

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



مرکز ملی پرورش استعداد های درخشان و دانش پژوهان جوان

مرکز آموزشی فرزاد مکان ۳- تهران

عنوان پروژه تهیه شناساگر ذرت های تراژن و ارگانیک

پژوهشگران: ریحانه رحمانی و هلیا واحدسولا

دبیر راهنما: نسیم سادات میرباقر
سال تحصیلی 1400-1401

عنوان پروژه: تهیه شناساگر ذرت های تراژن و ارگانیک

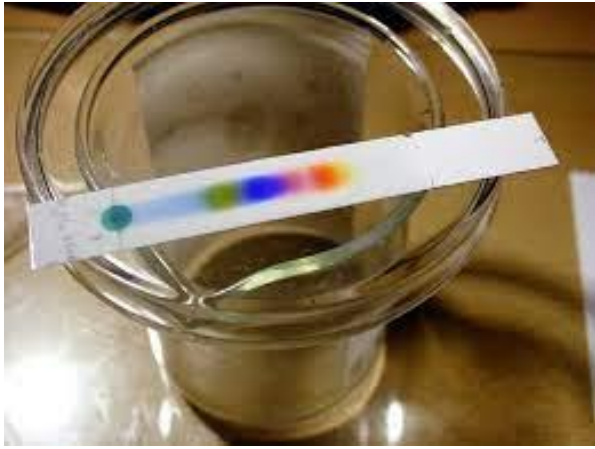


□ فهرست مطالب:

- بیان مسئله.....5
- ضرورت انجام طرح.....6
- اهداف طرح.....7
- سوالات پژوهش.....9
- تعریف کلید واژه.....10
- مروری بر مطالعات گذشته....16
- روش انجام طرح و فازبندی....22
- بحث و نتیجه گیری.....33
- موانع کار.....35
- پیشنهادات.....36
- منابع.....37
- تشکر و سپاس.....38



■ بیان مسئله



(1) مشکل ← مشخص نبودن تراریختی محصولات (ذرت)

(2) راهکار های فعلی ← روش های زیستی / ایمونولوژی (الایزا) /
کروماتوگرافی...

(3) راهکار های پیشنهادی ← بررسی میزان فیتات در ذرت



■ ضرورت انجام طرح

سطح زیر کشت گیاهان تراریخته در جهان طی چند سال گذشته با روندی تصاعدی افزایش داشته است. با توجه به آمار رو به رشد سطح زیر کشت این محصولات در سرتاسر جهان، اهمیت این محصولات در سبد غذایی بشر و همچنین مزایا و مضرات احتمالی آن بر سلامت و محیط زیست انسانی، توجه بسیاری از پژوهشگران عرصه ایمنی زیستی به این محصولات جلب شده است. به دلیل اهمیت این موضوع، طی دو دهه گذشته، سازمان های بین المللی مسئول، تبیین قوانین و تعیین سیاستهای لازم جهت تضمین سلامت مواد غذایی تراریخته را بر عهده گرفته و در این راستا راهبردها و دستورالعمل های متعددی ایجاد شده است.



■ اهداف طرح

1. اهداف کلی

2. اهداف ویژه

• تهیه شناساگر ذرت های تراژن و ارگانیک

✓ آشنایی با ساختار ذرت

✓ آشنایی با مشکلات موجود در پرورش ذرت

✓ آشنایی با انواع روش های اصلاح ژنی در ذرت

✓ آشنایی با باکتری BT

✓ آشنایی با موادی که باکتری BT تولید میکند

✓ آشنایی با سم توکسین تولید شده از باکتری BT

✓ آشنایی با نحوه کارکرد این سم در گیاه ذرت

✓ شناسایی ترکیبات توکسین

✓ آشنایی با لیزین و تفاوت میزان آن در ذرت تراریخته و

ارگانیک

✓ آشنایی با اسیدفیتیک و تفاوت میزان آن در ذرت تراریخته

و ارگانیک

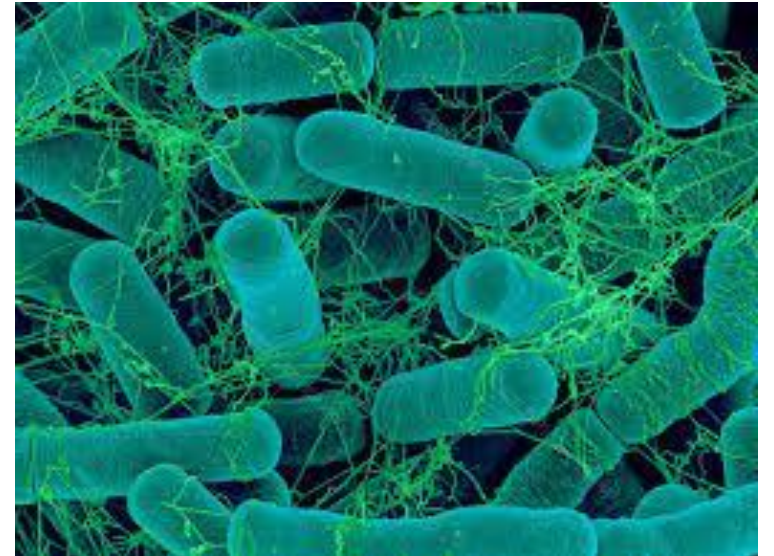
✓ آشنایی با شناساگر های فیتات



■ اهداف طرح

3. اهداف کاربردی ←

✓ ارائه یک محصول به منظور تشخیص کم هزینه، سریع و دردسترس ذرت تراریخه به کارشناسان بهداشت و تغذیه، سازمان محیط زیست و ناظران گمرک.



