

COMPLEXITAT DELS FACTORS QUE INFLUEIXEN EN LA COLORACIÓ DELS CLAVELLS

Comunicació presentada el dia 22 de gener de 1976
per

DOLORS VIDAL I MAS

Departament de Fisiologia Vegetal. Facultat de Biologia
Universitat de Barcelona.

SUMMARY

Complexity of the factors that have some influence in the carnation's colour

We have showed, that pigment content is not the only factor which influence in the colour manifestation.

Some environment factors, effects of co-pigmentation among the pigments, and also the epidermis morphology of the petals, produce remarkable changes in the flower coloration.

INTRODUCCIÓ

Els pigments flavonoides, principals responsables de la coloració de flors i fruits, estan quasi universalment repartits a les plantes superiors. L'ordre centrospermes és l'únic en què manquen, excepció feta de la família de les cariofillàcies de la qual, per al nostre treball, hem elegit el gènere *Dianthus*.

La bibliografia que existeix sobre el gènere *Dianthus* tracta principalment sobre temes com: l'herència del color (MEHLQUIST, 1940-1945); fenòmens de mutagènesi (STEWART, 1951; MEHLQUIST i SAGAWA, 1962; BUIATTI, 1965); efectes químics que acompanyen les alteracions genètiques (GEISMAN, 1956); influència de la temperatura en el creixement i floració (HANNAN, 1959; BUNT, 1972); estudi cromatogràfic dels antocians d'algunes varietats (O'OTANI i MIURA, 1961; HARBORNE, 1967); canvis estructurals que es produeixen durant el desenvolupament dels àpexs (EMINO, 1971); infeccions víriques (CASTRO, 1971); etc.

Tenint en compte que el clavell és una de les plantes ornamentals

de més producció i acceptació en floricultura, i veient l'important paper que té la coloració, tema no suficientment estudiat fins a l'actualitat, hem considerat interessant aprofundir en aquest aspecte.

MATERIAL

El material utilitzat ha estat recollit als Camps Experimentals de Pedralbes i a la comarca del Maresme (regió de Barcelona).

Hem estudiat principalment la varietat anomenada *Carmen*, de color vermell i amb una brillantor molt intensa que li dona aspecte vellutat; també les varietats *Sitges* i *Vermell 2001* de tonalitat i brillantor menys intensa, totes obtingudes en aquesta zona.

A títol comparatiu hem utilitzat la varietat *Scania*, de la raça americana *Sim*, de color vermell similar, però amb brillantor no tant marcada, que actualment hom cultiva al aire lliure en aquesta regió.

Mètodes

a) Per a l'extracció i identificació dels pigments flavonoides hem seguit les tècniques clàssiques assenyalades per HARBONE² i RIBEREAU-GAYON:⁷

- Maceració dels pètals en metanol amb o sense ClH.
- Purificació per cromatografia amb paper *Whatman*.
- Identificació per cromatografia en paper i en capa fina i per espectrofotometria, utilitzant substàncies patrons.
- Anàlisi semiquantitativa dels pigments per colorimetria, a 525 nm en medi metanol-ClH.

b) Electroforesi sobre paper de cel·lulosa, amb tampó a pH = 2 (Àcid fòrmic/àcid acètic no glacial/aigua) i a 400 volts, per determinar els possibles efectes de co-pigmentació entre antocians i flavonols.

c) Estudi micromorfològic de l'epidermis dels pètals per:

— Microscòpia ordinària: fixació amb Carnoy sense cloroform, deshidratació per sèrie alcohòlica, coloració amb blau de toluidina.

També observació amb il·luminació episcòpica i filtre blau.

— Microscòpia electrònica: fixació amb Carnoy, deshidratació per sèrie alcohòlica, dessecació sota punt crític (*critical point drying*) i metal·lització amb or-palladi (200 Å de gruix). Observació amb microscopi electrònic scanning Cambridge Stereoscan S-4, del Servei de Microscòpia de la Universitat de Barcelona.

