین عامل در سطح رونویسی ژن‌هایی که محصولشان آنزیم‌های کلیدی در مسیر عمومی فنیل پروپانویید مانند فنیل آلانین آمونیالیاز و همچنین با سنتز ژن‌هایی که محصول آن‌ها آنزیم‌هایی از قبیل کالگون، کالکون ایزومراز و دی‌هیدرو فلاونول ردوکتاز که واکنش‌های خاص فلاونویید و ساخت آنتوسیانین را کاتالیزور می‌کنند بعلاوه دما هم ممکن است بر روی پایداری آنتوسیانین‌ها اثر بگذارد؛ بنابراین کاهش آنتوسیانین‌ها در دمای بالا ممکن است ناشی از کاهش سنتز و هم افزایش تخریب آن باشد (Zhang et al., 1997).

در این میان، پلی‌فنول‌ها مولکول‌های فعال زیستی اصلی در چای ارغوانی را تشکیل می‌دهند (Cabrera et al., 2003)، علاوه بر ترکیبات پلی‌فنول‌های معمول موجود در چای سبز، مانند اپی‌گالوکاتچین‌گالات و اپی‌کاتچین‌گالات، چای ارغوانی منحصربه‌فرد بوده، زیرا حاوی آنتوسیانیدین‌ها (مالویدین، پراگنونودین و سیانیدین-O-3-گالاتکتوزاید) 1-2 دی-O-گالوئیل-4-O-6 (S)-هگزاهیدروکسی دیفنوئول-B-D-گلوکز، (GHG) و یک تانن قابل هیدرولیز است چای ارغوانی همچنین نسبت به سایر انواع *Camellia sinensis* از نظر محتوای کافئین متفاوت است که در مقایسه با چای سبز و سیاه نسبتاً کمتر است (Kilel et al., 2013). علاوه بر آن چای ارغوانی دارای مقدار کالری صفر و کافئین کمتر نسبت به سایر چای‌ها می‌باشد. چای ارغوانی دارای طعمی مطبوع، شیرین و چوبی است و اگر چای ارغوانی با آب جوش به مدت سه دقیقه دم کشیده شود با تست کردن محلول حاصل، تقریباً هیچ قابضی را ایجاد نمی‌کند.

چای ارغوانی که عمدتاً توسط چای‌کاران کنیا به بازار عرضه شده و به فروش می‌رسد در ارتفاعات بین ۱۳۷۱/۶ تا ۲۲۸۶ متر رشد می‌کند. این ارتفاع زیاد در

1. 1, 2-di-O-galloyl-4,6-O(S)-hexahydroxydiphenoyl-β-D-glucose

مشاهده شده که الگوی رنگ در برگ‌های چای به‌طور گسترده در طولانی مدت در فرایندهای هیپریداسیون طبیعی بسیار متنوع شده است. امید است که چای ارغوانی بتواند منبع درآمدی بیشتر برای چای‌کاران خرده‌مالک باشد چون می‌توانند در کارخانه از آن عصاره حاوی آنتوسیانین و دیگر فلاونوئیدها تولید کرده و باعث افزایش ارزش افزوده محصولات تولیدی شود. لذا این تحقیق با هدف شناسایی اکسیژن‌های طبیعی چای ایران با رنگ پایدار و مقدار آنتوسیانین بیشتر اجرا شد.

مواد و روش‌ها

منطقه مورد مطالعه: بر اساس مطالعات و پایش‌های صورت گرفته از باغ‌های چای در استان گیلان در شهرستانهای چای‌خیز تعداد ۳۵ بوته که خواص ظاهری متفاوت و دارای رنگ ارغوانی بودند شناسایی و با نصب پلاکارد از سایر بوته‌ها متمایز شدند. میزان بارندگی، ساعات آفتابی، ارتفاع از سطح دریا و کمینه و بیشینه دمای شهرهای آستانه اشرفیه، لاهیجان، لنگرود، رودسر در سال زراعی ۱۴۰۰ و ۱۴۰۱ نیز از اداره هواشناسی هر شهرستان تهیه شده است (جدول ۲).

برداشت و آماده سازی نمونه‌ها: در طول فصل رویشی از بوته‌های انتخابی با رنگ (ارغوانی و بنفش) بازدید بعمل آمد و برگ‌ها (یک غنچه و دو برگ) از بوته‌های ارغوانی در طی چین‌های بهاره، تابستانه و پاییزه برداشت شدند. به منظور بررسی تغییرات و ثبات رنگ بوته‌ها در طول فصل رویشی و برگ‌چینی در چند نوبت، بازدید صورت گرفت سپس نمونه‌ها جهت اندازه‌گیری رنگدانه‌های کلروفیل و کاروتنوئید فریز شدند و در ادامه اندازه‌گیری انجام گرفت و همچنین جهت اندازه‌گیری آنتوسیانین نمونه‌ها ابتدا در دستگاه آون به مدت ۲۴ ساعت و دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد خشک گردید و بعد از آماده‌سازی نمونه‌ها مراحل اندازه‌گیری رنگدانه آنتوسیانین انجام شد.