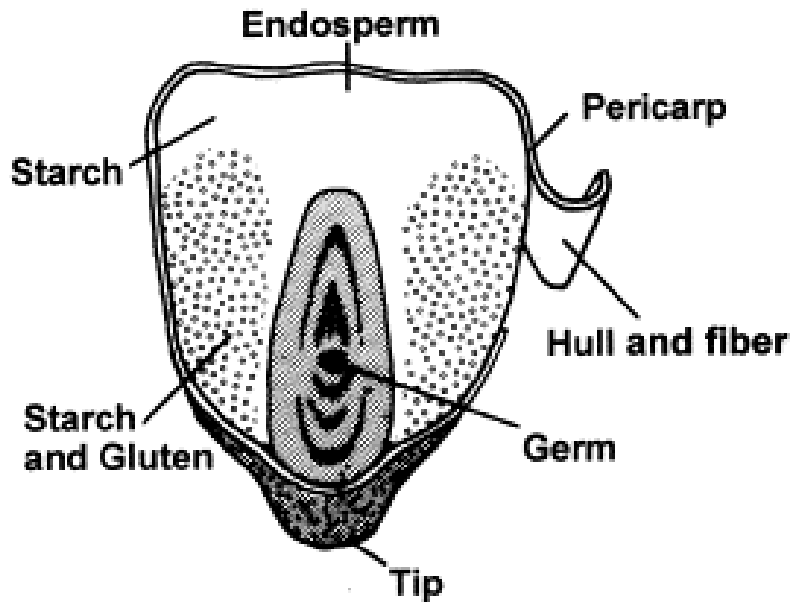
■ سوالات پژوهش

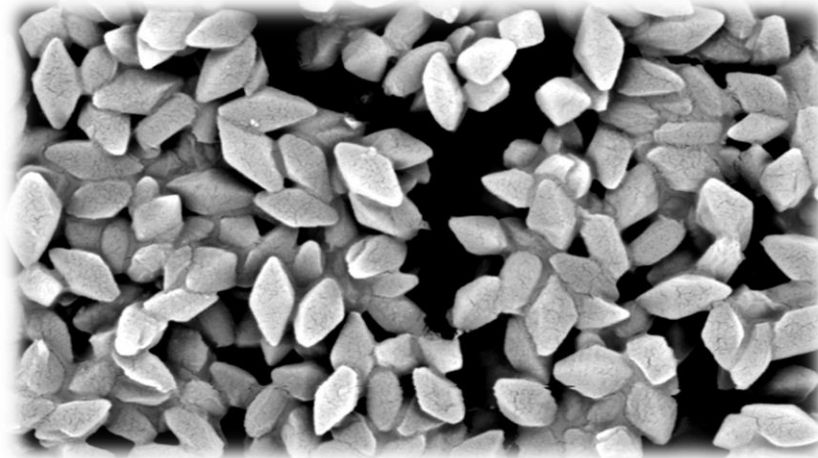
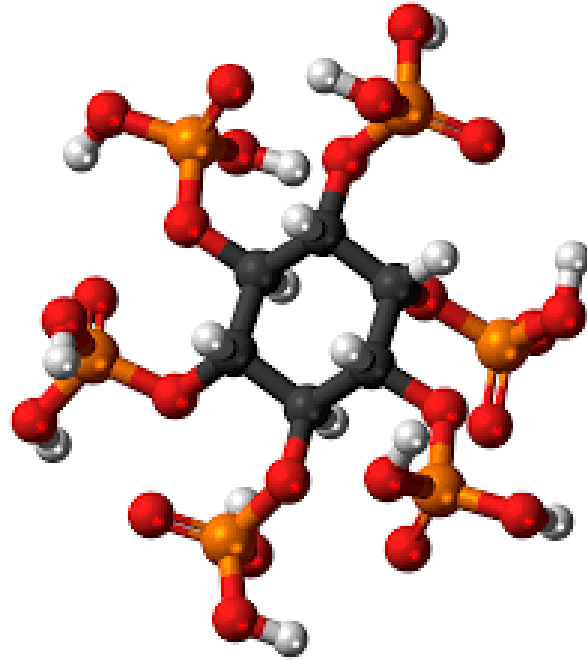
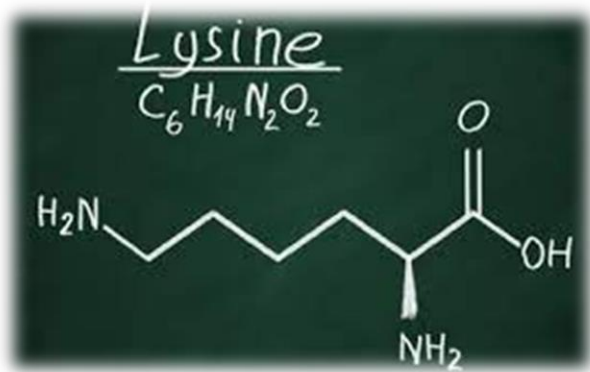
➤ آیا می‌توان ذرت تراریخته را بدون به کارگیری فاکتور های ژنی تشخیص داد؟

➤ آیا از طریق مطالعه فیتات می‌توان روش تشخیصی برای این کار پیدا کرد؟

➤ آیا میزان فیتات در ذرت تراریخته و ارگانیک متفاوت است؟

➤ آیا حضور فیتات تاثیری در فرایند هضم نشاسته دارد؟





▪ تعریف کلید واژه ها

❖ GMO

❖ توکسین

❖ باکتری Bt

❖ فیتات

❖ لیزین

محصولاتی که توالی ژنی از آنها حذف یا
به آنها اضافه شده است.

