

تعیین (Inositol) در نهالهای (Zea mays) ذرت خالص و دورگه

توسعه Egbert W. Henry

از بخش علوم زبستی دانشگاه OAKLAND

ترجمه مرتضی مدنی

مجموعه زبست شناسی

خلاصه

برای اندازه‌گیری مقدار کل میواینوزیتول و مقدار آزاد آن در نهال نوریستنه ذرت از چهار سویه^۱ خالص (Hy2, B10, 28-11, Wf9) و سه سویه دورگه (US11, Wf9x38-11) - (B10xHy2) که بذرشان پوششی نازک و اندکی آندوسپرم دارد استفاده شد. برای این کار از قارچ جهش یافته *Neurospora Crassa* استفاده شد. پس از ۱۲۰ ساعت که از جوانه زدن بذرها گذشت معلوم شد که تراکم کل میواینوزیتول در سویه‌های خالص و دو رگه کاهش یافته است. ولی هنگامی که نهالهای آزمایش شده را پس از ۱۲۰ ساعت بررسی کردند معلوم شد که مقدار کل میواینوزیتول کاهش کمتری را نسبت به دورگه‌ها نشان می‌دهد. ملازم آن در سویه نهالهای دورگه نسبت به جورهای خالص در همین ۱۲۰ ساعت درصد میواینوزیتول آزاد بیشتر است. ظاهراً در مراحل نخستین جوانه زدن، سویه‌های دورگه ذرت توانایی زیاده‌تری برای متابولیسم کل میواینوزیتول به صورت آزاد را نسبت به جورهای^۲ خالص ذرت دارا می‌باشند.

مقدمه

در این مقاله نام اینوزیتول برای (Meso) یا میواینوزیتول بکار رفته است و مشخص نامبرده زیر چندین 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

در سال ۱۹۶۹ (Watanaba, Kurasawa, Hayakawa) و در سال ۱۹۷۱ (Loewus).
 به نظر لوئوس ۲۹۷۱ ظاهر آ Glucose - 6 - phosphat) ماده زمینه عمل برای
 آنزیم سنتز اینوزیتول درون بافت‌های گیاهان عالی است و به گفته ربرت و لوئوس در سال ۱۹۶۸
 ییل سریع [2-14 C] Iuositol به اینوزیتول منوفسفات نشان شده در بافت کلاهیك ریشه
 ل ذرت سه روزه در محیط کشت زنده^۱ نشان می‌دهد که این واکنش حد واسطی در تبدیل
 اینوزیتول به اسید Phytic است.

بنابر نظر لوئوس ۱۹۷۱ اینوزیتول آزاد که بیوسنتز Cyclitol را از طریق (L- Myo-
 ionsitol - 1 phosphat) به متابولیسم هگزور مربوط می‌کند از این قرار در یک نقطه
 سال تبدیل هیدروکربور عمل می‌کند و بنابر نظر لوئوس در ۱۹۷۱ هدایت ساختمان دست
 آورده میواینوزیتول به اسیدی تیک ممکن است از راه این سیستم تبدیل باشد علاوه بر این
 گمان لوئوس ۱۹۷۱ بنظر می‌رسد که میواینوزیتول در بیوسنتز اسید Glucuronic نقشی
 داشته باشد. در ۱۹۷۱ لوئوس گفت که (چهار ترکیب (IAA - Inositol esters) را که در آب
 محلول اند از مغز ذرت‌های خشک شده شیرین جدا ساخته‌اند.

در این بررسی وجود اینوزیتول آزاد و مقدار کل آن در بافت‌های نهال چهار سویه خالص
 سه سویه دورگه که بندرشان دارای پوشش نازک و اندکی اندوسپرم است طی ۱۲۰ ساعت جوانه زدن
 تعیین گردیده است.

مواد و روشها

چهار سویه پدري بذر ذرت (Hy2, B10, 28-11, Wf9) و سه دودمان آ دودمان دورگه
 (Wf9x38, us11, B10xHy2) برای این بررسی بکار رفت.

