





دانشکده کشاورزی

گروه اصلاح زراعت و اصلاح نباتات

پایان نامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته بیوتکنولوژی کشاورزی

عنوان:

تهیه وکتور RNAi و آگرو باکتریوم اختصاصی برای تولید بذور ذرت حاوی فیتات کم

اساتید راهنما

دکتر بهرام باغبان کهنه روز

دکتر علی حق نظری

استاد مشاور

دکتر اشرف قلیزاده

پژوهشگر

علیرضا بابازاده بدوستانی

زمستان ۱۳۸۹

تقدیم به:

پروڈگارم و بندگان حقیقت جوی او

خدای بزرگ را شکر گزارم و از محبت اساتید عزیزم آقای دکترعلی حق نظری و دکتر بهرام باغبان و خانم دکتر قلیزاده سپاسگزارم. از استاد گرامیم دکتر باغبان نهایت تقدیر را دارم که با لطف و مهربانی زمینه ترقی فکری بنده را مسبب شده اند و در پایان باید به این واقعیت اذعان می‌کنم که توجه و حمایت علمی و معنوی این بزرگواران قوت قلبی بود تا کار را به اتمام رسانم. هر پاسخی که زندگی، به تلاش هایم بدهد یا ندهد، هنگامی که به پایان تلاش‌ام نزدیک شده‌ام به این واقعیت رسیدم که : من هر چه در توان داشتم انجام دادم. از آقایان دلپسند، بصیری، خانم نعلبندی که در این کار همراه و هم آزمایشگاهی بنده در آزمایشگاه مهندسی ژنتیک دانشگاه تبریز بوده‌اند تقدیر و قدردانی می‌کنم.

فهرست مطالب

صفحه

عنوان

فصل اول: مقدمه

مقدمه ۱

فصل دوم: بررسی منابع

| | |
|--|----|
| ۲-۱- ذرت..... | ۴ |
| ۲-۱-۱- اهمیت کشت ذرت..... | ۶ |
| ۲-۱-۲- گیاه‌شناسی و مورفولوژی ذرت..... | ۷ |
| ۲-۲- نیاز تغذیه‌ای..... | ۸ |
| ۲-۲-۱- انسان..... | ۸ |
| ۲-۲-۲- طیور، ماکیان، خوک..... | ۹ |
| ۲-۳- اسید فیتیک و منابع گیاهی..... | ۱۰ |
| ۲-۴- ساختمان اسید فیتیک..... | ۱۱ |
| ۲-۵- اهمیت اسید فیتیک و ارتباط آن با ذرت..... | ۱۲ |
| ۲-۶- اثرات زیست محیطی..... | ۱۳ |
| ۲-۷- اثرات بر روی مصرف مواد معدنی..... | ۱۴ |
| ۲-۸- اثرات بر روی قابلیت هضم پروتئین‌ها..... | ۱۵ |
| ۲-۹- منابع فعالیت فیتازی..... | ۱۶ |
| ۲-۹-۱- فیتاز گیاهی..... | ۱۶ |
| ۲-۹-۲- فیتاز میکروبی..... | ۱۷ |
| ۲-۱۰- انتخاب گیاهان بر اساس کم بودن فیتات..... | ۱۷ |
| ۲-۱۱- گیاهان ترانسژنیک بیان کننده فعالیت فیتاز..... | ۱۸ |
| ۲-۱۲- خاموشی ژن (RNAi)..... | ۱۸ |
| ۲-۱۳- توصیف کلی روش و مسیر RNAi در گیاهان..... | ۲۰ |
| ۲-۱۳-۱- مکانیسم ملکولی..... | ۲۱ |
| ۲-۱۴- هدف و آشنایی با مسیر ساخت اسید فیتیک (فیتات)..... | ۲۲ |
| ۲-۱۵- کارهای صورت گرفته در گیاهان بر روی آنزیم MIPS..... | ۲۴ |
| ۲-۱۷- آگرو باکتریوم اختصاصی <i>ZmMIPSI</i> | ۲۵ |