▪ تعریف کلید واژه ها

GMO

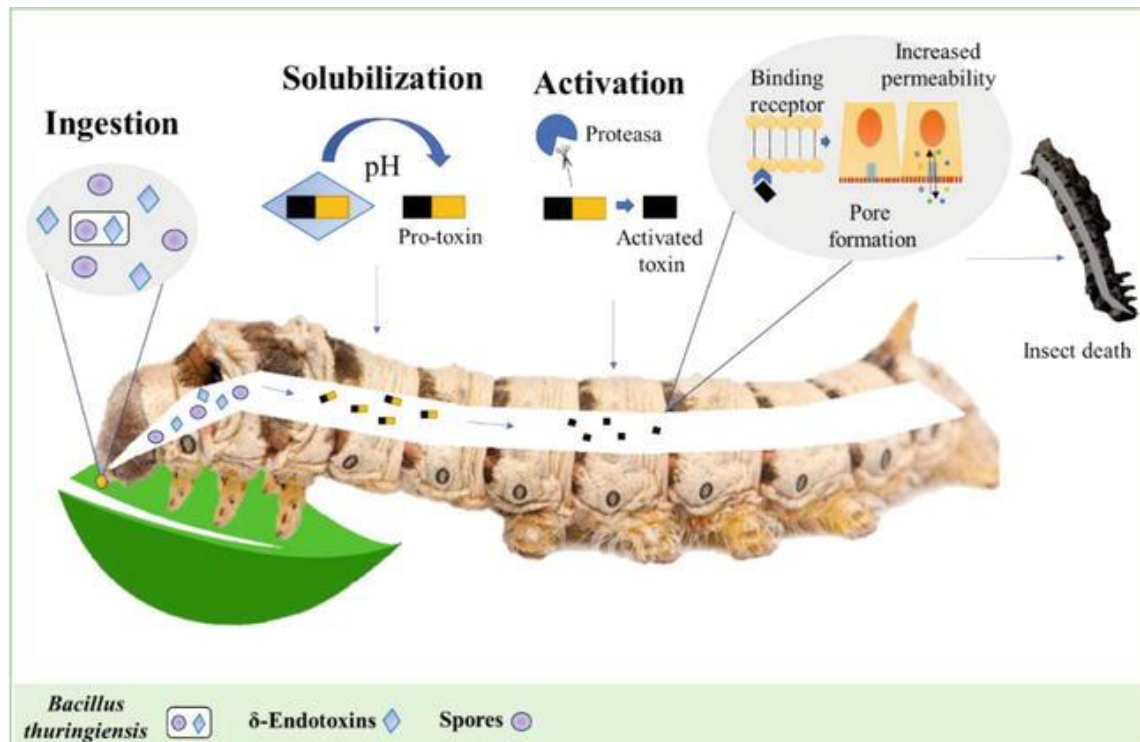
Genetically Modified
Organism



توکسین

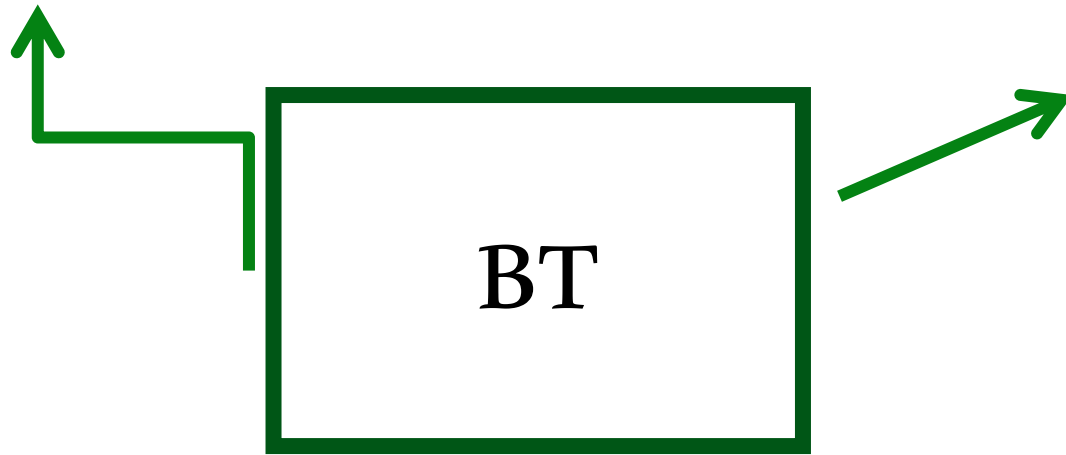
▪ تعریف کلید واژه ها

توکسین های میکروبی ترکیبات سمی هستند که با هدف ایجاد بیماری یا در پاسخ به سیستم ایمنی میزبان به منظور بقا تولید می گردد.