در ۱۹۴۵ (Mc Veigh, Burkhol) از هر جور را به مدت ۵ دقیقه درون محلول
 بیوکاریت کاسیم (W/V) ۵٪ خیسانده. سپس آنها را با آب مقطر سترون شست و دادند و بعد با کاغذ
 خشک کن سفید سترون رطوبتشان را گرفتند. آنگاه دانه‌های خشک هر سویه جداگانه را روی

۱- Vivo

۲- Line

تورس همانند را از طشتک‌ها برداشتند و این کار را به مدت ۱۲۰ ساعت ادامه دادند سپس پوشش و آندوسپیرم هر دانه را با باقیمانده هر نمونه نهال خشک شده جمع آوری کردند معلوم شد هر گاه مقدار ۱۲۰ گرم از نمونه را درون طشتک کوچک چینی در نور الکتریکی بمدت ۲۴ ساعت در حرارت ۲۸ درجه سانتیگراد قرار دهند. نتایج ثابت و مشتمل بر عاید میکروگردد لذا نمونه‌های خشک شده را بادسته هاون کوچک چینی بخوبی سائیدند و گرد آن نمونه‌ها را درون دستگاه خشک نگاهدارنده در صفر درجه سانتیگراد قرار دادند.

کل اینوزیتول - هر نمونه گرد ۲۵۰ میلی گرمی به توسط (10ml 3% (W/V)H₂SO₄) به مدت ۲ ساعت زیر فشار ۱۰۵ اتمسفر فشار عصاره کشی گردید و مواد غیر شناور توسط صافی گرفته شده و در ۱M NaOH ۰/۱ میزان PH آن به ۵/۳ رسید و عصاره‌های هر نمونه هر بوط پس از انجماد برای تعیین کل اینوزیتول موجود بکار رفت.

اینوزیتول آزاد - هر نمونه گرد ۲۵۰ میلی گرمی توسط (0.04ml HCl) در حرارت آزمایشگاه بمدت ۲۴ ساعت عصاره کشی شد آنگاه نمونه هر بوط عصاره‌ها پس از انجماد بلافاصله برای سنجش اینوزیتول آزاد کار رفت.

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

در عمل مقدار اینوزیتول هر نمونه با مقایسه وزن کلانف میسلیمومی که قارچ جهش یافته برابر اینوزیتول ایجاد کرده است نسبت به شاهد های آماده شده سنجیده می شود (و منحنی استاندارد با مقادیر معلوم اینوزیتول رسم می گردد).

در ۱۹۴۴ Beadle محیط‌های کشت قارچ نورو سپورا کراسارا بر روی تکه آگار آغشته با (مدیوم فریس) محیط کاملاً مغذی جهت جهش های ویتامینی بکاربرد و قطعات آگار حامل قارچ به مدت ۷ روز در (28°C.) در گرمخانه باقی ماند آنگاه با افزودن (0.01ml) ماده تزریقی به (10ml) آب مقطر تعدادی شاهد (قرعهای 50-ml) ارلن مایر که در بشان پاینبه مسدود شده) برای هر آزمایش آماده گردید تا بتوان منحنی استاندارد را بر مبنای اوزان میسلیموم برای مقادیر سنجش شده اینوزیتول رسم نمود.

1- Erlen meyer Flasks

اینوزیتول آزاد - هر قرع حاوی (Fries medium, 5 ml) با اضافه يك میلی لیتر از
نمونه‌های 6.0 M HCL مربوط بود.

كل اینوزیتول - هر قرع حاوی مقدار (Fries medium) 5ml به اضافه
 H_2SO_4 (v/w) % نمونه‌های عصاره‌کشی شده بود.

سنجش اینوزیتول آزاد وکل - کلاف میسلومی را توسط صافی ازهر قرع گرفته به مدت
۱۲ ساعت در حرارت ($28^{\circ}C$) خشک می‌سازند. وزن کلاف‌های خشک میسلوم يك به يك معلوم
گردد و مقدار اینوزیتول آزاد وکل با مقایسه اوزان غیر مشخص کلاف میسلوم با آنچه مربوط
شاهدها است (منحنی استاندارد) معلوم می‌شود.

نتایج

كل اینوزیتول -

طبق مندرجات جدول يك تراکم كل اینوزیتول در هر سه ردیف نهال سویه ذرت خالص
مدت ۱۲۰ ساعت کاهش می‌یابد. در صورتی که در ردیف‌های نهال ذرت سویه‌های دورگه به موجب
جدول ۱) این کاهش در سراسر دوره جوانه‌زدن بیشتر مشاهده میشود. کاهش كل اینوزیتول در
سویه‌های خالص دو رگه در آغاز دوره جوانه‌زدن در ساعت‌های (۰-۴۰) بالنسبه تدریجی است.
در صورتی که در مراحل بعدی رشد یعنی در ساعات بین (۷۰-۱۲۰) این کاهش شدیدتر می‌گردد.
اینوزیتول آزاد.