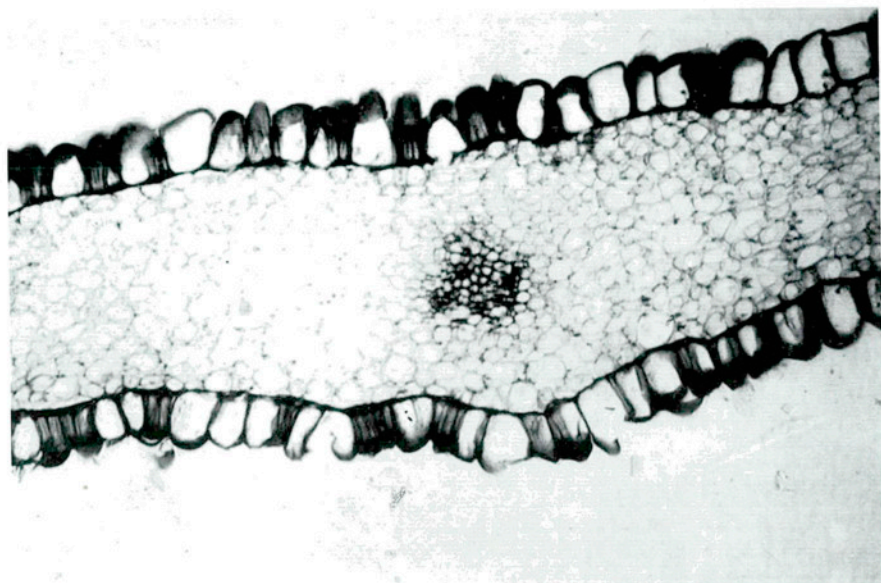


FIG. 1. — Varietat *Carmen*. Tall transversal del pètal.

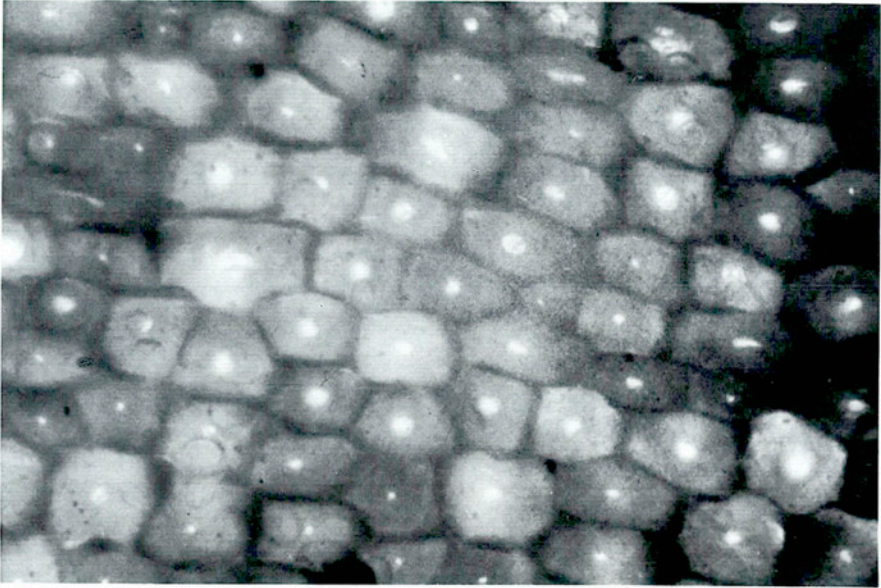


FIG. 2. — Varietat *Carmen*. Superfície del pètal observada amb il·luminació episcòpica.