Huang و همکاران (۲۰۰۲) اثرات زیست‌محیطی مختلف بر روی رنگ‌دانه‌های آنتوسیانین‌های گل‌ها با استفاده از ارغوانی مایل به قرمز را مورد بررسی قرار دادند و ثابت کردند که جزء اصلی از رنگ‌دانه‌های آنتوسیانین سیانیدین است. شناسایی عوامل وابسته به خاک با تشکیل این رنگ‌ها مرتبط است. اثر ترکیبی پی‌اچ و افزایش غلظت منیزیم در خاک بر روی رنگ و تجمع آنتوسیانین‌ها در رنگ‌گل‌ها مورد بررسی قرار گرفت نتایج نشان داد که بیوستنز آنتوسیانین‌ها در گیاهان توسط نور و کیفیت نور، مانند اشعه ماوراءبنفش یو وی آ^۱ و یو وی بی^۳ نورهای آبی و قرمز تنظیم می‌شود (Zhou et al., 2016). مطالعات نشان می‌دهد که پروتئین Mdcol 11.B-box وقتی در معرض اشعه یو وی بی و کاهش دما قرار می‌گیرد باعث سنتز آنتوسیانین می‌شود (Bai et al., 2014). ساخت آنزیم‌های کالکن سنتاز^۲، 3-هیدروکسیلاز^۳ و دی‌هیدروفلانول^۴ همبستگی مثبتی با تجمع آنتوسیانین در برگ‌های کاهو تحت تیمار با تابش اشعه یو وی بی دارد و اشعه یو وی بی بیان ژن‌های کدکننده آنزیم را تحریک می‌کند (Ban et al., 2007). علاوه بر این، فیل پروپانوییدها در گونه‌های مختلف گیاهی پاسخ متفاوتی به اشعه یو وی بی می‌دهند و چگونگی تابش اشعه ماوراءبنفش در تجمع آنتوسیانین در برگ‌های گیاه چای در بیان ژن‌ها و فعالیت آنزیم‌ها هنوز نامشخص است (Eichholz et al., 2012). اعتقاد بر این است که مطالعه بر روی چای ارغوانی، کمک‌های زیادی به برنامه‌های اصلاح چای کرده و از طریق به‌کارگیری ژرم پلاسما برای توسعه واریته‌های جدید امکان معرفی ارقام جدید با کاربردهای خاص را بهبود بخشیده است (Shen et al., 2018). در برنامه‌های اصلاحی اخیر

1. UV-A
2. CHS
3. F3H
4. DFR

جدول ۲: میانگین ساعات آفتابی، متوسط دما، متوسط بارندگی، اختلاف ارتفاع از سطح دریا شهرهای لاهیجان، آستانه اشرفیه، لنگرود، رودسر.

شهرستان	سال	متوسط ساعات آفتابی (ساعت / روز)	متوسط دما (درجه سانتیگراد)	متوسط بارندگی (میلی‌متر)	ارتفاع از سطح دریا (متر)
لاهیجان	۱۴۰۰	۱۰۶۰	۲۹-۱۹	۵۱۲/۶	۳۳
	۱۴۰۱	۱۲۱۵	۲۹-۱۷	۳۷۲/۳	۳۳
لنگرود	۱۴۰۰	۱۰۷۵/۶	۳۰-۲۱	۲۰۹/۵	-۱
	۱۴۰۱	۱۲۳۶	۳۰-۱۹	۱۹۵/۹	-۱
رودسر	۱۴۰۰	۱۰۵۱/۱	-	۵۷۰/۹	-
	۱۴۰۱	۱۲۵۷	-	۲۵۹/۳	-
آستانه اشرفیه	۱۴۰۰	۱۱۰۲/۳	۲۹-۱۹	۳۴۱/۳	۳
	۱۴۰۱	۱۲۸۲/۷	۲۹-۱۸	۲۶۹/۸	۳

میزان کاروتنوئیدها برابر است با ۱۰۰۰ ضرب در جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر منهای ۱/۲۷ ضرب در میزان کلروفیل a منهای ۱۰۴ ضربدر کلروفیل b و حاصل تقسیم بر ۲۲۷.

اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین کل: مقدار آنتوسیانین کل به روش طیفسنجی (Giusti and Wrolstad., 2001) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری از روش تفاضل پی اچ با دو بافر کلرید پتاسیم ۰/۰۲۵ مولار در پی اچ ۱/۰ و بافر استات سدیم ۰/۴ مولار در پی اچ ۴/۵ استفاده شد. ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه حاوی آنتوسیانین با ۱/۸ میلی‌لیتر از هر بافر جداگانه مخلوط شده و جذب در طول موج‌های ۵۲۰ و ۷۰۰ نانومتر قرائت شد. تفاوت جذب دو نمونه براساس فرمول زیر محاسبه شد:

$$A = (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}}) \text{ at pH } 1.0 - (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}}) \text{ at pH } 4.5$$

غلظت آنتوسیانین‌های منومر در نمونه اصلی بر اساس فرمول زیر تعیین شد:

$$\text{Monomeric anthocyanins pigment (mg/l)} = (A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000) / (\epsilon \times 1)$$

$$A = \text{جذب}$$

$$\text{MW} = \text{وزن مولکولی آنتوسیانین } 449/2$$

$$\text{DF} = \text{ضریب رقت } \epsilon: 26900$$

اندازه‌گیری کلروفیل‌ها و کاروتنوئید: برگ سبز برای اندازه‌گیری مقادیر کلروفیل و کاروتنوئید بر اساس روش لیشنتالر و بوخمن (Lichtenthaler and Buschmann, 2001) آماده‌سازی شد. سپس جذب مایع روئی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد و مقدار کلروفیل a با فرمول شماره ۱، مقدار کلروفیل b با فرمول شماره ۲، کلروفیل کل با فرمول شماره ۳ و میزان کاروتنوئیدها با فرمول ۴ محاسبه شد.

$$\text{معادله (۱)} \quad \text{Chl}_a = (12.25 \times A_{663.2}) - (2.79 \times A_{646.8})$$

مقدار کلروفیل a برابر است با ۱۲/۲۵ ضرب در میزان جذب در طول موج ۶۶۳/۲ منهای ۲/۷۹ ضرب در میزان جذب در طول موج ۶۴۶/۸ نانومتر

$$\text{معادله (۲)} \quad \text{Chl}_b = (21.5 \times A_{646.8}) - (5.1 \times A_{663.2})$$

میزان کلروفیل b برابر است با ۲۱/۵ ضرب در میزان جذب در طول موج ۶۴۶/۸ نانومتر منهای ۵/۱ در طول موج ۶۶۳/۲ نانومتر

$$\text{معادله (۳)} \quad \text{Chl}_{(a+b)} = (7.15 \times A_{663.2}) + (18.71 \times A_{646.8})$$

$$\text{معادله (۴)} \quad \text{Carotenoids} = [(1000 \times A_{470}) - (1.27 \times \text{Chl}_a) - (104 \times \text{Chl}_b)] / 227$$

اندازه‌گیری ویژگی‌های خاک: خصوصیات خاک محل تحقیق برای تعیین مشخصات خاک در محل اجرای طرح از عمق ۰ تا ۳۰ و عمق ۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متری بوته‌هایی که آنتوسیانین کل بیشتری نسبت به سایر نمونه‌ها داشتند آنالیز صورت گرفت. برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک از قبیل اسیدیته، بافت خاک، کربن آلی، عناصر کلسیم، منیزیم و

نیترژن اندازه‌گیری گردید (جدول ۳ و ۴). در این روش اسیدیته خاک در سوسپانسیون ۱:۱ خاک به آب و بافت خاک به روش هیدرومتری و کربن آلی خاک به روش والکلی و بلک و مجموع کلسیم و منیزیم محلول خاک نیز در عصاره آبی سوسپانسیون ۱:۱ خاک به آب و نیترژن خاک به روش کج‌لدال اندازه‌گیری شد (علی‌احیایی، ۱۳۷۳).