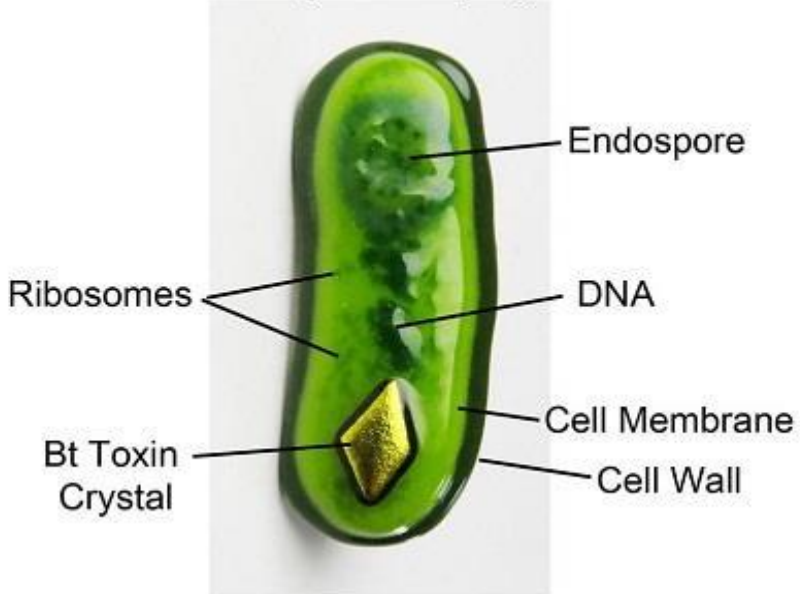
■ تعریف کلید واژه ها

یک باکتری گیاهی طبیعی است که تولید کریستالهای پروتئینی می کند که قادر است لارو حشرات را از بین ببرد.



Bacillus thuringiensis

Bacillus thuringiensis (Bt)



▪ تعریف کلید واژه ها

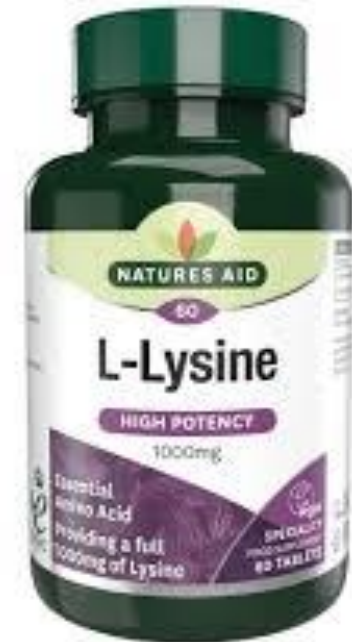
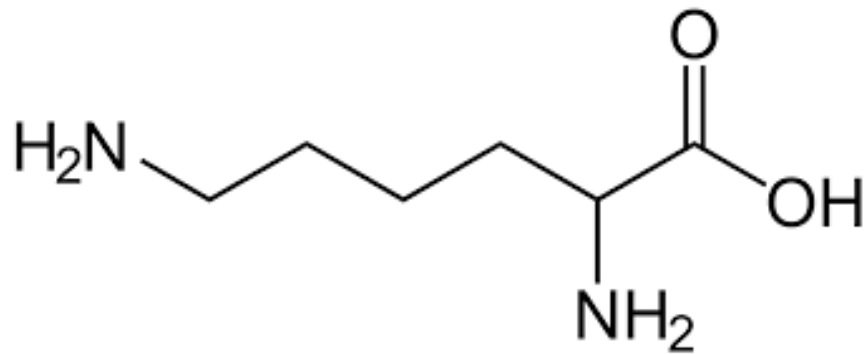
فیتات

فیتازها گروه ویژه‌ای از فسفاتازها میباشند که هیدرولیز مرحله به مرحله فسفات را از مولکول فیتات انجام میدهند، فیتات منبع اصلی ذخیره فسفات در دانه گیاهان میباشد.

▪ تعریف کلید واژه ها

از میان ۲۰ اسید آمینه مهم برای پروتئین سازی در بدن طیور قابلیت ساخت ۱۰ اسید آمینه را در بدن خود ندارند که اسیدهای آمینه ضروری خوانده می شوند و بایستی توسط جیره غذایی تامین شوند. لیزین از جمله این آمینو اسید های ضروری است.

لیزین



▪ مروری بر مطالعات گذشته

موضوع

- بررسی درصد تواربختگی ذرت های موجود در ایران توسط استخراج دی ان ای

سال

- سال 1392

نام

- حیدری - شاه حسینی - صالحی



▪ مروری بر مطالعات گذشته

موضوع

- بررسی ساختار کریستالی پروتئین Cry با استفاده از میکروسکوپ فازکنتر و هضم آنزیمی با استفاده از آنزیم پروتئاز K.

سال

- زمستان 1391

نام

- الهام معظمیان و همکاران



▪ مروری بر مطالعات گذشته

موضوع

• تولید و ابقای فعالیت توکسین تیپ A کلستریدیوم بوتولینوم

سال

• 1385

نام

• دکتر رمضانعلی عطائی و همکاران



▪ مروری بر مطالعات گذشته

موضوع

• بررسی اثر فیتات و فیتاز بر مصرف غذا، رشد، قابلیت هضم و فعالیت تریپسین در نوعی ماهی

سال

• 1386

نام

• صفری



▪ مروری بر مطالعات گذشته

موضوع

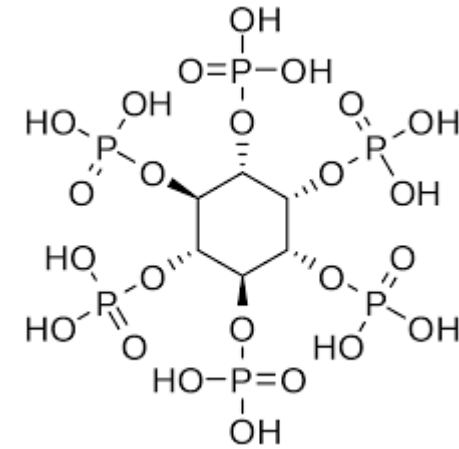
• بررسی میزان اسیدفیتیک و روی نان های مسطح شهر اهواز

