

مهندسی ژنتیک گیاهی و اصلاح خاک‌های آلوده به فلزات سنگین توسط گیاهان

رحمانی م¹، مختارزاده س²، درخشان ا¹، عباس‌زاده ش²

1 و 2- به ترتیب دانشجوی کارشناسی‌ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی و کارشناسی‌ارشد ژنتیک و اصلاح نژاد، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین، اهواز

چکیده

فلزات سنگین و متالوئیدهای سمی آلی از قبیل کادمیوم، سرب، جیوه، آرسنیک، سلنیوم، تری‌کلرواتیلن، پنتاکلروفنول و تری‌نیتروتولون دائماً به درون محیط آزاد و بیوسفر روز به روز بیشتر به این ترکیبات آلوده می‌شود. امروزه نیاز به روش‌های کم‌هزینه، موثر و پایدار برای حذف و سمیت‌زدایی آنها از محیط ضروری به نظر می‌رسد. راهکارهایی از قبیل فیتوریمیداسیون (استفاده از گیاهان به منظور حذف عناصر آلاینده از محیط) بخاطر کم‌هزینه بودن، موثر بودن و اینکه گیاه در محیط *in situ* رشد و انرژی مورد نیاز خود را از خورشید تامین می‌کند نسبت به سایر روش‌ها ارزان‌تر و از لحاظ زیست محیطی سالم‌تر هستند. در اکوسیستم‌های آلوده به فلزات سمی، برخی گیاهان قادرند فلزات و متالوئیدها را جذب و در قسمت‌های قابل برداشت خود انباشته، سمیت‌زدایی و یا به فرم گازی و غیر سمی به درون محیط آزاد کنند. اکثر گیاهانی که به طور طبیعی قادر به جذب فلزات می‌باشند دارای بیوماس کم، سرعت رشد پایین و نسبت به اکثر شرایط محیطی ناسازگار هستند. در چند سال اخیر از مهندسی ژنتیک در اصلاح این گیاهان به منظور افزایش ظرفیت جذب فلزات، انتقال و همچنین تولید بیوماس بالاتر به طور وسیعی استفاده شده است. اگر چه گیاهان به طور ذاتی توانایی سمیت‌زدایی برخی از این آلاینده‌های سمی را دارا هستند اما در مقایسه با ریزسازواره‌ها فاقد مسیرهای کاتابولیکی لازم برای تجزیه کامل و یا معدنی کردن این ترکیبات هستند. بنابراین، انتقال ژن‌های دخیل در تجزیه عناصر آلاینده از ریزسازواره‌ها و یا سایر یوکاریوت‌ها به گیاهان، قابلیت آنها را در زدودن این ترکیبات خطرناک از محیط افزایش خواهد داد.

واژگان کلیدی: فیتوریمیداسیون، گیاهان تراریخته، فلزات سنگین، آلاینده‌های آلی

مقدمه

فلزات سنگین¹ گروه اصلی آلاینده‌های غیرآلی می‌باشند. به دلیل استفاده از زباله‌های شهری به منظور حاصلخیزی اراضی و همچنین دفن نادرست آنها، آزاد شدن خاکستر حاصل از سوزاندن زبالجات شهری، دود حاصل از کارخانجات، اتومبیل‌ها و همچنین استفاده بی‌رویه از آفت‌کش‌ها و کودها به درون بیوسفر آزاد و مناطق وسیعی از جهان به این ترکیبات آلوده شده است. علاوه بر این، افزایش رو به رشد صنعتی شدن، مدرن شدن عملیات کشاورزی و افزایش استفاده از فناوری هسته‌ای، غلظت آلاینده‌های محیطی را افزایش و به یک سطح سمی برای تمامی موجودات رسیده است. علاوه بر مضرات فلزات سنگین بر سلامت انسان و سایر جانداران، تداوم بقاء این فلزات در محیط این مضرات را تشدید می‌کند. برای مثال سرب یکی از فلزات بسیار پایدار بوده که میزان پایداری آن در شرایط طبیعی 150-1500 سال برآورد شده و بقای آن در محیط به بیش از 150 سال می‌رسد (3 و 11).

