تعیین (Inositol) در نهالهای (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 مقدار کل میواینوزیتول ومقدار آزاد 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 بذرها‌گذشت معلوم شدکه تراکم‌کل میواینوزیتول درسویه‌های خالص‌ودو رگه‌کاهش‌یافته است. Neurospora Crassa استفاده شد. پس‌از ۱۲۰ ساعت‌که ازجوانه زدن ازقارچ جهش یافته

ولی هنگامی‌که نهالهای آزمایش شده را پس از ۱۲۰ ساعت بررسی کردند معلوم شدکه مقدار کل‌میواینوزیتول کاهش کمتری‌را نسبت به‌دورگه‌ها نشان‌می‌دهد. ملازم‌آن‌درسویه نهالهای دورگه نسبت به جورهای خالص در همین ۱۲۰ ساعت درصد میواینوزیتول آزاد بیشتر است. 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 زده‌طی سالهای مختلف انجام داده‌اند. در سال ۱۹۶۷ (Robert , Shoh-Loewus) در سال ۱۹۶۷

۱- Strain ۲- Variety

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-12-23]

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

به نظـر لوئوس ۲۹۷۱ ظاهراً Glucose – 6 – phosphat) ماده زمینه عمل بـرای انیزم سنتز اینوزینول‌درون بافتهای گیاهان عالی است وبه‌گفته ربرت ولوئوس درسال ۱۹۶۸ دیل سریع Iuositol [2-14C] به اینوزیتول منوفسفات نشان شده دربافت‌کلاهك ریشه ل ذرت سه روزه در محیط کشت زنـده[1] نشان می‌دهد کـه این واکنش حد واسطی در تبدیل وزیتول به‌اسید Phytic است.

بنابرنظر لوئوس۱۹۷۱ اینوزیتول‌آزادکه بیوسنتز Cyclitol را ازطریق L- Myo-) ionsitol – 1 phospha به متابولیسم هگزور مـربوط می‌کند از این قـرار دریك نقطه سال تبدیل هیدروکربور عمل می‌کند و بنابر نظر لوئوس در ۱۹۷۱ هـدایت 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 لوئوس‌گفت‌که (چهار ترکیب (IAA- Inositol esters) راکـه درآب حلول‌اند از مغز ذرتهای خشك شده شیرین جدا ساخته‌اند.

دراین بررسی‌وجود اینوزیتول آزاد ومقدار کل‌آن دربافت‌های نهال چهار سویه خالص سه سویه دورگه‌که بذرشان دارای پوشش‌نازك‌واندکی‌اندوسپرم است طی۱۲۰ ساعت‌جوانه زدن بین‌گردیده است.

واد و روشها

چهارسویه پدری‌بذر ذرت (Hy2, B10,28–11, Wf9) و سه دودمان[2] دودمان دورگه (Wf9x38–, us11, B10xHy برای این بررسی بکار رفت.

در ۱۹۴۵ (Mc Veigh, Burkhol) از هرجور را بـه مـدت ۵ دقیقه درون محلول یپوکلریت‌کلسیم (W/V)%۵خیسانده. سپس‌آنهارابا‌آب 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 2024-12-23]

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 ومتمری‌عایدمیگردد 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 ودر۰/۱M NaoH میزان PH آن به۵/۳ 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 2024-12-23]

اینوزیتول آزاد- هر قرع حاوی (Fries medium, 5 ml) باضافه یك میلی‌لیتر از
اره نمونه‌های 6. oM HCL مربوط بود.

کل اینوزیتول - هر قرع حاوی مقدار 5ml (Fries medium) به اضافه
%(v/w)H2so نمونه‌های عصاره‌کشی شده بود.

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

نتایج

کل اینوزیتول-

طبق مندرجات جدول یك تراکم‌کل اینوزیتول در هرسه ردیف نهال سویه ذرت خالص
مدت۱۲۰ساعت‌کاهش می‌یابد. درصورتی‌که درردیف‌های نهال‌ذرت سویه‌های دورگه به‌موجب
جدول۱) این‌کاهش درسراسر دوره جوانه‌زدن بیشتر مشاهده میشود. کاهش‌کل اینوزیتول در
ویه‌های خالص‌ودو رگه درآغاز دوره جوانه زدن در ساعتهای (۴۰-۰) بالنسبه تدریجی است .
رصورتی‌که درمراحل بعدی رشد یعنی درساعات بین (۱۲۰-۷۰) این‌کاهش شدیدتر می‌گردد.

اینوزیتول آزاد.

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

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

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

۲- Feris mebium

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-12-23]

Stage (h)	Strain	Fr. wt. g^{-1}	Dry wt. g^{-1}	Total	Δ	Free	Δ
0	W_{f_2}	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	13·0	112·0	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	$W_{f_2} \times 38\text{-}11$	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 2024-12-23]

گفتگو

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 2024-12-23]

گفتگو

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 رگه‌ذرت نسبت به جورهای خالص در واسطه قراردادن متابولیسم
یتول بین شکل آزاد وکل‌آن 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 2024-12-23]