سال

• 1393

نام

• حجتی، جهانگیری، نجفی



▪ مروری بر مطالعات گذشته

موضوع

• تاثیر افزودن آنزیم های تجاری، pH، حرارت بر میزان فیتات ذرت و کنجاله ی سویا

سال

• 1396

نام

• صانعی و همکاران



روش انجام طرح و فازبندی

1. بذر ذرت تراریخته
2. بذر ذرت ارگانیک
3. کلرید آهن
4. کلریدریک اسید
5. سدیم سولفات
6. آمونیوم تیوسیانات

استخراج و مقایسه میزان اسیدفیتک در ذرت

جمع آوری
اطلاعات

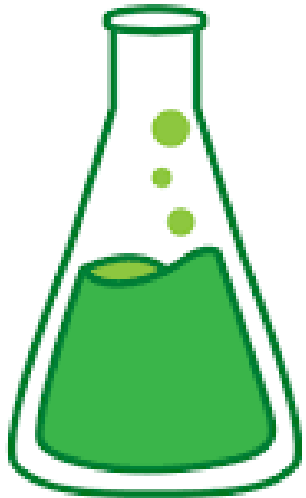
تهیه مواد
و لوازم

آماده سازی
بذر ها

استخراج
اسیدفیتک از هر
دو نوع بذر

جمع بندی
نتایج
آزمایش ها
و مقایسه
نتایج

تجزیه و تحلیل
داده ها





▪ فاز اول: جمع آوری اطلاعات

✓ مقالات: به منظور جمع آوری اطلاعات، از مقالات متعددی به زبان های فارسی و انگلیسی در زمینه های مربوطه استفاده شد.

✓ اینترنت: از سایت های معتبر منظور جمع آوری اطلاعات استفاده شد.

✓ مشاهدات: آزمایش هایی به منظور مشاهده و بررسی نتایج پروژه صورت

گرفت.



ترازوی دیجیتال



بالن ته صاف



■ فاز دوم: تهیه مواد و لوازم

ارلن



هاون آزمایشگاهی



لوازم

شیکر ارلن



بن ماری



سانتریفیوژ



کاغذ و قلم و دوربین



بذر ذرت تراریخته و ارگانیک

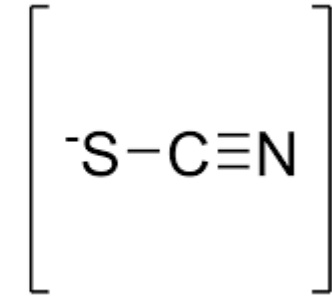
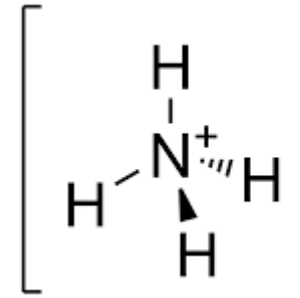


آب مقطر



■ فاز دوم: تهیه مواد و لوازم

آمونیم تیوسیانات



مواد

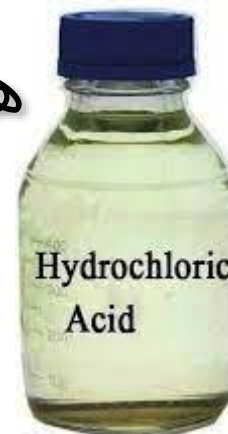
سدیم سولفات



آهن (III) کلرید



هیدروکلریک اسید



■ فاز سوم: آماده سازی بذر ها

- ابتدا دو نوع بذر ارگانیک و تراریخته گیاه ذرت از شرکت آذر سبز ایران تهیه شد.
- سپس در خاک مناسب و شرایط یکسان به لحاظ نور و آبیاری کاشته شدند.
- پس از گذشت یک هفته و با شروع جوانه زنی ، دانه ها از خاک بیرون آورده شد و با آب مقطر شستشو داده شد.
- در مرحله بعد دانه ها در دمای اتاق خشک و سپس خرد شدند.



▪ فاز چهارم: استخراج اسیدفیتیک از هر دو نوع بذر

- ابتدا محلول سازی مواد مورد نیاز شامل محلول کلرید سه آهن 0/08 مولار، کلریدریک اسید 1.2 % و 0.6 %، سدیم سولفات 10% و 5% انجام شد.
- محلول سازی با کلریدریک اسید زیر هود شیمیایی و با ابزار مناسب و رعایت ایمنی انجام شد.
- سپس میزان 1 گرم از هر دو نوع دانه های پودر شده با 50 میلی لیتر کلریدریک اسید 1.2 % و سدیم سولفات 10% مخلوط شد و به مدت 24 ساعت روی شیکر با چرخش 150 دور در دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت.



▪ فاز چهارم: استخراج اسیدفیتیک از هر دو نوع بذر

- در مرحله بعد محلول ها به مدت 40 دقیقه با دور 4000 سانتریفیوژ شد.
- پس از سانتریفیوژ، مقدار 10 میلی لیتر از محلول های رویی برداشته شد و به آن ها 5 میلی لیتر از محلول های 0.6% HCl و سدیم سولفات 5% و کلرید سه آهن 0/08 مولار اضافه شد. سپس ارلن های مورد نظر در دستگاه بن ماری به مدت 40 دقیقه در دمای 60 درجه قرار گرفت. در مرحله بعد، محلول ها با دور 4000 سانتریفیوژ شدند. سپس 0.5 میلی لیتر از محلول رویی هر نمونه با 1/5 میلی آب مقطر و 2 میلی لیتر آمونیوم تیوسیانات 0/05% مولار مخلوط شد. پس از تنظیم دستگاه اسپکتروفتومتر بر روی 465 nm جذب محلول های فوق قرائت گردید.