فصل سوم: مواد و روش‌ها

| | |
|---------------------------------|----|
| ۱-۳-۱- مواد شیمیایی..... | ۳۰ |
| ۳-۱-۲- آنتی‌بیوتیک‌ها..... | ۳۰ |
| ۳-۱-۳- باکتری‌ها..... | ۳۰ |
| ۳-۱-۴- پلاسمیدها..... | ۳۰ |
| ۳-۱-۵- آغازگرها (پرایمرها)..... | ۳۰ |
| ۳-۱-۶- کیت‌های آزمایشگاهی..... | ۳۱ |

| | | |
|----|---|----------|
| ۳۱ | آنزیم‌ها | ۳-۱-۷ |
| ۳۱ | مارکرها | ۳-۱-۸ |
| ۳۱ | محلول‌ها | ۳-۲ |
| ۳۱ | محلول‌های لازم جهت استخراج پلاسمید (مقیاس کوچک) | ۳-۲-۱ |
| ۳۲ | محلول‌های لازم برای الکتروفورز DNA روی ژل آگارز | ۳-۲-۲ |
| ۳۳ | محلول تی.بی.ای | ۳-۲-۲-۱ |
| ۳۳ | محلول اتیدیوم برماید (۱۰ میلی گرم در میلی لیتر) | ۳-۲-۲-۲ |
| ۳۳ | محلول لودینگ (بارگذاری) | ۳-۲-۲-۳ |
| ۳۳ | محلول ذخیره آی.پی.تی.جی (IPTG) | ۳-۲-۳ |
| ۳۳ | محلول ذخیره (X - Gal) | ۳-۲-۴ |
| ۳۴ | محلول تی.اس.اس (TSS) | ۳-۲-۵ |
| ۳۴ | بافر استخراج CTAB (۱X) | ۳-۲-۶ |
| ۳۴ | محیط‌های کشت باکتری | ۳-۳ |
| ۳۴ | محیط کشت جامد LB (Luria-Bertani) | ۳-۳-۱ |
| ۳۴ | محیط کشت مایع | ۳-۳-۲ |
| ۳۵ | محیط کشت YEB | ۳-۳-۳ |
| ۳۵ | محیط نگهداری باکتری‌ها | ۳-۴ |
| ۳۵ | وسایل و دستگاه‌ها | ۳-۵ |
| ۳۵ | روش‌ها | ۳-۶ |
| ۳۵ | طراحی آغازگر | ۳-۶-۱ |
| ۳۹ | مواد گیاهی | ۳-۶-۲ |
| ۳۹ | استخراج DNA | ۳-۶-۷ |
| ۴۰ | بررسی کیفیت و کمیت DNA استخراج شده | ۳-۶-۸ |
| ۴۱ | تکثیر اختصاصی مولکول DNA | ۳-۶-۹ |
| ۴۱ | واکنش زنجیره‌ای پلیمرز | ۳-۶-۹-۱ |
| ۴۲ | مواد و مراحل انجام واکنش زنجیره‌ای پلی مرز (PCR) | ۳-۶-۹-۲ |
| ۴۳ | مراحل PCR | ۳-۶-۹-۳ |
| ۴۴ | الکتروفورز DNA | ۳-۶-۱۰ |
| ۴۵ | الکتروفورز ژل آگارز | ۳-۶-۱۰-۱ |
| ۴۵ | رنگ‌آمیزی ژل آگارز با اتیدیوم بروماید | ۳-۶-۱۰-۲ |
| ۴۵ | بازیافت قطعات DNA | ۳-۶-۱۱ |
| ۴۵ | برش قطعات DNA از ژل آگارز | ۳-۶-۱۱-۱ |
| ۴۶ | بازیافت قطعات DNA از روی ژل آگارز با استفاده از کیت | ۳-۶-۱۱-۲ |
| ۴۷ | خالص سازی محصول PCR با استفاده از کیت | ۳-۶-۱۱-۳ |
| ۴۸ | اتصال قطعات DNA | ۳-۶-۱۲ |
| ۴۹ | تهیه باکتری‌های مستعد برای پذیرش DNA پلاسمیدی خارجی | ۳-۶-۱۳ |
| ۵۰ | انتقال پلاسمید به درون باکتری | ۳-۶-۱۴ |
| ۵۱ | استخراج پلاسمید به روش لیز قلیایی | ۳-۶-۱۵ |
| ۵۲ | غربال کردن کلون‌های واجد پلاسمید نو ترکیب (Screening) | ۳-۶-۱۶ |
| ۵۳ | غیر فعال شدن ژن | ۳-۶-۱۷ |

