تعیین (Inositol) درنهالهای (Zea mays) ذرت خالص و دورگه

بوسیله Eqbert W. Henry
از بخش علوم زیستی دانشگاه OAKLAND
ترجمه مرتضی مدنی
گروه زیست شناسی

خلاصه

برای اندازه‌گیری مقدارکل میواینوزیتول ومقدارآزاد آن درنهال نورسته‌ذرت ازچهار سویه[1] خالص (Hy2, B10, 28-11,Wf9) وسه‌سویه دورگه (Wf9x38-11 , US11 , B10xHy2) که بذرشان پوششی نازك واندکی آندوسپرم دارد استفاده شد. برای این‌کار ازقارچ جهش یافته Neurospora Crassa استفاده شد. پس‌از۱۲۰ ساعت‌که ازجوانه زدن بذرهاگذشت معلوم شدکه تراکم‌کل میواینوزیتول درسویه‌های خالص‌ودو رگه‌کاهش‌یافته است. ولی هنگامی‌که نهالهای آزمایش شده را پس از۱۲۰ ساعت بررسی کردند معلوم شدکه مقدارکل‌میواینوزیتول‌کاهش‌کمتری‌را نسبت به‌دورگه‌هانشان‌می‌دهد. ملازم‌آن‌درسویه نهالهای دورگه نسبت به جورهای خالص در همین ۱۲۰ ساعت درصد میواینوزیتول آزاد بیشتراست. ظاهراً درمراحل نخستین جوانه‌زدن،سویه های‌دورگه ذرت توانائی‌زیادتری برای متابولیسم‌کل میواینوزیتول به‌صورت‌آزاد را نسبت به‌جورهای[2] خالص ذرت دارا می‌باشند.

مقدمه

دراین مقاله نام اینوزیتول برای (Meso) یا میواینوزیتول بکاررفته است واشخاص نامبرده زیرچندین تحقیق درباره اینوزیتول موجود در بذر ذرتهای جوانه زده طی سالهای مختلف انجام داده‌اند. در سال ۱۹۶۷ (Robert , Shoh-Loewus) در سال ۱۹۶۷

۱- Strain ۲- Variety

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

درسال۱۹۶۹(Watanaba, Kurasawa, Hayakawa) درسال۱۹۷۱(Loewus).

به نظر لوئوس ۲۹۷۱ ظاهراً Glucose – 6 – phosphat) ماده زمینه عمل برای انیزم سنتز اینوزیتول درون بافتهای گیاهان عالی است و به‌گفته ربرت ولوئوس درسال ۱۹۶۸ دیل سریع [2-14C] Iuositol به اینوزیتول منوفسفات نشان شده دربافت کلاهك ریشه ل ذرت سه روزه در محیط کشت زنده[1] نشان می‌دهد که این واکنش حد واسطی در تبدیل وزیتول به اسید Phytic است.

بنابر نظر لوئوس۱۹۷۱ اینوزیتول آزادکه بیوسنتز Cyclitol را ازطریق L- Myo-) ionsitol – 1 phospha به متابولیسم هگزور مربوط می‌کند از این قرار دریك نقطه سال تبدیل هیدروکربور عمل می‌کند و بنابر نظر لوئوس در ۱۹۷۱ هدایت ساختمان دست ورده میواینوزیتول به اسیدفی تیك ممکن است از راه این سیستم تبدیل باشد علاوه براین گمان لوئوس ۱۹۷۱ بنظر می‌رسد که میواینوزیتول در بیوسنتز اسید Glucuronic نقشی شته باشد. در۱۹۷۱ لوئوس گفت که (چهار ترکیب (IAA- Inositol esters) راکه درآب حلول‌اند از مغز ذرتهای خشك شده شیرین جدا ساخته‌اند.

دراین بررسی‌وجود اینوزیتول آزاد ومقدار کل آن دربافت‌های نهال چهار سویه خالص ه سویه دورگه‌که بذرشان دارای پوشش نازك‌واندکی‌اندوسپرم است طی۱۲۰ ساعت‌جوانه زدن یین گردیده است.

واد و روشها

چهارسویه پدری‌بذر ذرت (Hy2, B10,28-11,Wf9) و سه دودمان[2] دودمان دورگه (Wf9x38-, us11, B10xHy2 برای این بررسی بکار رفت.

