

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

نویسنده Egbert W. Henry

از بخش علوم زبستی دانشگاه OAKLAND

ترجمه مرتضی مدنی

مروه زبست شناسی

خلاصه

برای اندازه گیری مقدار کل میواینوزیتول و مقدار آزاد آن در نهال نورسته 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 سویه های خالص و دورگه 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 دورگه ها نشان می دهد. 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، سویه های دورگه ذرت توانایی زیاده تری برای متابولیسم کل میواینوزیتول به صورت آزاد را نسبت به جورهای^۲ خالص ذرت دارا می باشند.

مقدمه

در این مقاله نام اینوزیتول برای (Meso) یا میواینوزیتول بکار گرفته است و اشخاص نامبرده زیر چندین تحقیق درباره اینوزیتول موجود در بذر ذرت های جوانه زده طی سالهای مختلف انجام داده اند. در سال ۱۹۶۷ (Robert, Shoh-Loewus) در سال ۱۹۶۷

۱- Strain ۲- Variety

در سال ۱۹۶۹ (Watanaba, Kurasawa, Hayakawa) در سال ۱۹۷۱ (Loewus).

به نظر لوئوس ۱۹۷۱ ظاهر $\text{Glucose} - 6 - \text{phosphat}$ ماده زمینه عمل برای آنزیم سنتز اینوزیتول درون بافت‌های گیاهان عالی است و به گفته ربرت و لوئوس در سال ۱۹۶۸ تبدیل سریع $[2-^{14}\text{C}] \text{Inositol}$ به اینوزیتول منوفسفات نشان شده دریافت 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 $\text{L-Myo-ionsitol} - 1 \text{ phosphat}$ 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 شته باشد. در ۱۹۷۱ لوئوس گفت که (چهار ترکیب $\text{IAA-Inositol esters}$) را که در آب محلول اند از مغز ذرت‌های خشک شده شیرین جدا ساخته‌اند.

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

واد و روشها

چهار سویه پدري بذر ذرت ($\text{Hy}2, \text{B}10, 28-11, \text{Wf}9$) و سه دودمان^۲ دودمان دورگه ($\text{Wf}9 \times 38 - \text{us}11, \text{B}10 \times \text{Hy}2$) برای این بررسی بکار رفت.

در ۱۹۴۵ (Mc Veigh, Burkhol) از هر جور را به مدت ۵ دقیقه درون محلول پیوکلاریت کاسیم $(\text{W/V}) 5\%$ 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 آندوسپرم 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 به مدت ۲۴ ساعت در حرارت ۲۸ درجه سانتیگراد قرار دهند. نتایج ثابت و مضمیری عاید می‌گردد 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 $(10\text{ml } 3\% \text{ (W/V) H}_2\text{SO}_4)$ به مدت ۲ ساعت زیر فشار ۱۰۵ اتمسفر فشار عصاره‌کشی گردید و مواد غیر شناور توسط صافی گرفته شده و در 0.1M NaOH 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 به مدت ۲۴ ساعت عصاره‌کشی 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 شاهد‌های آماده شده سنجیده می‌شود (و منحنی استاندارد با مقادیر معلوم اینوزیتول رسم می‌گردد).

در Beadle ۱۹۴۴ محیط‌های کشت قارچ نورو اسپورا کراسارا بر روی تکه آگار آغشته با (مدیوم فریس) محیط کاملاً مغذی جهت جهش‌های 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 ۵۰-ml) ارلن مایر^۱ 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
نمونه های 60 mM HCL مربوط بود.

كل اینوزیتول - هر قرع حاوی مقدار 5ml (Fries medium) به اضافه
 H_2SO_4 (v/w) % نمونه های عصاره کشی شده بود.

سنجش اینوزیتول آزاد و كل - كلاف میسلو می را توسط صافی از هر قرع گرفته به مدت
۱۲ ساعت در حرارت $(28^{\circ}C)$ خشك می سازند . وزن كلاف های خشك میسلوم يك به يك معلوم
گردد و مقدار اینوزیتول آزاد و كل با مقایسه اوزان غیر مشخص كلاف میسلوم با آنچه مربوط
شاهدها است (منحنی استاندارد) معلوم می شود.

نتایج

كل اینوزیتول -

طبق مندرجات جدول يك تراكم كل اینوزیتول در هر سه ردیف نهال سویه ذرت خالص
مدت ۱۲۰ ساعت کاهش می یابد. در صورتی که در ردیف های نهال ذرت سویه های دورگه به موجب
جدول ۱) این کاهش در سراسر دوره جوانه زدن بیشتر مشاهده میشود. کاهش كل اینوزیتول در
سویه های خالص و دورگه در آغاز دوره جوانه زدن در ساعت های $(0-40)$ بالنسبه تدریجی است .
در صورتی که در مراحل بعدی رشد یعنی در ساعات بین $(120-70)$ این کاهش شدیدتر می گردد.
اینوزیتول آزاد.

در مدت ۱۲۰ ساعت جوانه زدن مقدار اینوزیتول آزاد طبق جدول ۱) در سویه های خالص
پایدار می گردد

ظاهراً ازدیاد اینوزیتول آزاد در هر دو سویه خالص و دورگه بطور قابل ملاحظه بیشتر
است ولی ازدیاد نسبی بیشتری برای اینوزیتول آزاد در مراحل بعدی جوانه زدن یعنی در
ساعات $(120-40)$ نسبت به ساعات $(0-48)$ وجود دارد به جدول ۱ رجوع شود.

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

۲- Feris mebiium

Stage (h)	Strain	Fr. wt. g ⁻¹	Dry wt. g ⁻¹	Total	Δ	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	Hy ₂	0.58	0.49	214.2	-9.5	293.2	104.4
0		0.35	0.29	174.0		115.5	
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	B ₁₀	0.50	0.46	174.8	-51.8	324.5	165.9
120		0.57	0.56	127.6		435.0	
0		0.31	0.39	156.3		78.0	
24		0.38	0.33	160.1		108.9	
48		0.45	0.37	144.3		133.2	
72	38-11	0.52	0.46	146.6	-7.4	299.0	48.2
96		0.52	0.45	144.0		294.0	
120		0.49	0.45	139.2		257.2	
0		0.34	0.28	131.6		112.0	
24		0.37	0.32	147.2		132.4	
48	W ₁ × 38-11	0.42	0.35	145.5	-16.7	175.0	96.4
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	
0		0.36	0.29	174.0		68.0	
24	US13	0.46	0.51	173.6	-14.0	69.7	72.0
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	
0	B ₁₀ × Hy ₂	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	B ₁₀ × Hy ₂	0.79	0.64	83.2	-74.8	496.0	247.2
0		0.34	0.28	184.8		126.0	
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	B ₁₀ × Hy ₂	0.68	0.54	191.4	-59.2	440.1	149.7
120		0.74	0.58	146.0		502.2	

این تحقیق نشان می‌دهد که در بذر 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 به‌های 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.
 BIANCHI, 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 Nogei Kagaku 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». ظاهر آن مراحل نخستین جوانه زدن را می‌توان حالت
نی برای آماده شدن اینوزیتول آزاد به‌هزینه کل اینوزیتول دانست. هرچند که در مراحل
ی رویش جورهای دو رگه ذرت نسبت به جورهای خالص در واسطه قرار دادن متابولسم
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.
BIANCHETTI, 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 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.
DUBITSKES, J., and LOEWUS, F., 1968, *Ibid.*, **43**, 979-89.