جدول ۳: نتایج تجزیه خصوصیات فیزیک و شیمیایی خاک در نمونه‌های چای ارغوانی در عمق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متری خاک

شماره نمونه	pH	O.C	N	Ca	Mg	Clay
	×××	درصد		میلی‌اکی والان / لیتر		درصد
1-1	۴/۸۰	۲/۲۰	۰/۲۶	۶/۲۰	۳/۴۰	۱۳/۰۰
2-1	۵/۳۰	۰/۷۴	۰/۰۷	۱/۰۰	۲/۸۰	۶/۰۰
5-1	۳/۶۷	۳/۵۰	۰/۳۱	۱/۶۰	۱/۶۰	۱۵/۰۰
10-1	۴/۱۵	۲/۱۰	۰/۲۷	۳/۰۰	۲/۲۰	۲۶/۰۰
14-1	۵/۴۳	۱/۱۰	۰/۱۳	۱/۴۰	۰/۶	۹/۰۰
19-1	۵/۶۷	۵/۳۰	۰/۵۱	۸/۶۰	۱/۴۰	۱۰/۰۰
23-1	۳/۷۵	۳/۷۰	۰/۳۱	۲/۸۰	۱/۸۰	۱۲/۰۰
31-1	۳/۲۲	۴/۷۰	۰/۴۰	۱۱/۲۰	۳/۴۰	۸/۰۰
32-1	۳/۷۹	۲/۱۰	۰/۲۶	۸/۲۰	۲/۶۰	۱۰/۰۰
35-1	۳/۵۵	۶/۶۰	۰/۶۵	۵/۵۶	۳/۴۰	۹/۰۰

تجزیه آماری

برای تجزیه آماری نمونه‌هایی که فقط یک بار رنگ ارغوانی داشته و سپس به سبز تغییر رنگ داده بودند را از تجزیه آماری حذف کرده و برای سایر نمونه‌ها تجزیه آماری با استفاده از طرح کاملاً تصادفی غیر متعادل با نرم‌افزار SAS انجام شد. برای هر نمونه برداشت‌های مختلف به‌عنوان تکرار در نظر گرفته شد. مقایسه میانگین بین تیمارها نیز با استفاده از آزمون

LSD انجام شد

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس پارامترهای مورد آزمایش در مکان‌های مختلف نمونه‌برداری در جدول ۳ ارائه شده است. مشاهده می‌شود که مکان‌های نمونه‌برداری تاثیر معنی‌داری بر ویژگی‌های گیاهی داشته است. در ادامه هر یک جداگانه بحث و بررسی می‌شود.

جدول ۴: تجزیه واریانس تأثیر مکان نمونه‌برداری بر فعالیت رنگدانه‌های گیاهی

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		آنتوسیانین	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل
تیمار (مکان نمونه برداری)	۲۱	۴۰۱۴۱۵۱/۹۸**	۰/۱۳*	۰/۱۳**	۰/۱۲**
خطای آزمایش		۱۴۱۵۵۷۴/۶۶	۰/۰۳	۰/۰۶	۰/۰۵۵
کل	۷۷	۴۰۱۴۱۵۱/۹۸			

ضریب تغییرات

** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، * معنی‌دار سطح احتمال پنج درصد و ns عدم وجود تفاوت آماری معنی‌دار

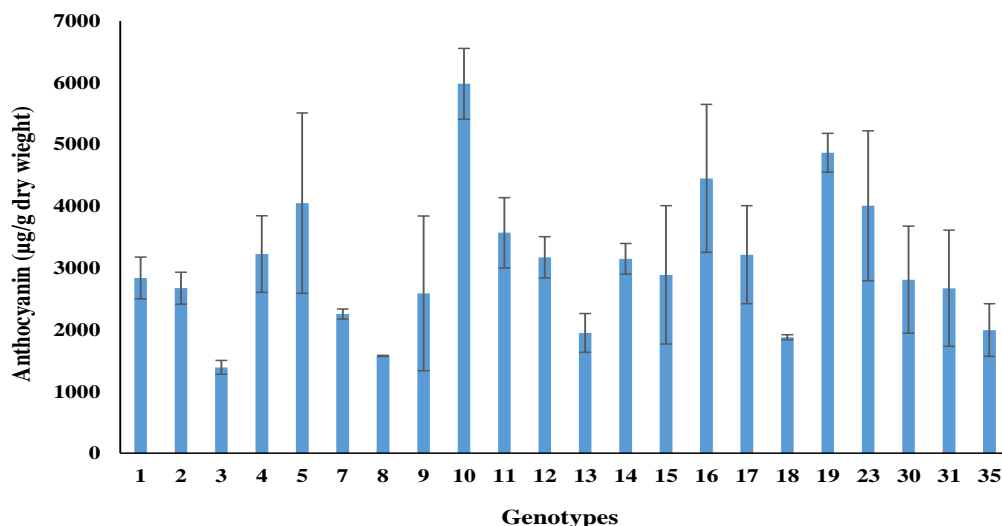
در مناطقی مورد بررسی این پژوهش مکان شماره ۱۰ با بالاترین مقدار آنتوسیانین ($10 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$) در شهرستان لاهیجان و نمونه شماره ۳ با کمترین مقدار آنتوسیانین ($1390/93 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$) در شهرستان لنگرود وجود داشت که می‌توان دلایل افزایش آنتوسیانین را در مکان شماره ۱۰ علاوه بر نقش ژنتیک، عوامل محیطی از قبیل اختلاف ارتفاع دو منطقه، دمای پایین‌تر و پی‌اچ خاک در دو شهرستان را عامل اصلی دانست. دمای یکی از مهم‌ترین فاکتور خارجی اثرگذار در تجمع آنتوسیانین‌ها در بافت‌های گیاهی است. در دمای پایین تجمع آنتوسیانین‌ها اتفاق می‌افتد. بنابراین کاهش آنتوسیانین‌ها در دمای بالا ممکن است ناشی از کاهش سنتز و هم افزایش تخریب آن باشد (Zhang et al., 1997). نتایج ما با مطالعات محققانی مانند وی و همکاران (Wei et al., 2016)، لی و همکاران (Li et al., 2020) و ناخومیکا و همکاران (Nakhumicha et al., 2009) مطابقت داشت.