| | |
|----|--|
| ۵۳ | ۱۷-۱-۳-۶- حساسیت و مقاومت کلون‌ها به آنتی‌بیوتیک |
| ۵۳ | ۱۷-۲-۳-۶- غربالگری کلونی سفید/آبی با زیر واحد آلفا از <i>LacZ</i> |
| ۵۳ | ۱۸-۳-۶- تهیه پلیت X-gal/IPTG- آگار |
| ۵۴ | ۱۹-۳-۶- همسانه‌سازی به کمک وکتور T/A |
| ۵۴ | ۲۰-۳-۶- برش آنزیمی DNA توسط آنزیم‌های برش دهنده اختصاصی |
| ۵۴ | ۱-۲۰-۳-۶- واکنش برش آنزیمی DNA با یک آنزیم |
| ۵۵ | ۲-۲۰-۳-۶- واکنش برش آنزیمی پلاسمید حاوی قطعه با دو آنزیم |
| ۵۵ | ۲۰-۳-۶- تهیه سلولهای مستعد آگروباکتریوم (Freeze/Thaw Method) |
| ۵۶ | ۲۱-۳-۶- ترانسفورماسیون سلولهای آگروباکتریوم با استفاده از روش ذوب و انجماد |
| | فصل چهارم: نتایج و بحث |
| ۵۹ | ۱-۴- نتایج استخراج ژنوم |
| ۶۰ | ۲-۴- تکثیر اگزون شماره سه از ژن MIPS1 |
| ۶۱ | ۳-۴- همسانه‌سازی به کمک وکتور T/A |
| ۶۱ | ۴-۴- انتخاب کلونی سفید و آبی |
| ۶۳ | ۵-۴- نتایج برش آنزیمی برای وکتور حاوی قطعه سنس |
| ۶۳ | ۶-۴- نتایج برش آنزیمی برای وکتور حاوی قطعه آنتی سنس |
| ۶۴ | ۷-۴- ادغام قطعه آنتی سنس در وکتور حاوی سنس |
| ۶۹ | ۸-۴- نتایج توالی یابی کاست <i>ZmMIPS1</i> کلونینگ |
| ۷۱ | پیشنهادات: |
| ۷۵ | منابع مورد استفاده |

فهرست جداول

| صفحه | عنوان |
|------|--|
| ۶ | جدول (۲-۱) نمودار رشد کشت چهار گیاه تراریخت در جهان تا سال (۲۰۰۵)..... |
| ۹ | جدول (۲-۲) سطوح فسفر در بعضی از منابع خوراکی مورد استفاده طیور..... |
| ۳۰ | جدول (۳-۱) فهرست پلاسمیدهای استفاده شده در این تحقیق..... |
| ۳۱ | جدول (۳-۲) فهرست آغازگرهای استفاده شده در تحقیق..... |
| ۳۲ | جدول (۳-۳) بافر تعلیق کننده..... |
| ۳۲ | جدول (۳-۴) بافر لیز کننده..... |
| ۳۲ | جدول (۳-۵) بافر خنثی کننده..... |
| ۳۴ | جدول (۳-۶) ترکیبات بافر تی.اس.اس (TSS)..... |
| ۴۴ | جدول (۳-۷) اجزای واکنش PCR..... |
| ۴۹ | جدول (۳-۸) غلظت های وکتور و قطعه در واکنش اتصال..... |
| ۵۴ | جدول (۳-۹) مقادیر واکنش آنزیمی..... |
| ۶۰ | جدول (۴-۱) برنامه PCR..... |

فهرست اشکال

| صفحه | عنوان |
|------|--|
| ۱۱ | شکل ۲-۲- ساختمان اسید فیتیک..... |
| ۱۱ | شکل ۲-۳- کلاته شدن فیتات توسط یون آهن..... |
| ۲۱ | شکل ۲-۴- مسیر RNAi..... |
| ۲۱ | شکل ۲-۵- مسیر RNAi در گیاهان..... |
| ۲۳ | شکل ۲-۶- مسیر ساخت فیتات..... |
| ۳۸ | شکل ۳-۱- وکتور کلونینگ پیش‌بینی شده..... |
| ۵۹ | شکل ۴-۱- نتایج استخراج ژنوم از ذرت با روش CTAB..... |
| ۶۰ | شکل ۴-۲- محصول PCR برای سنس و آنتی سنس PCR..... |
| ۶۲ | شکل ۴-۳- کلنی سفید و آبی..... |
| ۶۳ | شکل ۴-۴- پلاسمید برش نیافته و حاوی قطعه سنس..... |
| ۶۴ | شکل ۴-۵- وکتور آنتی سنس‌دار برش یافته..... |
| ۶۵ | شکل ۴-۶- برش آنزیمی با دو آنزیم..... |
| ۶۶ | شکل ۴-۷- نقشه وکتور بیانی pBI121..... |
| ۶۷ | شکل ۴-۷- مسیری از انتقال قطعات سنس و آنتی سنس..... |
| ۶۸ | شکل ۴-۸- کلنی های آگروباکتریوم اختصاصی <i>ZmMIPS1</i> |
| ۶۸ | شکل ۴-۹- کاست کامل (سنس+ آنتی سنس+ اسپیسر) <i>ZmMIPS1</i> در وکتور بیانی pBI121..... |
| ۶۹ | شکل ۴-۱۰- وکتور بیانی pMIPSZm..... |