¹ Heavy metals



صرفنظر از منبع فلزات، بالا بودن غلظت اکثر فلزات در خاک باعث تخریب و بهم زدن بافت و کیفیت خاک زراعی، کاهش تولید محصولات زراعی و پائین آوردن کیفیت محصول تولیدی می شود. فلزاتی از جمله آرسنیک (As)، کادمیوم (Cd)، کرومیوم (Cr)، سرب (Pb)، جیوه (Hg)، سلیوم (Se)، نقره (Ag) و Zn حتی در غلظت های نسبتا کم، سمیت بالایی دارند. برخی دیگر از فلزات همچون آلومینیم، سلیوم، کبالت، مولیبدن و اورانیوم دارای سمیت پائینی بوده و در صورت رسیدن غلظت آنها به یک حد بالا به صورت سمی در می آیند. (12). تشخیص مضرات این عناصر برای انسان، دام و محیط منجر به گسترش تکنولوژی های برای حذف این عناصر شده است. به دلیل مخارج بالای برخی از این تکنولوژی ها، تکنولوژی های دیگری همچون ریمیداسیون زیستی¹ توجه زیادی را به خود جلب کرده است که از میکروب ها، گیاهان و جانداران دیگر استفاده می شود. در میان فعالیت های ریمیداسیون زیستی، ریمیداسیون گیاهی² از اهمیت قابل توجهی برخوردار است.

گیاهی به عنوان Phytoremediator نامیده می شود که قادر به جذب مقادیر بالایی از یک یا چند فلز سمی از خاک بوده و این فلز را در بافت های خود انباشته و یا سمیت آن را کاهش و در محیط آزاد کند. چنین گیاهی هم قادر به رشد در خاک های آلوده به فلزات سمی و هم قادر به تجمع و انباشتن غلظت های بالایی از فلزات سنگین در بافت های خود می باشد. ریمیداسیون گیاهی یعنی استفاده از گونه های مختلف گیاهی برای پاک کردن خاک و آب های آلوده به عناصر و فلزات سمی است. این تکنولوژی در سال های اخیر توجه زیادی را به خود جلب کرده و در این زمینه پیشرفت های چشمگیری حاصل شده است. این سیستم بسیار کم هزینه، کارآمد، امیدبخش و یک فناوری همسو با حفاظت از محیط زیست است. در ریمیداسیون گیاهی، گیاه به صورت یک پمپ خورشیدی عمل کرده و این پمپ فلزات خاصی را از خاک خارج و در بافت های خود انباشته می کند. این استراتژی ویژگی های بیولوژیکی و فیزیکی ساختمان خاک را حفظ و در اکثر موارد به بهبود ساختمان خاک کمک می کند. بنابراین در مقایسه با میکروب ها استفاده از گیاهان برای پاک کردن محیط های آلوده به فلز مزیت هایی را داراست چرا که گیاهان از انرژی خورشیدی استفاده و نیاز غذایی خود را برآورده می کنند (اتوتروف) در صورتیکه میکروارگانیسم ها برای رشد به یک منبع انرژی خارجی نیاز دارند. گیاهان به دلیل داشتن سیستم ریشه ای، قسمت وسیعی از خاک را پوشش داده و هر کدام از این ریشه ها به عنوان یک پمپ خورشیدی عمل و فلزات را از آب و خاک های آلوده خارج می کنند.

با این وجود، برای استفاده از این تکنولوژی مفید و موثر در مقیاس تجاری، به منظور تمیز کردن محیط های آلوده محدودیت هایی وجود دارد که باید مورد بررسی و مطالعه واقع و راهکارهایی برای آنها اندیشیده شود. ابداع تکنیک های مهندسی ژنتیک گیاهی باعث پیشرفت های قابل توجهی در تولید گیاهان تراریخته و مناسب برای زدودن فلزات سنگین از محیط های آلوده شده است.