کلروفیل a: نتایج تجزیه واریانس اثر معنی‌دار مکان نمونه‌برداری بر مقدار کلروفیل a را در سطح احتمال ۵ درصد مشخص کرد (جدول ۳). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین مقدار کلروفیل a در نمونه‌های شماره ۳۵ ($1/07 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$)، ۱۰ ($10 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$) و ۰/۹۹ ($0/99 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$) به ترتیب در شهرستان‌های آستانه‌اشرفیه، لاهیجان و آستانه اشرفیه بود از طرفی دیگر کمترین مقدار کلروفیل a در برداشت‌های مختلف نمونه شماره ۵ ($5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$) و ۰/۴۶ ($0/46 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$) در شهرستان آستانه‌اشرفیه به دست آمد (شکل ۲). ابد و همکاران (Abd et al., 2018) گزارش دادند که عوامل محیطی بر سنتز کلروفیل و در نتیجه میزان فتوسنتز تأثیر گذار است و از طرفی مرسک و هومرد (Marsac and Houmard, 1993) بیان داشتند که تشکیل رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی با کیفیت‌های مختلف

آنتوسیانین کل: نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد در مقدار آنتوسیانین برگ بین بوته‌ها در مکان‌های مختلف وجود دارد (جدول ۳). با مقایسه میانگین داده‌ها مشخص شد که بیشترین فعالیت آنتوسیانین کل در نمونه‌های شماره‌های ۱۰ ($10 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$)، ۱۹ ($19 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$) و ۱۶ ($16 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$) به ترتیب در شهرستان‌های لاهیجان و آستانه‌اشرفیه به دست آمد (شکل‌های ۳ و ۱). در حالی که کمترین مقدار آنتوسیانین در برداشت‌های مختلف، نمونه شماره ۳ ($1390/93 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$) در شهرستان لنگرود قرائت گردید. گزارش‌های وی و همکاران (Wei et al., 2016) نشان داد که شدت نور بالاتر یا شرایط کیفیت نور بر سنتز آنتوسیانین نقش دارد. همچنین شن و همکاران (Shin et al., 2018) به این نتیجه رسیدند که غلظت آنتوسیانین تأثیر زیادی در فنوتیپ جوانه و برگ‌های گیاه چای دارد. البته بر اساس گزارشات لی و همکاران (Li et al., 2020) در گیاه چای اختلاف ارتفاع بالاتر از سطح دریا باعث می‌شود اشعه ماوراء بنفش آ و بی (یو وی آ و یو وی بی) باعث کد شدن ژن‌های مربوط به سنتز آنزیم‌های پیش‌ساز، در مسیر ساخت آنتوسیانین‌ها شود. از طرفی گزارشات ناخومیکا و همکاران (Nakhumicha et al., 2009) مشخص کرد که دما و پی‌اچ خاک از مهم‌ترین عوامل خارجی است که بر تجمع آنتوسیانین در بافت‌های گیاهی اثر دارد به طوری که کاهش دما باعث افزایش غلظت آنتوسیانین می‌شود. همچنین مازا و همکاران (Mazza et al., 1993) اثر فلزات مختلف بر پایداری و درجه خلوص آنتوسیانین در محلول‌ها را نشان دادند. گزارشات بونگو-بارتل-سنام و فیلپس (Bongue-Bartelsnam and Phillips, 1995) هم کمبود نیتروژن را عامل تجمع آنتوسیانین دانستند.

کلروفیل‌های a/b تحت نور آبی - سفید و نسبت پایین‌تر کلروفیل‌های a/b در نور قرمز - سفید ایجاد می‌گردد.

نور کنترل می‌شود و رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی مختلف طیف نوری متفاوتی را جذب می‌کنند، به طوری که نور آبی برای تشکیل کلروفیل a مفید است و نسبت بالاتر



شکل ۱: مقایسه میانگین فعالیت آنتوسیانین کل در مکان‌های مختلف نمونه برداری



شکل ۲: برگ چای ارغوانی یکی از اکسیشن‌های انتخابی

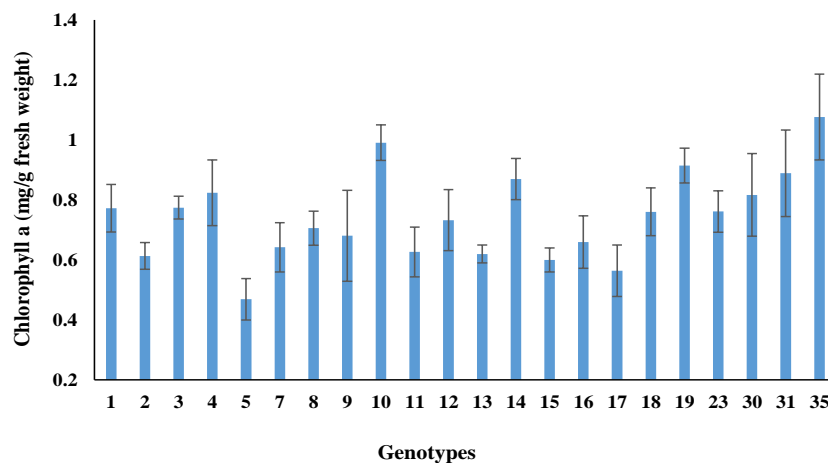
ابد و همکاران (Abd et al., 2018) همچنین نتایجی را تأیید کرده بودند.