در ۱۹۴۵ (Mc Veigh, Burkhol) از هرجور را بـه مـدت ۵ دقیقه درون محلول پوکلریت‌کلسیم (W / V)%۵خیسانده. سپس آنهارابا آب مقطرسترون شستشودادندوبعدباکاغذ شك‌کن سفید سترون رطوبتشان را گرفتند. آنگاه دانه‌های خشك هرسویه جداگانه‌را روی

۱- Vivo ۲- Line

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

نورس همانند را ازطشتك‌ها برداشتند واین کاررا به‌مدت ۱۲۰ ساعت ادامه دادند سپس پوشش وآندوسپرم هردانه‌را با باقیمانده هر نمونه نهال خشك‌شده جمع‌آوری‌کردند معلوم شد هر گاه مقدار ۱۲۰ گرم ازنمونه‌را درون طشتك کوچك‌چینی درتنور الکتریکی بمدت ۲۴ ساعت در حرارت ۲۸ درجه سانتیگراد قرار دهند. نتایج ثابت ومثمری‌عایدمیگردد لذا نمونه‌های‌خشك شده‌را بادسته هاون‌کوچك چینی بخوبی سائیدند و گرد آن نمونه‌ها را درون دستگاه خشك نگاهدارنده درصفر درجه سانتی‌گراد قراردادند.

کل‌اینوزیتول ـ هر نمونه گرد ۲۵۰ میلی‌گرمی به توسط (10ml 3% (W/V)H2so4) به‌مدت ۲ساعت زیر فشار ۱۰۵ اتمسفر فشار عصاره‌کشی گردید و مواد غیر شناور توسط صافی گرفته شده ودر NaoH ۰/۱M میزان PH آن به ۵/۳ رسید وعصاره‌های هر نمونه مربوط پس از انجماد برای تعیین‌کل اینوزیتول موجودبکار رفت.

اینوزیتول‌آزاد ـ هر نمونه گرد۲۵۰ میلی گرمی توسط (0.04ml Hcl) در حرارت آزمایشگاه بمدت۲۴ ساعت عصاره‌کشی شدآنگاه نمونه مربوط عصاره‌هاپس ازانجماد بلافاصله برای سنجش اینوزیتول آزاد کار رفت.

آزمایش اینوزیتول ـ در (Beadle ۱۹۴۴) از سویه قارچ جهش یافته Neurospora-Crassa به‌عنوان آزمون بیولوژیکی استفاده گردیده است.

درعمل مقدار اینوزیتول هر نمونه بامقایسه وزن‌کلاف میسلیومی‌که قارچ جهش یافته برابر اینوزیتول ایجادکرده است نسبت به شاهدهای آماده شده سنجیده می‌شود (و منحنی استاندارد بامقادیر معلوم اینوزیتول رسم می‌گردد.)

در۱۹۴۴ Beadle محیط‌های کشت قارچ نوروسپوراکراسارا برروی تکه آگار آغشته با (مدیوم فریس) محیط کاملا مغذی جهت جهش‌های ویتامینی بکاربرد و قطعات آگار حامل قارچ به مدت ۷روز در (28°C.) در گرمخانه باقی‌ماند آنگاه با افزودن (0.01ml) ماده تزریقی به (10ml) آب مقطر تعدادی شاهد (قرعهای 50-ml) ارلن مایر[1] که دربشان باپنبه مسدود شده) برای هرآزمایش آماده گردید تا بتوان منحنی استاندارد را برمبنای اوزان میسلیوم برای مقادیر سنجش شده اینوزیتول رسم نموده

1- Erlen meyer Flasks

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

اینوزیتول آزاد- هرقرغ‌حاوی (Fries medium, 5 ml) باضافه یك میلی‌لیتر از
ـاره نمونه‌های 6. oM HCL مربوط بود.

کـل اینوزیتول - هـر قـرع حـاوی مقـدار 5ml (Fries medium) بـه اضافـه
%(v/w)H2so نمونه‌های عصاره‌کشی شده بود.

سنجش اینوزیتول آزاد وکل- کلاف میسلیومی‌را توسط صافی ازهرقرع گرفته به مدت
ـساعت درحرارت (28°C.) خشك می‌سازند . وزن‌کلاف‌های‌خشك میسلیوم یك به‌یك معلوم
ـی‌گردد ومقدار اینوزیتول آزادوکل بامقایسه اوزان‌غیرمشخص‌کلاف میسلیوم باآنچه مربوط
ـشاهدها است (منحنی استاندارد) معلوم می‌شود.