چکیده فارسی:

بذور غلات بخصوص ذرت به عنوان منبع تغذیه فسفر برای دام و طیور می‌باشد حال اینکه فسفر در دانه این گیاه بیشتر به شکل فیتات می‌باشد و توسط جانوران تک معده مانند: انسان، طیور و ماکیان تجزیه نمی‌شود و بیشتر فسفر تغذیه‌ای موجود در دانه از دسترس این جانوران خارج می‌گردد. راهکارهای زیادی از سال ۱۹۹۲ برای کاهش فیتات دانه‌ها بخصوص ذرت انجام گرفته است. دانشمندان روش‌هایی مانند موتاسیون وگزینش در سطح رضایت بخشی موجب کاهش فیتات نشده‌اند. روش‌های مختلف شیمیایی و فرآوری‌های گوناگونی در کارخانجات مواد غذایی و تولید جیره طیور بر روی فیتات دانه‌ها صورت می‌گیرد اما مقاومت بالای آن به دما و مواد شیمیایی مانع از هیدرولیز آن می‌شود فیتات با بلوکه کردن کاتیون‌های مختلف معدنی و دو طرفیتی و همچنین تشکیل کمپلکس‌های مختلف با پروتئین‌ها توسط مدفوع از بدن خارج می‌شود. امروزه در دنیا دو استراتژی برای کاهش معنی دار سطح فیتات به کار گرفته شده یکی استفاده از آنزیم تجزیه کننده فیتاز است. که به طور صنعتی نیز تولید می‌شود و دیگری استفاده از روشهای مهندسی ژنتیک و موتاسیون در تولید بذور با سطح فیتات کم است در این تحقیق با به کارگیری تکنیک‌های مهندسی ژنتیک قصد داریم که سطح بذور تولیدی ذرت را کاهش دهیم به همین دلیل با بکارگیری RNA مداخله‌گر mRNA های تولید شده در داخل سلول را تجزیه می‌کنیم. برای نائل شدن به این هدف آنزیم کلیدی میو اینوریتول ۱- فسفات (MIPS1) دخیل در مسیر ساخت فیتات را که آنزیمی یک طرفه می‌باشد انتخاب کرده ایم ژن کدکننده این آنزیم شناخته شده است و از روی یکی از ۱۰ اگزون آن سازه مداخله‌گری طراحی کرده‌ایم و نام آن سازه pZmMIPS1 قرار دادیم. در صورت انتقال سازه به گیاه ذرت و قرار دادن کاست *ZmMIPS1* در ژنوم آن سبب کاهش ساخت فیتات قبل از مرحله ترجمه به پروتئین شود. سازه RNAi در آگروباکتریوم انتقال داده شده و آماده انتقال به گیاه می‌باشد. این سازه تا حد معنی داری می‌تواند فیتات را کاهش دهد.