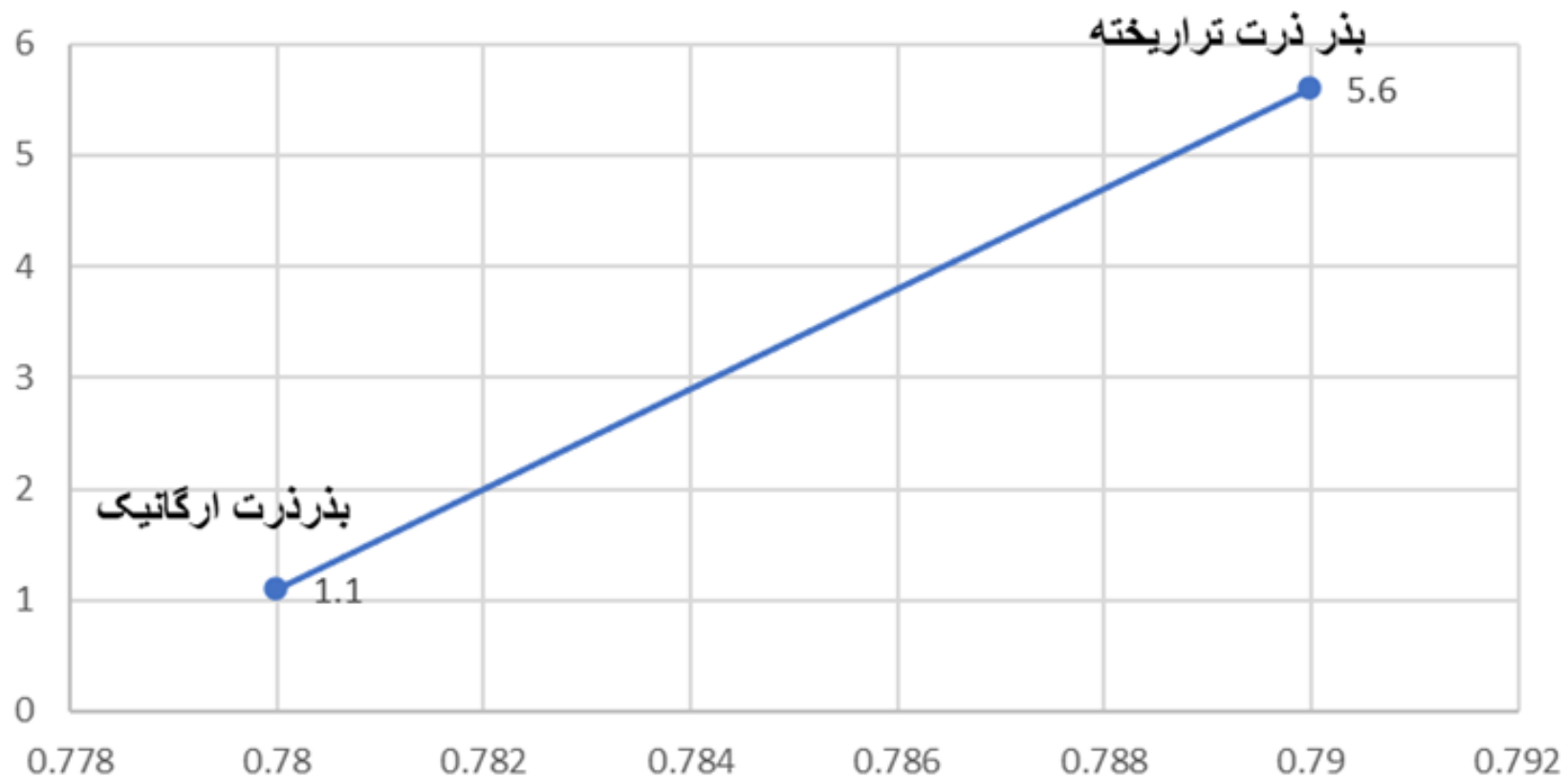
▪ فاز پنجم: جمع بندی نتایج آزمایش ها و مقایسه نتایج

✓ نتایج به دست آمده به صورت زیر می باشد:

درصد اسیدفیتیک	جذب محلول استاندارد	جذب نمونه	
۱/۱	۰/۸۳	۰/۷۸	بذر ذرت ارگانیک
۵/۶	۰/۸۳	۰/۷۹	بذر ذرت تراریخته