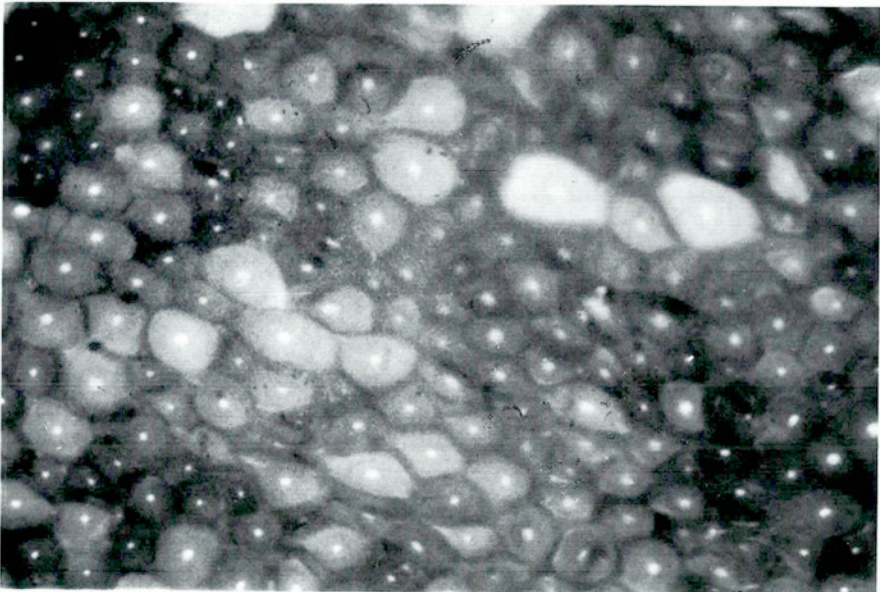


FIG. 3. — Varietat *Scania*. Superfície del pètal observada amb il·luminació episcòpica.

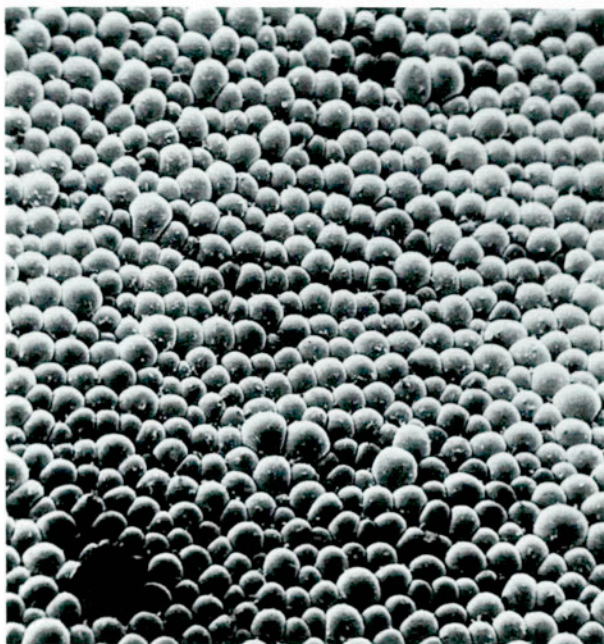


FIG. 4.— Varietat *Carmen*. Observació de la superfície del pètal amb microscopi electrònic «scanning».

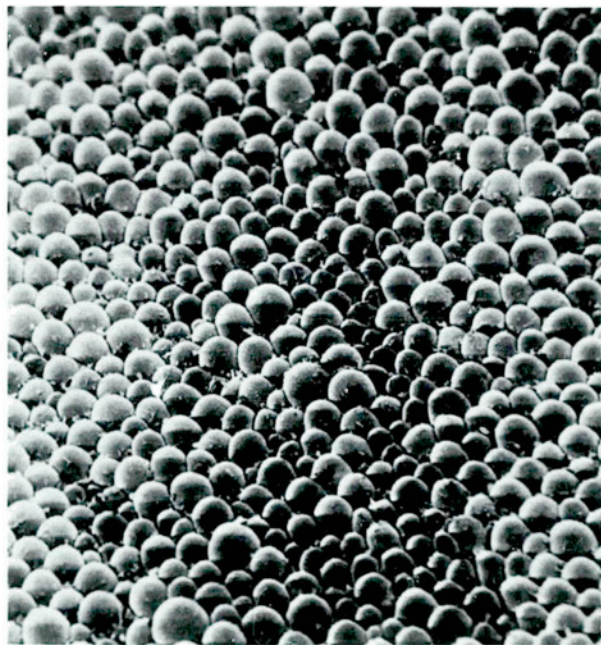


FIG. 5.— Varietat *Scania*. Observació de la superfície del pètal amb microscopi electrònic «scanning».