مکانیسم های جذب و انباشتن فلزات در گیاهان

جذب و انباشتن فلزات سنگین توسط گیاهان عالی یک فرایند پیچیده است. این پروسه شامل مراحل زیر است:

- (1) انتقال و عبور فلزات از میان غشاء پلاسمایی سلول های ریشه
- (2) بارگیری فلز در آوند چوبی گیاه و انتقال از این آوند به قسمت های هوایی

¹ Bioremediation

² Phytoremediation



(3) تغییر در فرم انباشته شده فلز در اندام‌های هوایی گیاه و سمیت‌زدایی¹ آن در سطح بافت و سلول گیاهی. تاکنون بیش از 400 گونه گیاهی به عنوان انباشته‌کننده فلزات شناخته شده‌اند و تعداد قابل توجهی از آنها توانایی جذب و انباشتن بیش از دو فلز را در بافت‌های خود دارا هستند. پیش‌نیاز لازم جهت بالا رفتن ظرفیت ذخیره‌سازی² یک فلز خاص توسط گیاهان، توانایی گیاه در تحمل به غلظت‌های بالایی از حضور این فلز در داخل بافت‌ها و سلول‌های خود می‌باشد. برخی از گیاهان ترکیبات شلاته‌کننده را به درون ریزوسفر آزاد و این ترکیبات به حل شدن و جذب فلز موجود در محیط کمک می‌کنند. تغییر pH ریزوسفر و یا تغییر پتانسیل ردوکس توسط ریشه‌های گیاه نقشی موثر بر حرکت عناصر غذایی به سمت ریشه‌های گیاه دارد. اکثر گیاهان انباشته‌کننده فلزات، اسیدهای آلی از قبیل اسید اگزالیک، اسید مالونیک، اسید مالیک و اسید سیتریک را از ریشه‌های خود دفع می‌کنند. این ترکیبات به عنوان شلاته‌کننده فلزات عمل کرده، pH ریزوسفر را کاهش و فلزات را به صورت کاتیون‌های قابل جذب برای ریشه‌های گیاه در می‌آورند (12). نقش متالوتیونین‌ها (MTs) و فیتوشلاتین‌ها در جذب، انتقال، توزیع داخل سلولی³ و انباشتن فلزات در گیاهان ثابت شده است. متالوتیونین‌ها ترکیباتی با وزن مولکولی پایین بوده و دارای یک زنجیره بزرگ جانبی سیستئین می‌باشند اما فیتوشلاتین‌ها فقط از 3 اسید آمینه گلوتامات، سیستئین و گلیسین تشکیل شده‌اند. این ترکیبات محصول مستقیم یک ژن نبوده و مسیرهای مختلفی در سنتز آن دخالت دارند. در سنتز این ترکیبات گلوتیونین به عنوان سوبسترا عمل می‌کند. فیتوشلاتین‌ها در ذخیره فلزات در واکوئل سلول نقش بسیار مهمی دارند و به کاهش اثرات سمی آنها بر سلول کمک می‌کنند.