کلمات کلیدی: فیتات، فیتاز، *ZmMIPS1*، *pZmMIPS1* RNA مداخله‌گر

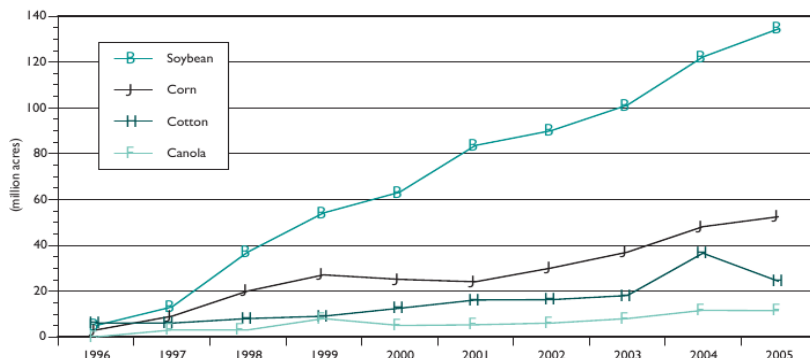
فصل اول

مقدمه

در حال حاضر در دنیا، طیف وسیعی از گیاهان تراریخته تولید می شود که مجوز ورود برخی از آنها به بازار مصرف صادر شده و مجوز برخی دیگر نیز در آینده صادر خواهد شد گیاهان تراریخته Genetically Modified (GMO) موجوداتی هستند که ساختار ژنتیکی آن با استفاده از فناوری مهندسی ژنتیک تغییر داده شده است. و محصولات تولید شده از آنها نیز تغییر یافته هستند (مک گلوگین، ۲۰۰۲). در بین گیاهان زراعی کشت شده مختلف در سال های ۲۰۰۹ ذرت با تولید ۸۷۱/۱۱۰۵۰۹ میلیون تن ۲۳ درصد از مجموع گیاهان تراریخته کاشته شده در جهان را به خود اختصاص داده است (FAO^۱, 2009). مخالفان این محصولات بر این عقیده هستند که مخاطرات کودها و سموم کمتر از این محصولات دستکاری شده است. حال این سوال مطرح می شود که کدام یک از این دو موضوع ما را به وابستگی می کشاند؟ آیا باید سموم و کود با هزینه های بالا تولید یا وارد کرد و یارانه ای نیز به آنها اختصاص داد و تحمل اثرات باقی مانده آن را در محصولات و اراضی متحمل شد؟ یا بذر مهندسی شده و گیاه تراریخته داخلی تولید کرد. موضوع دیگر اینکه آیا هر چیزی که طبیعی باشد خوب است؟ در حقیقت بسیاری از چیزهای طبیعی نیز خطرناک می باشد و اساس کشاورزی خود نیز غیر طبیعی است تمام محصولات زراعی که اکنون کشت می شود حاصل اصلاح و انتخاب می باشند. گیاه تراریخته راهکاری برای حل مشکل فقر و کمبود غذا در جهان است اما این فناوری در اغلب موارد کیفیت غذایی را نیز افزایش داده مثلا در کمبود ویتامین A در کودکان شرق آسیا به دلیل مصرف برنج سبب شد که برنج تراریخته ای تولید شود که حاوی ویتامین A باشد. نجات میلیون ها نفر از کوری کار اخلاقی است که به طور هدفمند این فناوری انجام داده است (کلیو و جیمز، ۲۰۰۳). در سال ۲۰۰۹ برزیل با فاصله کمی از آرژانتین جلو افتاده و رتبه دوم تولید محصولات تراریخته در جهان را از آن خود کرد و در حال حاضر این کشور یک رهبر جهانی برای تولید محصولات تراریخته و موتور محرک رشد آتی این محصولات محسوب می شود. تولید ذرت SmartStax که دارای ۸ تراژن (ژن بیگانه) کنترل کننده سه صفت در آمریکا و کانادا در سال ۲۰۱۰، موافقت دولت هندوستان با تولید بادمجان تراریخته مقاوم به