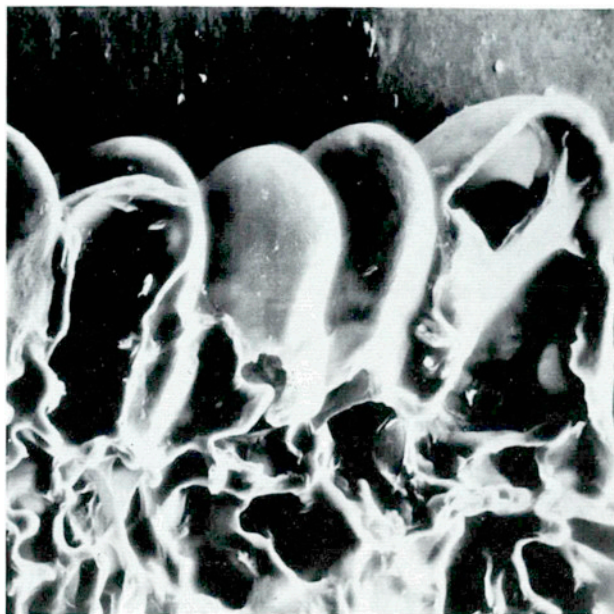


FIG. 6.—Varietat *Scania*. Tall transversal del pètal; observació amb microscopi electrònic «scanning».

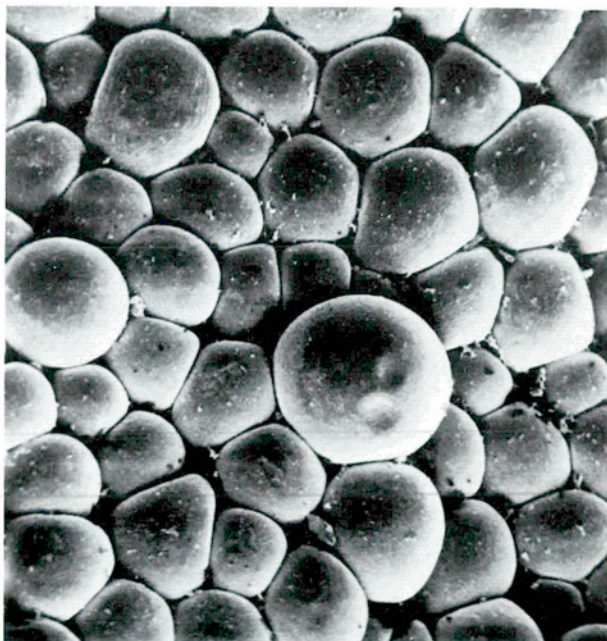


FIG. 7.—Varietat *Sitges*. Observació de les cèl·lules superficials del pètal amb microscopi electrònic «scanning».

RESULTATS I DISCUSSIÓ

a) Anàlisi qualitativa dels pigments

Les quatre varietats estudiades presenten antocians i flavonols com a únics flavonoides. Els antocians són exclusivament heteròsids de la pelargonidina i els flavonols heteròsids del kaempferol.¹⁰

L'anàlisi semiquantitativa dóna valors lleugerament diferents a les quatre varietats.