جدول شماره 1- اندازه گیری میزان فیتات در ذرت تراریخته و ارگانیک

■ فاز ششم: تجزیه و تحلیل داده ها



نمودار شماره 1: مقایسه تغییرات جذب نمونه در بستر
اسید فیتیک

■ فاز ششم: تجزیه و تحلیل داده ها

جذب نمونه	
۰,۷۸	ذرت ارگانیک
۰,۷۹	ذرت تراریخته

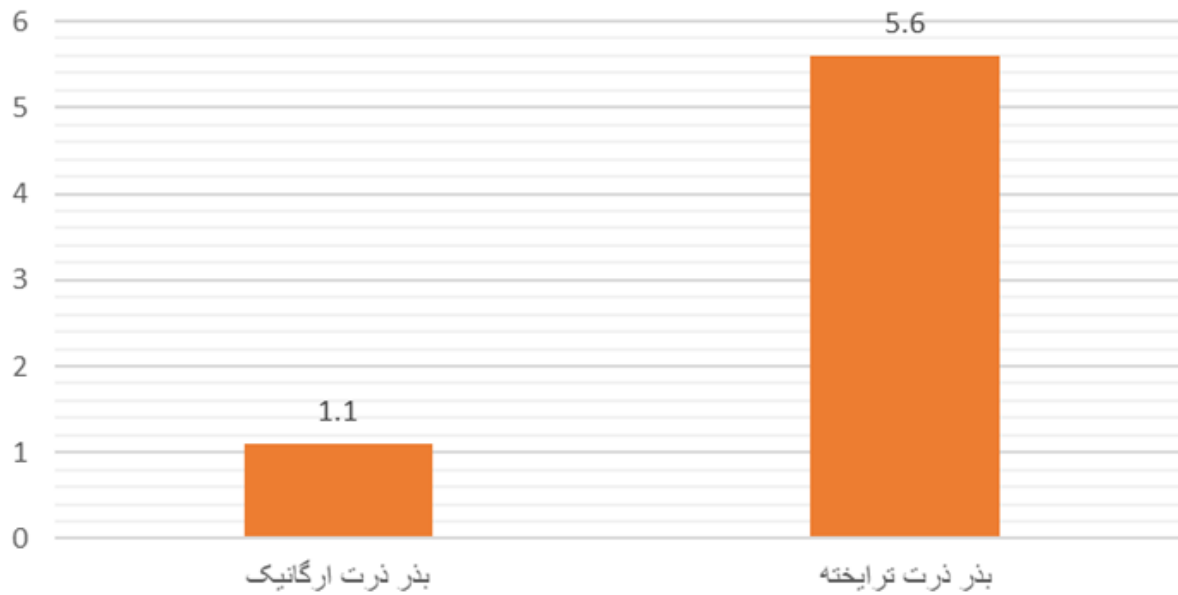
جدول شماره ۲: میزان جذب نمونه در بذر ذرت تراریخته و بذر ذرت ارگانیک