نتایج

کل اینوزیتول-

طبق مندرجات جدول یك تراکم‌کل اینوزیتول در هرسه ردیف نهال سویه ذرت خالص
ـمدت۱۲۰ساعت‌کاهش می‌یابد. درصورتی‌که درردیف‌های نهال‌ذرت سویه‌های دورگه به‌موجب
ـجدول۱) این‌کاهش درسراسر دوره جوانه‌زدن بیشتر مشاهده میشود. کاهش‌کل اینوزیتول در
ـویه‌های خالص‌ودو رگه درآغاز دوره جوانه زدن در ساعتهای (۴۰-۰) بالنسبه تدریجی است .
ـصورتی‌که درمراحل بعدی رشد یعنی درساعات بین (۱۲۰-۷۰) این‌کاهش شدیدتر می‌گردد.

اینوزیتول آزاد.

در مدت۱۲۰ ساعت جوانه‌زدن مقدار اینوزیتول‌آزاد طبق جدول(۱) درسویه‌های خالص
ـاد می‌گردد

ظاهراً ازدیاد اینوزیتول آزاد درهردو سویه خـالص ودورگه بطور قابل ملاحظه بیشتر
ـت ولی ازدیاد نسبی بیشتری برای اینوزیتول آزاد در مراحل بعدی جـوانـه زدن یعنی در
ـاعات (۱۲۰-۴۰) نسبت به‌ساعات (۴۸-۰) وجود دارد به‌جدول۱ رجوع‌شود.

جدول۱- وزن خشك واینوزیتول‌محتوی نهالهای چهارسویه‌ذرت خالص وسه‌سویه ذرت
ـرگه درشش مرحله رشد.

۲- Feris mebium

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

Stage (h)	Strain	Fr. wt. g^{-1}	Dry wt. g^{-1}	Total	Δ	Free	Δ
0	W_{f_1}	0·55	0·27	259·0	−34·6	94·5	41·5
24		0·38	0·32	220·8		121·6	
48		0·40	0·54	224·4		136·0	
72		0·54	0·46	211·6	2·6	188·8	104·4
96		0·53	0·49	225·4		269·5	
120		0·58	0·49	214·2		293·2	
0	Hy_2	0·35	0·29	174·0	−9·5	115·5	68·1
24		0·39	0·32	179·2		168·0	
48		0·41	0·35	164·5		183·6	
72		0·51	0·46	179·4	−51·8	269·1	165·9
96		0·50	0·46	174·8		324·5	
120		0·57	0·56	127·6		435·0	
0	B_{10}	0·31	0·39	156·3	−12·0	78·0	55·2
24		0·38	0·33	160·1		108·9	
48		0·45	0·37	144·3		133·2	
72		0·52	0·46	146·6	−7·4	299·0	48·2
96		0·52	0·45	144·0		224·0	
120		0·49	0·45	139·2		257·2	
0	38·11	0·34	0·28	131·6	13·9	112·9	63·0
24		0·37	0·32	147·2		142·4	
48		0·42	0·35	145·5		175·0	
72		0·49	0·45	124·5	−16·7	234·3	96·4
96		0·58	0·48	105·6		312·0	
120		0·56	0·49	107·8		330·7	
0	$W_{f_1} \times 38\text{-}11$	0·36	0·29	174·0	−14·0	68·0	72·0
24		0·46	0·51	173·6		69·7	
48		0·48	0·40	160·0		140·0	
72		0·52	0·47	158·7	−74·7	133·9	117·3
96		0·62	0·59	153·4		209·4	
120		0·75	0·67	84·0		251·2	
0	US13	0·36	0·28	198·0	−5·3	98·0	96·7
24		0·38	0·33	207·9		123·7	
48		0·49	0·41	192·7		194·7	
72		0·52	0·44	158·0	−74·8	248·8	247·2
96		0·59	0·54	93·5		393·2	
120		0·79	0·64	83·2		496·0	
0	$B_{10} \times Hy_2$	0·34	0·28	184·8	−4·2	126·0	84·0
24		0·37	0·30	180·0		157·5	
48		0·43	0·35	180·6		210·0	
72		0·54	0·47	205·2	−59·2	352·5	149·7
96		0·68	0·54	191·4		440·1	
120		0·74	0·58	146·0		502·2	