در مدت ۱۲۰ ساعت جوانه‌زدن مقدار اینوزیتول آزاد طبق جدول ۱) در سویه‌های خالص
پاد می‌گردد

ظاهراً ازدیاد اینوزیتول آزاد در هر دو سویه خالص و دورگه بطور قابل ملاحظه بیشتر
ست ولی ازدیاد نسبی بیشتری برای اینوزیتول آزاد در مراحل بعدی جوانه‌زدن یعنی در
ساعات (۴۰-۱۲۰) نسبت به ساعات (۰-۴۸) وجود دارد به جدول ۱ رجوع شود.

جدول ۱- وزن خشک و اینوزیتول محتوی نهالهای چهار سویه ذرت خالص و سه سویه ذرت
رگه درشش مرحله رشد.

۲- Feris mebiium

Stage (h)	Strain	Fr. wt. g ⁻¹	Dry wt. g ⁻¹	Total	Δ	Free	Δ
0	W 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		188.8	
96		0.53	0.49	225.4		269.5	
120		0.58	0.49	214.2	293.2	104.4	
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		269.1	
96		0.50	0.46	174.8		324.5	
120		0.57	0.50	127.6	435.0	165.0	
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		299.0	
96		0.52	0.45	144.0		294.0	
120		0.49	0.45	139.2	257.2	48.2	
0	38-11	0.34	0.28	131.6	13.0	112.0	63.0
24		0.37	0.32	147.2		132.4	
48		0.42	0.35	145.5		175.0	
72		0.49	0.45	124.5		234.3	
96		0.58	0.48	105.6		312.0	
120		0.56	0.49	107.8	330.7	96.4	
0	W ₁ × 38-11	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		133.9	
96		0.62	0.59	153.4		209.4	
120		0.75	0.67	84.0	251.2	117.3	
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		248.8	
96		0.59	0.54	93.5		393.2	
120		0.79	0.64	83.2	496.0	247.2	
0	B ₁₀ × 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		352.5	
96		0.68	0.54	191.4		440.1	
120		0.74	0.58	146.0	502.2	149.7	

این تحقیق نشان می‌دهد که در بندر سویه‌های ذرت خالص و دو رگه جوانه زده مقدار کل 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 نه‌های خالص نشان می‌دهند «جدول ۱». ظاهراً مراحل نخستین جوانه زدن را می‌توان حالتی برای آماده شدن اینوزیتول آزاد به‌هزینه کل اینوزیتول دانست. هرچند که در مراحل ای رویش جوهرهای دو رگه ذرت نسبت به جوهرهای خالص در واسطه قرار دادن متابولیسم زیتول بین شکل آزاد و کل آن توانائی بیشتری دارند. محقق نیست که این توانائی را تا حد میتوان به‌صفت منحصر ژنتیکی دورگه‌ای که بادودمانهای خالص در این تحقیق مقایسه شده 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.
 BIANCHIETTI, 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 MORODA, 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., SROH, R. H., and LOEWUS, F., 1967. *Ibid.*, **42**, 659-66.
 ——— and LOEWUS, F., 1968. *Ibid.*, **43**, 1710-16.
 DESHCHESNE, J., and LOEWUS, F., 1968. *Ibid.*, **43**, 979-89.

این تحقیق نشان می‌دهد که در بندر سویه‌های ذرت خالص و دو رگه جوانه زده مقدار کل
 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 «جدول ۱». ظاهرأ مراحل نخستین جوانه زدن را می‌توان حالت
 ی برای آماده شدن اینوزیتول آزاد به‌هزینه کل اینوزیتول دانست. هر چند که در مراحل
 ی رویش جورهای دو رگه ذرت نسبت به جورهای خالص در واسطه قرار دادن متابولیم
 یتول بین شکل آزاد و کل آن توانائی بیشتری دارند. محقق نیست که این توانائی را تا
 د می‌توان به‌صفت منحصر ژنتیکی دورگه‌ای که بادودمانهای خالص در این تحقیق مقایسه
 ده نسبت دهیم.

LITERATURE CITED

- ASADA, K., TANAKA, K., and KASAI, Z., 1969. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **146**, 801-14.
 BRADLE, G. W., 1944. *J. biol. Chem.* **156**, 683-9.
 BIANCHIETTI, R., and SARTIRANA, M. L., 1967. *Biochim. biophys. Acta*, **145**, 485-90.
 BURKHOLDER, P. R., and McVEIGH, L., 1945. *Pl. Physiol., Lancaster*, **20**, 301.
 KURASAWA, H., HAYAKAWA, T., and MORODA, 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.
 DESHAYES, J., and LOEWUS, F., 1968. *Ibid.*, **43**, 979-89.