درصد اسید فیتیک	
۱,۱	بذر ذرت ارگانیک
۵,۶	بذر ذرت تراریخته

جدول شماره ۳: تفاوت درصد اسید فیتیک در بذر ذرت تراریخته و بذر ذرت ارگانیک

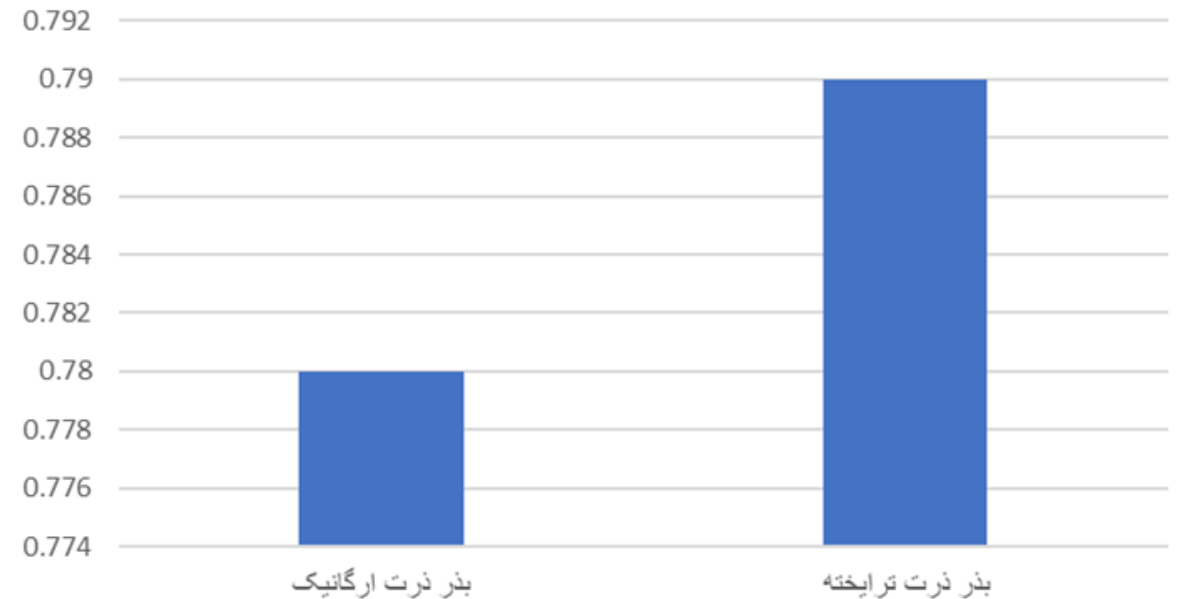
■ فاز ششم: تجزیه و تحلیل داده ها

درصد اسید فیتیک



نمودار شماره ۳: تفاوت درصد سید فیتیک در بذر ذرت ترايخته و بذر ذرت ارگانیک

جذب نمونه

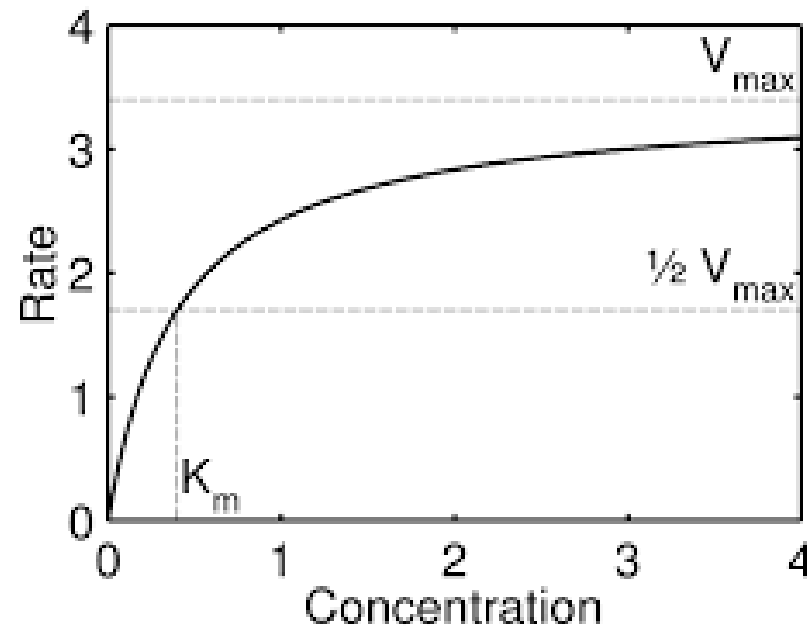
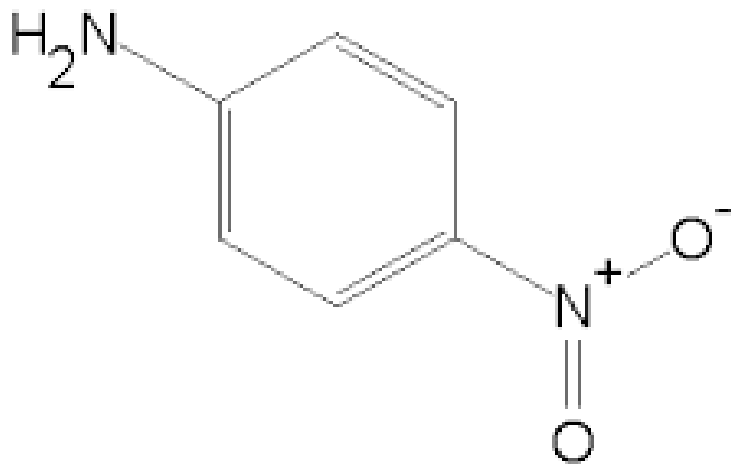


نمودار شماره ۲: تفاوت میزان جذب نمونه در بذر ذرت ترايخته و بذر ذرت ارگانیک

■ بحث و نتیجه گیری

✓ فعالیت آنزیم تحت تأثیر تخمیر، هیدراتاسیون و شرایط محیطی می تواند افزایش یا کاهش داشته باشد.

✓ نمودار تغییرات سرعت اولیه واکنش فیتاز در مقابل تغییرات غلظتهای مختلف سوبسترا از جمله پارانیتر و فنیل فسفات نشان داده شد که منحنی دارای شکل سهمی راستگوشه بود که نشان دهنده پیروی رفتار فیتاز از مدل میکائلیس-منتن است.



▪ بحث و نتیجه گیری

✓ با توجه به رفتار سینتیکی آنزیم فیتاز و میزان غلظت اسیدفیتیک بدست آمده در ذرت ارگانیک و تراریخته به نظر می‌رسد فعالیت آنزیم فیتاز در ابتدا با افزایش و سپس مستقل از غلظت سوبسترا با سرعت ثابت و یا رو به کاهش می‌باشد.



■ موانع کار

- محدودیت زمان
- دشواری استخراج آمینواسید از نمونه
- دشواری استخراج پروتئین از نمونه
- در دسترس نبودن ارقام متفاوت ذرت
- در دسترس نبودن مشخصات انواع ذرت های تراریخته به دلیل مسائل استراتژیک



▪ پیشنهادات

- بررسی میزان فیتات با بررسی تاثیر آن بر انحلال پذیری پروتئین
- بررسی میزان فیتات با بررسی تاثیر آن بر میزان حلالیت پروتئین
- تست سایر ارقام ذرت ها به منظر بررسی میزان اسیدفیتیک



■ منابع

- رزاقیان، ح. میرجلیلی م (1386). کشاورزي ارگانیک (آلی) و فواید آن
- محمدی، ز. یزدان پناه، م (1395). مزایا و معایب بهره مندی از گیاهان تراریخته
- گرایلی مرادی، ف. محمدی شریف، م. هادیزاده، ع. باباییزاد، و (1393). ردیابی مولکولی جدایه های بومی باکتری *Bacillus thuringiensis* از خاک های دارای پوشش گیاهی مختلف
- نجفی، ا. نبی پور، ا (1395). مهمترین توکسین های باکتریایی دریا؛ یک مطالعه مروری
- فریدونی، ن. معظمیان، ا. رسولی، م (1397). اثرات سمیت سلولی پروتئین کریستالی توکسین باسیلوس تورنجینسیس بر روی انگل لیشمانیا تروپیکا
- محمد آبادی، ط. قاسمی، و (1392). بررسی ارزش غذایی گیاهان تراریخته و بعضی تغییرات در ترکیب شیمیایی آنها
- حجتی، م. جهانگیری، ع. نجفی، م. (1393). بررسی میزان اسیدفیتیک و روی نان های مسطح شهر اهواز

با تشکر از توجه شما
عزیزان