Així, per exemple, a la tardor de 1973, la concentració mitjana d'antocians per cm² de pètal, expressada en mil·ligrams de pelargonidina era de:

| | | |
|-----------------------|---------------------|----------------------------|
| <i>Carmen</i> : | Absorbància = 0,035 | 0,128 mgr/cm ² |
| <i>Vermell 2001</i> : | Absorbància = 0,032 | 0,1024 mgr/cm ² |
| <i>Sitges</i> : | Absorbància = 0,030 | 0,096 mgr/cm ² |
| <i>Scania</i> : | Absorbància = 0,020 | 0,061 mgr/cm ² |

Aquesta relació de concentració es manté, si bé tots els valors augmenten o disminueixen en les diferents èpoques de l'any d'acord amb certs factors ambientals com la intensitat de llum i la temperatura.

— Valors alts d'intensitat de llum augmenten la producció d'antocians, ja que és un factor que actua afavorint els processos enzimàtics de la biosíntesi; a baixes intensitats no hi ha formació de pigments, com han demostrat SHISA,⁸ PARKS,⁵ SMITH.⁹

— La temperatura, en canvi, quan augmenta provoca una disminució del contingut de pigments, degut, segons ZIESLIN i HALEVY¹¹ a una disminució d'activitat enzimàtica; PAYNOT i MARTIN⁶ consideren que podria ésser degut a una destrucció dels pigments ja formats.

Les nostres varietats mediterrànies segueixen aquestes teories. Presenten colors vermells més intensos a les èpoques de baixa temperatura —tardor, hivern—, que durant les estacions caloroses —estiu.

La varietat *Scania* s'aparta una mica d'aquest comportament, puix que és a la primavera i a començament d'estiu quan té el vermell més intens. Això, que a primer cop d'ull sembla contradir els resultats anteriors, és degut al fet que, en ser una varietat originàriament d'hivernacle que es cultiva a l'aire lliure sofreix acusadament les condicions climàtiques extremes, i manifesta no solament una pèrdua de color, sinó també una disminució de qualitat en general.

b) Efectes de copigmentació

Entre els antocians i flavonols dels pètals de les varietats que hem estudiat no es produeixen efectes de copigmentació, responsables en

alguns casos, com han observat LOOSE³ i ASEN, STEWART i NORRIS,¹ de diferències de coloració amb un mateix contingut de pigments.

Amb la tècnica de l'electroforesi, que permet una separació acurada entre antocians i flavonols basada en llurs característiques de mobilitat electroforètica, hem pogut posar de manifest que els nostres antocians no resulten modificats per la presència de flavonols i per tant que no hi estan units. Queda així demostrada l'absència de copigmentació en el nostre cas.

Tenim, doncs, que les diferències de tonalitat i, sobretot, de brillantor de les quatre varietats, no les podem explicar ni pel contingut en pigments, que són els mateixos i no formen copigmentació, ni per les lleugeres diferències de concentració, ni tampoc per variació de condicions ambientals, ja que han estat conreades a la mateixa zona i experimentades en el mateix període vegetatiu.

c) Morfologia de l'epidermis dels pètals

Intentant resoldre el problema vàrem recórrer al estudi de la morfologia de l'epidermis dels pètals.

L'observació el microscòpic òptic d'un tall transversal de pètal mostra un parènquima de tipus esponjós, però bastant compacte, i les cèl·lules de l'epidermis de la cara adaxial en forma de campana allargada d'aspecte de grosses papilles (fig. 1).

La il·luminació episcòpica d'aquesta cara adaxial permet comprovar que en la varietat *Carmen*, el nombre de cèl·lules per unitat de superfície és petit a causa de llur grandària superior, llur distribució és regular i presenta punts d'il·luminació molt marcats i regulars (fig. 2).

A la varietat *Scania*, el nombre de cèl·lules per unitat de superfície és més elevat, ja que són de mida més petita i desigual; els punts d'il·luminació són evidentment més petits i de distribució irregular (fig. 3).