۱. Food and Agriculture Organization

آفات در سال ۲۰۱۰، تولید برنج طلایی در فیلیپین تا سال ۲۰۱۲، کشت ذرت تراخته متحمل به خشکی در آمریکا تا سال ۲۰۱۲ و در صحرای جنوبی آفریقا تا سال ۲۰۱۷، از چشم اندازهای دنیا در حوزه کشت و تولید محصولات تراخته است. نگاه سرد به محصولات تراخت داخلی عواقب تلخی برای آینده بیوتکنولوژی کشور خواهد داشت زیرا که ناخواسته به مدت چندین سال ما از گیاهان تراخت به طور غیرمستقیم استفاده کرده‌ایم و دنیا نیز در حال استفاده از آن می‌باشد. تغییراتی که بر روی ذرت صورت گرفته شامل: کارهای بنیادی برای مقاومت به تنش خشکی در ذرت، افزایش کیفیت دانه ذرت برای تغذیه احشام، مقاومت به کرم ساقه خوار توسط شرکت مونسانتو، تسهیل آمیلوز ذرت برای تولید اتانول توسط شرکت سیتروژینتا، ذرت مقاوم به گلی فوسات، ذرت مقاوم به کرم ساقه خوار اروپایی و گلی فوسات است. تولید هدفمند بذور تراخت با خصوصیات منحصر به فرد که مصرف زراعی یا غذایی دارد یکی از رسالت‌های اصلی دانشمندان مهندسی ژنتیک است. رفع مشکلات و یا اضافه کردن یک قابلیت به بذر یک پروسه زمان‌گیر و ارزشمند است. وجود یک محصول نهایی تجزیه ناپذیر و ضدتغذیه‌ای در دستگاه گوارش موجودات تک معده‌ای ما را بر آن داشت که با تکنیک‌های مدرن مهندسی ژنتیک اقدام به ساخت سازه و آگرو باکتریوم اختصاصی نماییم تا توسط آن بتوانیم یکی از آنزیم‌های کلیدی کدکننده مسیر ساخت این ماده ضد تغذیه‌ای کاهش دهیم. بیشتر بذور گیاه ذرت، هدف ما بود چرا که ۲۰ درصد از آنزیم‌های وارداتی از چین برای تجزیه این محصول نهایی در جیره طیور و صنایع تبدیلی مواد غذایی مصرف می‌شد. با طراحی سازه و انتقال آن به گیاه، نیاز به مرحله تجزیه آنزیمی در بذور با آنزیم‌های وارداتی نداشته و هزینه‌های تبدیلی نیز کاهش می‌یابد.