مهندسی ژنتیک برای Phytoremediation

گیاهانی که به طور طبیعی انباشته‌کننده فلزات⁴ هستند به دلیل کوچک بودن پیکر رویشی و پایین بودن سرعت رشد، برای خارج کردن فلزات از محیط، از کارایی پایینی برخوردارند. این ویژگی‌ها باعث کاهش پتانسیل این گیاهان برای Pytoextraction فلزات شده و به دلیل وجود صفات زراعی نامطلوبی از قبیل دشوار شدن برداشت مکانیکی، کاربرد این گیاهان را محدود کرده است. برای غلبه بر این معایب، روش‌های مرسوم و سنتی اصلاح نباتات برای بهبود این گیاهان به منظور خارج کردن فلزات سمی از خاک‌های آلوده پیشنهاد و تاکنون در چندین مورد، به کار برده شده است. متأسفانه، موفقیت این روش‌ها به دلیل ناسازگاری بین جنسی و بین‌گونه‌ای ناشی از تفاوت‌های آناتومیکی بین گیاهان والدی محدود بوده و در برخی موارد ناممکن است. با استفاده از بیوتکنولوژی و روش‌های مهندسی ژنتیک، موفقیت‌های چشمگیری در این زمینه حاصل شده است. در جذب، انتقال و حذف فلزات از محیط ژن‌های زیادی شناخته شده‌اند و انتقال هر کدام از این ژن‌ها به گیاهان مناسب، یک استراتژی مفیدی برای مهندسی ژنتیک گیاهی به منظور اصلاح گیاهان برای زدودن فلزات سنگین از محیط‌های آلوده می‌باشد. مکانیسم‌های سلولی تحمل به فلزات را می‌توان بر دو استراتژی تقسیم‌بندی کرد:

¹ Detoxifying

² Hyperaccumulation

³ Intracellular partitioning

⁴ Metal hyperaccumulators



(1) به حداقل رساندن غلظت فلزات سمی داخل سیتوپلاسم از طریق ممانعت از عبور آنها از میان غشاء پلاسمایی، افزایش جایگاههای اتصال¹ یونهای فلزی به دیواره سلولی، کاهش جذب با تغییر در کانالهای یونی موجود در غشاء پلاسمایی، بیرون راندن فلزات از سلول با ایجاد پمپهای فعال (مکانیسمی که در میان باکتریهای مقاوم به فلزات وجود دارد).

(2) سمیتزدایی یونهای سمی وارد شده به داخل سیتوپلاسم از طریق غیرفعال کردن فلزات از طریق شلاته کردن، تبدیل فلزات سمی به یونهای با سمیت کمتر از طریق پخش در قسمت های مختلف سلول. زمینه هایی که با دستورزی ژنتیکی می توان گیاهان را برای این هدف اصلاح کرد در زیر آمده است:

انتقال و بیان ژن های دخیل در متالوتیونین ها، فیتوشلاتین ها و شلاته کننده های فلزات

ژن های دخیل در سنتز متالوتیونین ها کلون و به ژنوم چندین گونه گیاهی منتقل شده اند. انتقال ژن MT-2 انسانی به ژنوم تنباکو و کلزا موجب افزایش تحمل این گیاهان به کادمیوم شده است (3) و انتقال ژن MT از نخود به ژنوم آرابیدوپسیس موجب افزایش ظرفیت انباشتن Cu در گیاهان تراریخت شد (4).

انتخاب پروموتور مناسب جهت بیان ژن های متالوتیونین از اهمیت فوق العاده ای برخوردار است. پروموتور ریبولوزبیس فسفات کربوکسیلاز در حضور غلظت های بالای کادمیوم خاموش در صورتیکه پروموتور مانوزسنتاز نسبت به کادمیوم القاء پذیر است. با افزایش بیان ژن سیستئین سنتاز و در نتیجه افزایش سنتز فیتوشلاتین در گیاهان تراریخته، تحمل این گیاهان نسبت به کادمیوم افزایش پیدا کرده است (5). با انتقال ژن های مختلف MT به تنباکو، گونه های خانواده براسیکاسه و آرابیدوپسیس تحمل و ظرفیت انباشتن فلز کادمیوم در این گیاهان به میزان قابل توجهی افزایش یافت. زمانی که ژن MT منتقل شده به آرابیدوپسیس منشاء گیاهی داشت (مانند انتقال ژن PS MTA از گیاه *Pisum sativum*) در مقایسه با گیاهان شاهد در ریشه های گیاهان تراریخته میزان بیشتری فلز Cu انباشته شد (4).