Amb el microscopi electrònic d'escombratge (*scanning*) hom evidencia aquestes diferències. Al *Carmen*, la mida gran i regular de les cèl·lules permetria una reflexió molt marcada i uniforme de la llum i donaria una brillantor intensa a tot el pètal que explicaria el seu aspecte vellutat (fig. 4).

A l'*Scania* en canvi, les cèl·lules més grosses fan ombra més o menys marcada, segons l'angle d'il·luminació, a les cèl·lules petites, cosa que provoca una disminució notable de la brillantor que explicaria les diferències que hom aprecia entre les dues varietats (fig. 5).

A les varietats *Vermell 2001* i *Sitges* s'ha observat una constitució intermèdia entre les anteriorment esmentades.

El microscopi electrònic d'escombratge (*scanning*) ha permès també demostrar, que el microrrelleu cuticular no juga cap paper a la manifestació de les diferències de brillantor entre les nostres varietats.

La figura 6, que correspon a un tall transversal de pètal de la varietat *Scania*, mostra clarament que les cèl·lules superficials en forma de papilla tenen la cutícula completament llisa. El resultat a les altres

varietats és el mateix; així observem, per exemple, que en cèl·lules superficials del pètal de la varietat *Sitges* (fig. 7), la cutícula no presenta cap formació especial que pugui influir o interferir en la manifestació de la coloració o brillantor del pètal.

Per tant, creiem que les conclusions obtingudes expliquen les causes que provoquen les diferències de tonalitat i brillantor entre les varietats estudiades.

Nota: L'estudi microscòpic dels pètals s'ha realitzat en col·laboració amb la doctora M. Molinas i el Servei de Microscòpia de la Universitat de Barcelona.

BIBLIOGRAFIA

1. ASEN, S.; STEWART, R. i NORRIS, K.: *Co-pigmentation of anthocyanins in plant tissues and its effect on colour*. «Phytochemistry», 11: 1139-1144 (1972).
2. HARBORNE, J. B.: *Comparative Biochemistry of the flavonoids*. Academic Press, London and N.Y. (1967).
3. LOOSE, R. DE: *Flower pigment composition of natural bud variants among hybrid Chinese azaleas, Rhododendron simsii*. «J. Hort. Sci.», 45: 265-274 (1970).
4. O'OTANI, S. i TOSHIO, M.: *Paper Chromatographic survey on Anthocyanins in carnation, Dianthus caryophyllus*. «The Inst. for breeding research Bull.», 2: 22-27 (1961).
5. PARKS, C.; SANDHU, S. i MONTGOMERY, K.: *Floral Pigmentation Studies in the Genus Gossypium. IV. Effects of different growing environments on Flavonoid Pigmentation*. «Amer. Jour. Bot.», 59 (2): 158-164 (1972).
6. PAYNOT, M. i MARTIN, C.: *Biosynthèse des Anthocyanes de Begonia Gracilis var. Carmen en fonction de la température*. «Bull. Soc. Franç. Physiol. Végét.», 15 (1): 47-53 (1969).
7. RIBEREAU-GAYON, P.: *Les composés phénoliques des végétaux*. Dunod, Paris (1968).
8. SHISA, M. i TAKANO, T.: *Effect of temperature and light on the coloration of rose flowers*. «Jour. Japan Soc. Hort. Sci.», 33: 140-146 (1964).
9. SMITH, H.: *Regulatory mechanisms in the photocontrol of flavonoid Biosynthesis*. In: *Biosynthesis and its control in Plants*, ed. Milborrow, Academic Press London, N. York (1973).
10. VIDAL, M. D.; CABALLERO, A. i AGUILÀ, J. F.: *Extraction et identification des pigments flavonoïdes de quelques variétés méditerranéennes de Dianthus caryophyllus*. «Acta Horticulturae», 43 (2): 405-412 (1973).
11. ZIESLIN, N. i HALEVY, A.: *Petal blackening in «Baccara Roses»*. «Jour. of Amer. Soc. Hort. Sci.», 94 (6): 629-631 (1969).