شکل ۱-۱ - نمودار رشد کشت چهار گیاه تراخت در جهان تا سال ۲۰۰۵

فصل دوم

بررسی منابع

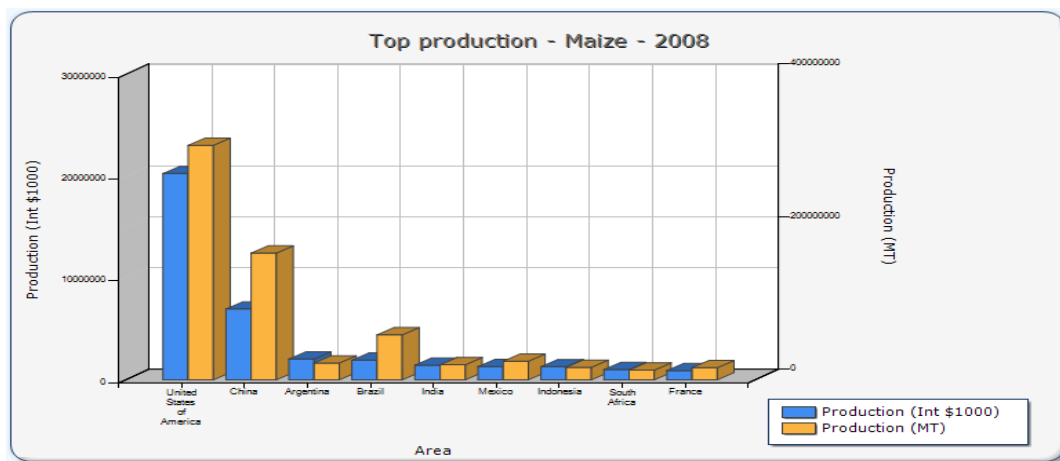


۱-۲- ذرت

ذرت با نام علمی *Zea mays L. Subspecie mays* و گیاهی از خانواده *Poaceae*، دگرگشن، یک ساله که در بین گیاهان زراعی درجات بالایی از اهلی شدن را سپری کرده و مبدا آن آمریکای مرکزی و ارتفاعات مکزیک است وقتی در قرت ۱۵ آمریکا کشف شد به اروپا و بعد به سراسر جهان راه یافت (پالویل، ۲۰۰۰). نام رایج در بین مردم آمریکا و استرالیا *Maize* و در ایالات متحده بانام انگلیسی *Corn* در اتیوپی با نام باکل شناخته می‌شود. از لحاظ ژنتیکی $2n=20$ است. قوت غالب آفریقا و اندونزی می‌باشد و بیشتر ذرت تولید شده ایالت متحده برای تغذیه دام و طیور مصرف می‌شود (FAO, 2008). باستان شناسان و دانشمندان فیلوژنتیک بر این باوراند که اهلی شدن ذرت ۶۰۰۰ سال پیش شروع شده است این گیاه احتمالا از تلاقی دو جد نزدیک و در اثر اینترگرسیون به وجود آمده یکی از اجداد حتمی آن تئوسینت است (ماتسوکا، ۲۰۰۲). برنامه توالی یابی ذرت در سال ۲۰۰۵ شروع شده و توصیف پیشرفت این برنامه در سایت www.maizegenome.org قابل دسترسی است. اولین پیش نویس از توالی ژنومی ذرت در تاریخ ۲۸ فوریه ۲۰۰۸ از ژنتیک ۵۰ ذرت در کنفرانس بین المللی ارائه گردید. ژنوم ذرت حاوی مناطق تکراری زیادی بوده و برای سرهم بندی کردن توالی ها توسط امریچ و همکاران در سال ۲۰۰۴ از الگوریتم های نوآورانه با مقیاس ۹۷۴ تا ۷۳۰ جفت باز توالی ژنومی آن بررسی شد همچنین آنها از پردازنده ۱/۲۶ گیگا هرتز برای کاهش تعداد قابل توجهی همردیفی استفاده کردند (لیو و همکاران، ۲۰۰۷). میانگین جهانی تولید ذرت چهار تن در هکتار می‌باشد. ذرت در غذاهای مختلف به صورت نارس و یا رسیده مصرف می‌شود و بر اساس آندسپرم تقسیم بندی می‌گردد. ذرت بو داده که احتمالا بر اثر موتاسیون بوجود آمده است پریکارپ آن نازک است که این صفت برای تولید ذرت شیرین با پوست لطیف

مناسب است (خدابنده، ۱۳۸۴). در ذرت پاپ کورن، لایه ضخیمی از آندوسپرم سخت، آندوسپرم نشاسته‌ای را دربرگرفته است. دانه‌های نشاسته آندوسپرم این نوع ذرت نسبت به انواع دیگر، رطوبت بیشتری دارند که در موقع حرارت دادن، منبسط شده و تبدیل به بخار می‌شوند. بخار آب حاصل شده درون دانه نمی‌تواند به راحتی از لایه بیرونی سخت آندوسپرم خارج شود. به ناچار فشار زیادی به این لایه وارد می‌آورد و دانه را منفجر نموده و دانه پف می‌کند. این ذرت معمولا برای تهیه پاپ کورن مورد استفاده قرار می‌گیرد (نور محمدی و همکاران، ۱۳۷۶). ذرت سخت نوعی از ذرت است که آندوسپرم آن در مرکز دانه، و با لایه سختی آندوسپرم پوشیده شده است. ذرت دندان اسبی دارای مخلوطی از نشاسته نرم و سخت می‌باشد و آن قسمت از آندوسپرم که دارای نشاسته سخت است، پروتئین بیشتری دارد. این نوع ذرت معمولا در نواحی ذرت خیز ایالات متحده آمریکا به عمل می‌آید بلال ذرت دندان اسبی نسبتا بزرگ بوده و ۱۶ تا ۳۰ ردیف دانه دارد. از خصوصیات ظاهری دانه آن، می‌توان به وجود نقطه‌ای فرو رفته در طرف تاج دانه اشاره نمود که به دلیل خشک شدن آندوسپرم نشاسته‌ای بوجود می‌آید. ذرت نرم یا آردی بخش عمده آندوسپرم، نشاسته است. تنها لایه نازکی از آندوسپرم سخت این نشاسته را دربرمی‌گیرد و دانه‌های آن بر خلاف نوع دندان اسبی فرو رفتگی ندارد. همچنین چون آندوسپرم آن نرم است، می‌توان به همان شکل و بدون خرد و له کردن آن، در تغذیه دام بکار برده شود. ذرت شیرین آندوسپرم، قندی و براق داشته و برخلاف آندوسپرم ذرت‌های دیگر، حالت نشاسته‌ای ندارد. پریکارپ آن نازک بوده که در زمان رسیدن دانه، مواد قندی آن به نشاسته و سپس به دکسترین تبدیل می‌شود (راشد محصل و همکاران، ۱۳۸۰). ذرت مومی آندوسپرم ظاهرا به شکل موم می‌باشد. برخلاف ذرت‌های دیگر که نشاسته آندوسپرم آنها ۷۱ تا ۷۲ درصد آمیلوپکتین و ۲۸ تا ۲۹ درصد آمیلوز دارد، آندوسپرم ذرت مومی تماما از آمیلوپکتین تشکیل شده که حالت چسبنده‌ای دارد و نرم هم هست به غیر از مصارف خوراکی، در صنایع چسب‌سازی هم استفاده می‌شود (نور محمدی و همکاران، ۱۳۷۶).