ناقل های فلزات²

دستورزی ژنتیکی³ ناقل های فلزات به منظور تغییر در میزان تحمل و انباشتن فلزات توسط گیاهان استراتژی بسیار مفیدی است. انتقال ژن ناقل Zn (ZAT) از *T. goesingense* به آرابیدوپسیس موجب شد تا گیاهان تراریخته نسبت به گیاهان شاهد بیش از 2 برابر Zn را در ریشه های خود انباشته کنند (15).

انتقال ژن کد کننده ناقل واکوئولی کلسیم (CAX-2) از آرابیدوپسیس به تنباکو موجب شد تا گیاهان تراریخته نسبت به گیاهان شاهد مقادیر بیشتری Ca، Cd و Mn را در بافت های خود انباشته کنند (8). پروتئین مخمری YCF 1 یکی از اعضای خانواده پروتئین های ناقل ABC بوده و در انتقال و ورود کادمیوم به درون واکوئل سلول از طریق کانجوگاسیون با گلوکاتایون نقش مهمی دارد. بیان این پروتئین در آرابیدوپسیس باعث شد تا گیاهان تراریخته به کادمیوم و سرب تحمل بیشتر و علاوه براین، نسبت به گیاهان شاهد غلظت های بیشتری از این فلزات را در بافت های خود انباشته کنند (14).

¹ Binding sites

² Metal Transporters

³ Genetic Manipulation



دستورزی مسیرهای متابولیکی

مسیرهای متابولیکی را جهت بالا بردن ظرفیت جذب و انباشتن فلزات در گیاهان می‌توان تغییر داد. با انتقال و بیان ژن‌های باکتریایی *mer A* و *mer B* (این دو ژن با هم در یک مسیر متابولیکی شرکت دارند و توسط یک اپرون واحد بیان می‌شوند) در گیاهان مختلف، بوته‌های تراریخته در مقایسه با بوته‌های شاهد نسبت به مقادیر سمی جیوه چندین برابر تحمل نشان دادند و علاوه بر این مقادیر زیادی جیوه را از محیط آلوده خارج کردند. در گیاهان تراریخته، آنزیم سنتز شده توسط ژن *mer B* (ارگانومرکوریال‌لیاز)، آزاد شدن Hg^{2+} را از Methyl-Hg کاتالیز کرده و Hg^{2+} توسط آنزیم حاصل از ژن *mer A* (مرکوری‌ریداکتاز) به Hg^0 تبدیل می‌شود (1).

ژن باکتریایی *AsrC* کدکننده آرسنات ریداکتاز بوده و تحت پروموتور روبیسکو القاء شونده نوری گیاه سویا، بیان می‌شود. با بیان پروتئین *AsrC* در ساقه و برگ‌های آرابیدوپسیس آرسنات به آرسنیک احیا می‌شود در صورتیکه ECS، اولین آنزیم در بیوسنتز فیتوشلاتین (PC) بوده و قابلیت ذخیره PC را در گیاه افزایش می‌دهد. گیاهان تراریخته‌ای که هر دو پروتئین در آنها بیان می‌شود تحمل بیشتری به غلظت‌های بالای آرسنات از خود نشان می‌دهند.

دستورزی ساختار ریشه گیاهان

منشعب بودن سیستم ریشه‌ای گیاهان تا باعث جذب موثر فلزات سمی در دامنه وسیعتری از خاک شود ضروری است. باکتری *A. rhizognese* می‌تواند بیوماس ریشه را در برخی از گیاهان بالا ببرد. ریشه‌های مویی القاء شده توسط این باکتری در ریزوفیلتراسیون فلزات سمی و رادیونوکلئوتیدها بسیار موثرند (2).