کلروفیل b: تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر مکان‌های نمونه‌برداری در سطح احتمال 1 درصد بر میزان کلروفیل b معنی‌دار شد (جدول ۳). با مقایسه میانگین‌ها مشخص شد مکان نمونه‌برداری باعث افزایش معنی‌دار در مقدار کلروفیل b شد. نتایج نشان داد که بیشترین مقدار کلروفیل b در نمونه‌های شماره ۱۹ ($0/49 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$)، ۳۵ ($0/45 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$) و

از نتایج این تحقیق استنباط می‌شود که بیشترین مقدار کلروفیل a در شهرستان آستانه‌اشرفیه در نمونه ۳۵ ($1/07 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$) و کمترین مقدار هم در شهرستان آستانه‌اشرفیه در نمونه شماره ۵ ($0/46 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$) بود بنابراین می‌توان میزان بیشتر نیتروژن خاک (جدول ۳) و هرس شدید در نمونه شماره ۳۵ را عامل اثرگذار در دو نمونه با شرایط اختلاف ارتفاع از سطح دریا، شدت تابش و دمای یکسان در تفاوت کلروفیل a دانست. در این خصوص

۳. گزارش ون و همکاران (Wan, 2008) نشان داد که تولید کلروفیل با سیگنال‌های نوری کنترل می‌شود نسبت کلروفیل‌های a و b تحت کیفیت‌های مختلف نور متفاوت است.

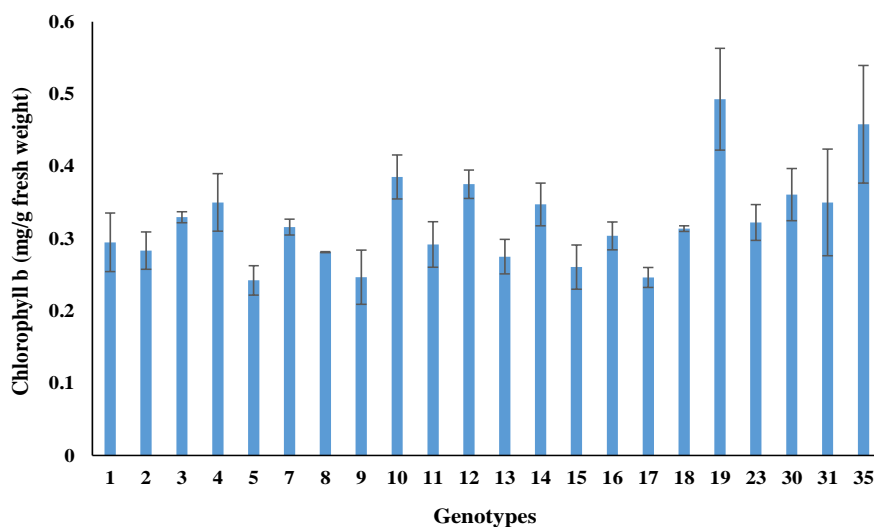
۱۰ (۰/۳۸ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$) به ترتیب در شهرستان‌های آستانه اشرفیه و لاهیجان به دست آمد از طرفی کمترین مقدار کلروفیل b در نمونه شماره ۵ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$) در شهرستان آستانه اشرفیه قرائت گردید (شکل



شکل ۲: مقایسه میانگین مقدار کلروفیل a در مکان‌های مختلف نمونه‌برداری

ارتفاع از سطح دریا به میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مقدار مواد فعال در گیاهان کمک می‌کند. همچنین زانگ و همکاران (Zhang a et al., 2015a) در مطالعه خود نشان دادند که میزان شدت نور بر ساخت و ساز کلروفیل از طریق سیگنال‌های متابولیک اثرگذار است.

به طوری که کلروفیل b تحت تأثیر نور آبی - زرد در حالی که کلروفیل a تحت نور قرمز بیوسنتز می‌شود. همچنین گزارشات لیو و همکاران (Liu et al., 2016) مشخص کرد که تفاوت در شرایط محیطی از قبیل ویژگی‌های خاک، شدت روشنایی، دما و



شکل ۳: مقایسه میانگین مقدار کلروفیل b در مکان‌های مختلف نمونه‌برداری

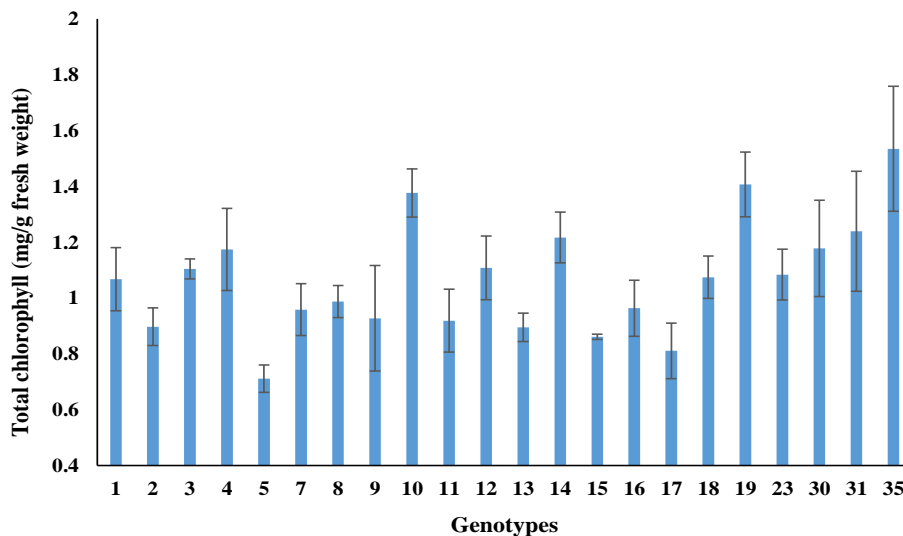
کمترین مقدار آن در نمونه شماره ۵ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$) در شهرستان آستانه اشرفیه قرار داشت می‌تواند

نتایج پژوهش نشان داد که بالاترین میزان کلروفیل b در مکان نمونه‌برداری ۱۹ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$) و

مربوط به تفاوت در میزان نیتروژن خاک نسبت به نمونه شماره ۵ باشد و همچنین میزان کلروفیل b در نمونه شماره ۱۰ ($0.38 \mu\text{g.g}^{-1}.\text{FW}$) در شهرستان لاهیجان، با توجه به اینکه ساعت روشنایی کمتری نسبت به شهرستان آستانه‌اشرفیه برخوردار است، می‌تواند با نتایج گزارشات لیو و همکاران (Liu et al., 2016) که با توجه به یکسان بودن اختلاف ارتفاع از سطح دریا، درجه حرارت و ساعات روشنایی ارتباط داشته باشد.