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

این تحقیق نشان می‌دهدکه دربذر سویه‌های ذرت خالص ودو رگه جوانه زده مقدارکل زیتول کاهش یافته است، ولی طی ۱۲۰ ساعت دوره رشد، اینوزیتول آزاد افزایش می‌یابد. زیتول آزاد دورگه به‌ویژه سویه (US 13) ازدیاد نمایانتری نسبت به دیگر دورگه و ه‌های خالص نشان می‌دهند «جدول۱». ظاهراً مراحل نخستین جوانه زدن‌را می‌توان حالت انی برای آماده شدن اینوزیتول آزاد به‌هزینه‌کل اینوزیتول دانست. هرچندکه درمراحل ای رویش جورهای دو رگه ذرت نسبت به جورهای خالص در واسطه قراردادن متابولیسم زیتول بین شکل آزاد وکل آن توانائی بیشتری دارند. محقق نیست که این توانائی را تا حد میتوان به‌صفت منحصر ژنتیکی دورگه‌ای‌که بادودمانهای خالص دراین تحقیق مقایسه یده نسبت دهیم.

ع :

LITERATURE CITED

ASADA, K., TANAKA, K., and KASAI, Z., 1969. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **146**, 801–14.
BEADLE, G. W., 1944. *J. biol. Chem.* **156**, 683–9.
BIANCHETTI, R., and SARTIRANA, M. L., 1967. *Biochim. biophys. Acta*, **145**, 485–90.
BURKHOLDER, P. R., and MCVEIGH, I., 1945. *Pl. Physiol., Lancaster*, **20**, 301.
KURASAWA, H., HAYAKAWA, T., and MOTODA, S., 1967. *Agric. biol. Chem.* **31**, 382–4.
——— and KANAUCHI, Y., 1968. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* **42**, 587–90.
——— and WATANABE, S., 1969. Ibid., **43**, 55–9.
LOEWUS, F., 1971. *A. Rev. Pl. Physiol.* **22**, 337–64.
MANDAL, N. C., and BISWAS, B. B., 1970. *Pl. Physiol., Lancaster*, **45**, 4–7.
ROBERTS, R. M., SHOH, R. H., and LOEWUS, F., 1967. Ibid. **42**, 659–66.
——— and LOEWUS, F., 1968. Ibid. **43**, 1710–16.
DESHUSSES, J., and LOEWUS, F., 1968. Ibid., **43**, 979–89.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]

فتگو

این تحقیق نشان می‌دهدکه دربذر سویه‌های ذرت خالص ودو رگه جوانه زده مقدارکل
یتول کاهش یافته است، ولی طی ۱۲۰ ساعت دوره رشد، اینوزیتول آزاد افزایش می‌یابد.
یتول آزاد دورگه به‌ویژه سویه (US 13) ازدیاد نمایانتری نسبت به دیگر دورگه و
های خالص نشان می‌دهند «جدول۱». ظاهراً مراحل نخستین جوانه زدن‌را می‌توان حالت
ی برای آماده شدن اینوزیتول آزاد به‌هزینه‌کل اینوزیتول دانست. هرچندکه درمراحل
ی رویش جورهای دو رگه ذرت نسبت به جورهای خالص در واسطه قراردادن متابولیسم
یتول بین شکل آزاد وکل آن توانائی بیشتری دارند. محقق نیست که این توانائی را تا
د میتوان به‌صفت منحصر ژنتیکی دورگه‌ای‌که بادودمانهای خالص دراین تحقیق مقایسه
ده نسبت دهیم.

:

LITERATURE CITED

Asada, K., Tanaka, K., and Kasai, Z., 1969. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **146**, 801–14.
Beadle, G. W., 1944. *J. biol. Chem.* **156**, 683–9.
Bianchetti, R., and Sartirana, M. L., 1967. *Biochim. biophys. Acta*, **145**, 485–90.
Burkholder, P. R., and McVeigh, I., 1945. *Pl. Physiol., Lancaster*, **20**, 301.
Kurasawa, H., Hayakawa, T., and Motoda, S., 1967. *Agric. biol. Chem.* **31**, 382–4.
——— and Kanauchi, Y., 1968. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* **42**, 587–90.
——— and Watanabe, S., 1969. Ibid., **43**, 55–9.
Loewus, F., 1971. *A. Rev. Pl. Physiol.* **22**, 337–64.
Mandal, N. C., and Biswas, B. B., 1970. *Pl. Physiol., Lancaster*, **45**, 4–7.
Roberts, R. M., Shoh, R. H., and Loewus, F., 1967. Ibid. **42**, 659–66.
——— and Loewus, F., 1968. Ibid. **43**, 1710–16.
Deshusses, J., and Loewus, F., 1968. Ibid., **43**, 979–89.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-10-12]