جدول (۱-۲) آمار متوسط تولید ذرت FAO (۲۰۰۸)



۱-۲-۱- اهمیت کشت ذرت

رشد جمعیت و افزایش مصرف سرانه که با سطح درآمد و زندگی افراد جامعه همبستگی زیادی دارد، دو مسئله مهم در تامین نیازهای غذایی برای افراد جوامع در حال پیشرفت از جمله ایران به شمار می‌رود و در این میان نقش بهره‌گیری موثر و بهینه از منابع محدود آب و خاک و استفاده از نیروی انسانی موجود در کشور نیز از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در این راستا تکنولوژی تولید محصولات اصلاح شده و تراریخت سبب افزایش چشمگیر راندمان بهره‌وری از منابع غذایی و خاکی گشته و اهمیت آن در تغذیه دام و طیور کشورمان غیر قابل انکار است، لذا امروزه با تکنولوژی‌های مدرن مهندسی ژنتیک و اصلاح نباتات انواع محصولات در حال تولید است که علاوه بر تامین نیازهای تغذیه‌ای، دارویی و افزایش کیفیت و عملکرد محصولات امکان صادرات به خارج از کشور را ممکن می‌سازد. ذرت نیز جزو گیاهان مهم در این زمینه است که در صنایع تولیدی غذایی و تبدیلی کشور کاربرد فراوان دارد (نور محمدی، ۱۳۷۶). ساقه و برگ‌های ذرت در صنایع کاغذ و مقواسازی و همچنین تولید کاغذ دیواری استفاده می‌شود و آرد ذرت در تولید چسب، صابون و نشاسته آن در صنایع رنگرزی، داروسازی، مرکب‌سازی و پلاستیک‌سازی استفاده می‌شود. (عرشی، ۱۳۷۹). خوراکی‌هایی که با ذرت سفید تهیه می‌شوند، معمولاً مرغوب‌ترند. دانه ذرت دارای سه بخش آندوسپرم، گیاهک و پریکارپ است. پروتئین موجود در دانه به عوامل مختلفی از جمله محیط، نوع گیاه و شرایط کشت و زراعت بستگی دارد و بین ۸ تا ۱۵ درصد

متغیر است. پروتئین عمده ذرت زئین می‌باشد نقش مهمی در تغذیه انسان ایفا می‌کنند. میزان روغن دانه ذرت، ۴ درصد بوده که بیشتر در گیاهک قرار دارد. از آسیاب نمودن دانه ذرت، آرد ذرت تهیه می‌کنند که خود در تهیه غذاهای مختلف بکار می‌رود.



شکل ۱-۲ بعضی از ارقام ذرت همراه با ساختمان بذر

۲-۱-۲- گیاه‌شناسی و مورفولوژی ذرت

دانه ذرت از سه بخش اصلی: جنین، آندوسپرم و دیواره دانه تشکیل شده است ذرت گیاه تک لپه‌ای ساقه بلندی است. برگهای آن بطور متناوب و به صورت افتاده در دو طرف ساقه قرار گرفته‌اند. زاویه بین برگ و ساقه، نزدیک به ۹۰ درجه می‌باشد. در اوایل رشد گیاه، بعضی از یاخته‌های موجود در بخش بالایی ساقه اصلی ذرت از شاخه‌های فرعی متمایز می‌شود. در انتهای این شاخه‌ها، عضوی به نام بلال بوجود می‌آید که در واقع، گل ماده گیاه ذرت است. این شاخه‌ها، میان گره‌های بسیار کوتاهی دارند که از این گره‌ها، برگ‌های تغییر شکل یافته‌ای بوجود می‌آید که هم دیگر و بلال را می‌پوشانند. بیرونی‌ترین این برگ‌ها، برگ‌گی است کامل که غلاف، زبانک، گوشواره و پهنک دارد. اما برگ‌های زیرین غیر کاملند. موقعی که ارتفاع ساقه ذرت به ۸۰ تا ۱۲۰ سانتیمتر رسید، کلاله‌های ابریشم مانند یا کاکل ذرت به تعداد دانه‌های ذرت موجود در بلال، نمایان می‌شوند، ذرت با وجود آن که یک گیاه گرمسیری