کلروفیل کل: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که مکان نمونه‌برداری بر مقدار کلروفیل کل اثر مثبتی در سطح احتمال 1٪ وجود دارد (جدول ۳). با مقایسه میانگین‌ها مشخص شد بیشترین مقدار کلروفیل کل در مکان‌های شماره ۳۵ ($1.53 \mu\text{g.g}^{-1}.\text{FW}$)، ۱۹ ($1.37 \mu\text{g.g}^{-1}.\text{FW}$) و ۱۰ ($1.40 \mu\text{g.g}^{-1}.\text{FW}$) به ترتیب در شهرستان آستانه‌اشرفیه و لاهیجان حاصل شد در حالی که کمترین مقدار کلروفیل کل در نمونه شماره ۵ ($0.71 \mu\text{g.g}^{-1}.\text{FW}$) در شهرستان‌های آستانه‌اشرفیه به دست آمد (شکل ۴). گزارشات فنگ و همکاران (۲۰۱۹) مشخص کرد تحت نور متوسط یا سایه کوتاه،

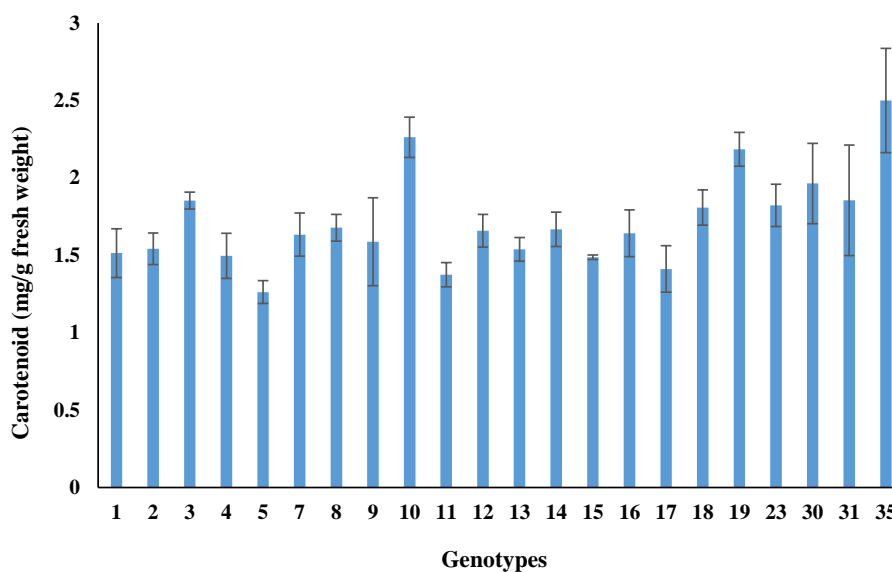
گیاهان در پاسخ به تنش، سازگاری پیدا می‌کنند تا با کاهش آسیب به کلروفیل، مقدار کلروفیل کل و مقدار کلروفیل b افزایش پیدا می‌کند همچنین نسبت کلروفیل‌های a/b کاهش پیدا می‌کند (Wang et al., 2019) همچنین ازیزاتو و همکاران (۲۰۲۱) مطالعه بر روی اثر عوامل محیطی که می‌تواند بر مقدار کلروفیل تأثیر بگذارد از جمله (پی اچ خاک، دمای پایین، شدت نور بالاتر، ارتفاع از سطح دریا) که منجر به افزایش میزان فتوسنتز و سنتز کلروفیل در گیاه می‌شود را بررسی کردند (Azizatu et al., 2021) در مناطق موردبررسی این پژوهش، نمونه ۳۵ ($1.53 \mu\text{g.g}^{-1}.\text{FW}$) واقع در شهرستان آستانه‌اشرفیه دارای بالاترین مقدار کلروفیل کل بوده، درحالی‌که کمترین مقدار کلروفیل کل در نمونه شماره ۵ ($0.71 \mu\text{g.g}^{-1}.\text{FW}$) در شهرستان آستانه‌اشرفیه بود پس اختلاف در میزان نیتروژن خاک و هرس شدید در نمونه شماره ۳۵ توانسته در این بررسی در افزایش کلروفیل کل مؤثر باشد که در این مورد ازیزاتو و همکاران (۲۰۲۱) هم‌چنین نتایجی را تأیید کردند (Azizatu et al., 2021).



شکل ۴: مقایسه کلروفیل کل با مکان نمونه‌برداری

و همکاران (۲۰۱۲) مشخص کردند متغیرهای محیطی در بین مکان‌ها، شامل اختلاف درجه حرارت شب، روز، شدت نور، طول روز، پوشش ابر، نوع خاک، زمان کاشت و ارتفاع از سطح دریا نقش مهمی بر میزان کاروتنوئیدها و در نتیجه عملکرد گیاه دارد (Payyavula et al., 2012). در مناطق مورد بررسی این پژوهش نمونه شماره ۳۵ ($2/49 \mu\text{g.g}^{-1}\text{.FW}$) دارای بیشترین و نمونه شماره ۵ ($1/26 \mu\text{g.g}^{-1}\text{.FW}$) دارای کمترین مقدار کاروتنوئید در شهرستان آستانه اشرفیه قرار داشت که ویژگی‌های خاک در دو مکان و عملیات هرس شدید در بوته‌های نمونه شماره ۳۵ می‌توانست باعث اختلاف در میزان کاروتنوئید باشد و از طرفی میزان کاروتنوئید در نمونه شماره ۱۰ ($1/26 \mu\text{g.g}^{-1}\text{.FW}$) در شهرستان لاهیجان نشان می‌دهد که عوامل محیطی مانند میزان شدت تابش خورشید و خصوصیات خاک در دو شهرستان باعث این اختلاف گردیده است که در این خصوص محققانی مانند پایاولا و همکاران (۲۰۱۲) در گزارش خود چنین نتایجی را تأیید کرده بودند (Payyavula et al., 2012).

مقدار کاروتنوئیدها: تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که مکان نمونه برداری بر مقدار کاروتنوئیدها اثر معنی داری در سطح احتمال یک درصد دارد (جدول ۳). با نتایج مقایسه میانگین‌ها مشخص شد که بیشترین مقدار کاروتنوئید در نمونه‌های شماره ۳۵ ($2/49 \mu\text{g.g}^{-1}\text{.FW}$)، ۱۰ ($1/26 \mu\text{g.g}^{-1}\text{.FW}$) و ۱۹ ($2/18 \mu\text{g.g}^{-1}\text{.FW}$) به ترتیب در شهرستان‌های آستانه اشرفیه، لاهیجان و آستانه اشرفیه به دست آمد در حالی که کمترین مقدار کاروتنوئید نمونه شماره ۵ ($1/26 \mu\text{g.g}^{-1}\text{.FW}$) در شهرستان آستانه اشرفیه بود (شکل ۵). ساینو و همکاران بیان داشتند که بیان ژن‌های بیوستزی فلاونوئیدها در نور متوسط کاهش پیدا می‌کند، در حالی که بیان ژن‌های کاروتنوئیدی افزایش پیدا می‌کند که نشان می‌دهد مسیرهای سنتزی کاروتنوئیدها و فلاونوئیدها در برگ‌های چای متفاوت است (Sano et al., 2018) از طرفی دیگر بر اساس گزارش کوئین و همکاران (۲۰۲۱) تحت شدت نوربالا، تنظیم ژن‌های بیوستزی کاروتنوئیدها کاهش می‌یابد در حالی که در نور متوسط بیوستز کاروتنوئیدها افزایش می‌یابد (Quian et al., 2021) همچنین پایاولا



شکل ۵: مقایسه مقدار کاروتنوئیدها در مکان‌های مختلف نمونه برداری

نتیجه‌گیری کلی

دسترسی آنتوسیانین تضمین شده است. در کنیا همچنین تحقیقاتی درباره عصاره‌گیری کاتچین‌ها، آنتوسیانین‌ها، آنتوسیانیدین‌ها (که به عنوان دارو مکمل، نگه‌دارنده در صنایع غذایی)، عصاره پلی فنول چای برای داروسازی و صنعتی، چای فوری و چای آماده نوشیدن (Ready To Drink) و... از چای ارغوانی در حال انجام است. عوامل متعددی شامل ژنوتیپ، موقعیت جغرافیایی، شرایط رویشی، ترکیبات خاک و رژیم رطوبتی، زمان برداشت، عملیات پس از برداشت و ساختار فیزیکی برگ بر مقدار و ترکیب پلی فنول‌های برگ چای تأثیرگذار است. با توجه به نتایج بدست آمده که اکسیژن شماره ۴ مقدار آنتوسیانین بالاتر و تغییرات زمانی کمتری در مقدار آنتوسیانین دارد می‌تواند برای تحقیقات بعدی به منظور تولید نهال چای غنی از آنتوسیانین مورد پایش و مطالعه قرار گیرد.

اثر آنتی‌اکسیدانتی آنتوسیانین می‌تواند در حضور کاتچین تشدید شود؛ بنابراین حضور کاتچین‌های محلول در آب در چای ارغوانی یک مزیت افزوده است؛ بنابراین چای حاوی دو آنتی‌اکسیدانت در یک دم‌کرده خواهد بود که آن را به‌عنوان نوشیدنی سلامت‌بخش معرفی می‌کند. حلالیت بالای آنتوسیانین چای در آب نیز برای صنایع غذایی مفید است، آنتوسیانین می‌تواند با خشک‌کن پاششی به پودر تبدیل شده و به‌عنوان رنگ‌دهنده بدون ترس از آلودگی با باقی‌مانده حلال‌های آلی که چندین بار در عصاره‌گیری بکار می‌رود استفاده شود. از آنجایی که چای عموماً به عنوان عصاره (نوشیدنی) با آب مصرف می‌شود حلالیت بالای آنتوسیانین در آب نیز یک مزیت اضافه است و بدان معنی است که قابلیت زیست

References

- Abd El-Wahab, A., Zayed, A.E.M., Moustafa, A.E.R., Klopatek, J., and Helmy, M. 2018. Landforms, vegetation, and soil quality in south Sinai, Egypt. *Catrina: The International Journal of Environmental Sciences*. 1(2): 127-138.
- Ahyayi, A., Maryam. 1993. Description of soil chemical analysis methods. Technical Journal No. 893. Soil and Water Research Institute. Tehran, Iran.
- Azizatu, R., and Rahmawati, D.L. 2021. Effect of the abiotic factor on *Schleichera oleosa* chlorophyll level. *El Hayah. Journal Biological*. 8(2): 55-61.
- Bai, S., Saito, T., Honda, C., Hatsuyama, Y., Ito, A., and Moriguchi, T. 2014. An apple B-box protein, MdCOL11, is involved in UV-B-and temperature-induced anthocyanin biosynthesis. *Planta*. 240(5): 1051-1062.
- Ban, Y., Honda, C., Hatsuyama, Y., Igarashi, M., Bessho, H., and Moriguchi, T. 2007. Isolation and functional analysis of a MYB transcription factor gene that is a key regulator for the development of red coloration in apple skin. *Plant and Cell Physiology*. 48(7): 958-970.
- Bongue-Bartelsman, M. and Phillips, D.A. 1995. Nitrogen stress regulates gene expression of enzymes in the flavonoid biosynthetic pathway of tomato. *Plant Physiology and Biochemistry*. 33(5): 539-546.
- Cabrera, C., Giménez, R., and López, M.C. 2003. Determination of tea components with antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(15): 4427-4435.
- Chen X, Wang, P., Zheng, Y., Gu, M., Lin, X., Wang, S., Jin, S., and Ye, N. 2020. Comparison of metabolome and transcriptome of flavonoid biosynthesis pathway in a purple-leaf tea germplasm 'Jinmingzao' and a Green-leaf tea germplasm 'Huangdan' reveals their relationship with genetic mechanisms of color formation. *International Journal Molecular Science*. 21(11): 4167.
- Eichholz, I., Rohn, S., Gamm, A., Beesk, N., Herppich, W.B., Kroh, L.W., and Huyskens-Keil, S. 2012. UV-B-mediated flavonoid synthesis in white asparagus (*Asparagus officinalis* L). *Food Research International*. 48(1): 196-201.
- Giusti, M., and Wrolstad, R E. 2001. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. John Wiley and Sons, Inc.

- Hayat, K., Iqbal, H., Malik, U., Bilal, U., and Mushtaq, S. 2015. Tea and its consumption: benefits and risks. *Critical Reviews Food Sciences Nut.* 55(7):939-954.
- Hodgson, J. M., and Croft, K. D. 2010. Tea flavonoids and cardiovascular health. *Molecular Aspects of Medicine.* 31(6): 495-502.
- Huang, K.-L., Miyajima, I., Okubo, H., Shen, T.-M., and Huang, T.-S. 2002. Breeding of colored tuberose (*Polianthes*) and cultural experiments in Taiwan. *ISHS Acta Horticulturae.* In VIII International Symposium on Flower bulbs 570 (8): 367-371.
- Kilel, E. C., Faraj, A. K., Wanyoko, J. K., Wachira, F. N., and Mwingirwa, V. 2013. Green tea from purple leaf coloured tea clones in Kenya – Their quality characteristics. *Food Chemistry.* 141(2):769-775.
- Kumari M, Thakur S, Kumar A, Joshi R, Kumar P, Shankar R, Kumar R. 2019. Regulation of color transition in purple tea, (*Camellia sinensis*). *Planta.* 251(1):3-8.
- Li, W., Tan, L., Zou, Y., Tan, X., Huang, J., Chen, W., and Tang, Q. 2020. The effects of ultraviolet A/B treatments on anthocyanin accumulation and gene expression in dark-purple tea cultivar 'Ziyan' (*Camellia sinensis*). *Molecules.* 25(2): 354-369.
- Lichtenthaler, H.K., and Buschmann, C. (2001). Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV- VIS spectroscopy. *Current protocols in food analytical chemistry*, 1(1),F4-3.
- Marsac, NT and Houmard, J. 1993. Adaptation of cyanobacteria to environmental stimuli: new steps towards molecular mechanisms. *FEMS Microbiology Reviews.* 10(1-2): 119-189.
- Mazza, G., and Miniati, E. 1993. Anthocyanins in Fruits, Vegetables and Grain. 1st Edn. CRC Press, Boca Raton, FL., ISBN.10(0849301726): 85-129.
- Nakhumicha Muriithi, A., Wamocho, L.S., and Njoroge, J.B.M. 2009. Effect of pH and magnesium on color development and anthocyanin accumulation in *Tuberose florets*. *African Crop Science Society.* 9(143): 227-234.
- Payyavula, R.S., Navarre, D.A., Kuhl, J.C., Pantoja, A., and Pillai, S. S. 2012. Differential effects of environment on potato phenylpropanoid and carotenoid expression. *BMC Plant Biology*, 12(1), 1-17.
- Sano, T., Horie, H., Matsunaga, A., and Hirono, Y. 2018. Effect of shading intensity on morphological and color traits and on chemical components of new tea (*Camellia sinensis* L.) shoots under direct covering cultivation. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 98(15): 5666-5676.
- Shen, J., Zou, Z., Zhang, X., Zhou, L., Wang, Y., Fang, W., and Zhu, X. 2018. Metabolic analyses reveal different mechanisms of leaf color change in two purple-leaf tea plant (*Camellia sinensis* L.) cultivars. *Horticulturae Research.* 5(7):1-14.
- Shimoda, H., Hitoe, S., Nakamura, S., and Matsuda, H. 2015. Purple tea and its extract suppress diet-induced fat accumulation in mice and human subjects by inhibiting fat absorption and enhancing hepatic carnitine palmitoyltransferase expression. *International Journal of Biomedical, Science.* 11(2):67-75.
- Shin, Y. H., Yang, R., Shi, Y. L., Li, X. M., Fu, Q. Y., Lu, J. L., and Liang, Y. R. 2018. Light-sensitive albino tea plants and their characterization. *Hort Science.* 53(2): 144-147.
- Wan, X., 2008. Biochemistry of tea. China Agriculture Press, Beijing, China. 18-32.
- Wei, K., Zhang, Y., Wu, L., Li, H., Ruan, L., Bai, P., and Cheng, H. 2016. Gene expression analysis of bud and leaf color in tea. *Plant Physiology and Biochemistry.* 107(41):310-318.
- Xu, M. 2021. Advances in molecular mechanism of plant leaf color variation. *Molecules Plant Breed.* 10(5): 13271-13281.
- Zhang, Y.J., Gan, R.Y., Li, S., Zhou, Y., Li, A.N., Xu, D.P., and Li, H.B. 2015. Antioxidant phytochemicals for the prevention and treatment of chronic diseases. *Molecules* 20(12): 21138-21156.
- Zhang, W., Seki, M., and Furusaki, S. 1997. Effect of temperature and its shift on growth and anthocyanin production in suspension cultures of strawberry cells. *Plant Science.* 127 (2): 207-214.
- Zhou, B., Fan, P., Li, Y., Yan, H., and Xu, Q. 2016. Exploring miRNAs involved in blue/UV-A light response in *Brassica rapa* reveals special regulatory mode during seedling development. *BMC Plant Biology.* 16(1):1-13.