دستورزی ظرفیت تولید بیوماس گیاهان

ظرفیت تولید بیوماس گیاهانی را که توانایی آنها در جذب و انباشتن فلز خاصی بسیار بالاست می‌توان با انتقال ژن‌های کدکننده فیتوهورمون‌ها تغییر و افزایش داد. اخیراً مسیرهای بیوسنتزی اکثر هورمون‌های گیاهی مورد بررسی و مطالعه قرار گرفته و ژن‌های مسئول اکثر آنزیم‌های بیوسنتزی این مسیرها کلون شده است. این پیشرفت‌های چشمگیر، فرصت‌های جدیدی را فراروی تغییر محتوای هورمون بافت‌های گیاهی و تنظیم بیوسنتز آنها قرار داده است (7). با وجود این پیشرفت‌ها تاکنون تحقیقات کمی در این زمینه جهت بالا بردن کارایی ریمیداسیون گیاهی انجام و یا اصلاً انجام نگرفته است.

رهیافت‌هایی که در آینده می‌توانند در مهندسی ژنتیک گیاهی برای تولید گیاهان کارآمد مورد استفاده قرار گیرند

ریمیداسیون گیاهی فرایندی فیزیولوژیکی بوده و اکثر فلزات سمی از مسیری که تاکنون به طور کامل شناخته نشده، جذب و انباشته می‌شوند. تحقیقات چشمگیری در رابطه با درک مکانیسم‌های ژنتیکی و بیوشیمیایی جذب فلزات صورت گرفته است، اما شناخت بیشتر این فرایندها برای تولید گیاهان تراریخته‌ای که دارای حداکثر ظرفیت جذب و ذخیره فلزات باشند ضروری است. در مهندسی ژنتیک گیاهی به منظور افزایش ظرفیت جذب، اهدافی همچون افزایش تعداد جایگاه‌های جذب فلز، تغییر در تخصصی عمل کردن سیستم جذب جهت کاهش رقابت توسط سایر فلزات و افزایش تعداد جایگاه‌های اتصال درون سلولی فلزات از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند.



گیاهانی که به طور طبیعی انباشته کننده فلز هستند منبع بسیار خوبی از ژن های دخیل در حذف فلزات سمی از محیط می باشند. کنترل تنظیمی بیان ژن ها و استفاده از پروموتورهای اختصاصی بافت های گیاهی، رهیافت نویدبخشی فراروی تراریزش گیاهان جهت حذف و انباشتن رادیونوکلوئیدها و آلاینده های فلزی از محیط، در بافت های خاصی از گیاه می باشد.

اسیدهای آلی با فلزات تشکیل کمپلکس می دهند. گیاهانی که به فلزاتی همچون Cu و Zn تحمل دارند غلظت های بالایی از ملات را در بافت های خود انباشته و به درون خاک ترشح می کنند. گیاهان انباشته کننده فلزات توسط این اسیدها فلز را بارگیری می کنند. بنابراین، این آنیون های اسیدی در ذخیره و انتقال داخلی گیاه نقش بسیار مهمی دارند. در این زمینه می توان گیاهان تراریختی را تولید کرد که بتوانند لیگاند هایی را به درون ریزوسفر ترشح کنند و به طور اختصاصی فلزات را برای جذب توسط گیاه قابل حل سازند. یافتن مولکول های ساده با قابلیت شلاته کردن انتخابی که گیاهان بتوانند آنها را سنتز و به درون ریزوسفر ترشح کنند و همزمان تراریخته کردن گیاهان جهت سنتز پروتئین ناقل فلز شلاته شده یک زمینه تحقیقاتی بسیار بارزشی است و در جذب و انباشتن بسیاری از فلزات موثر است.

تغییر مقصد سلولی فلزات به داخل واکوئل ها از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است، زیرا فلزات سمی در این اندامک سلولی بدون اینکه در اعمال سلولی اختلالی ایجاد کنند با غلظت و مقادیر بالا نگهداری می شوند. بنابراین، مهندسی ناقل های واکوئلی، ترجیحا" در انواع خاصی از سلول ها، نسل دومی از رهیافت های مهندسی ژنتیک برای ریمیداسیون گیاهی می باشد. همچنین ایجاد کانال های ذخیره فلزات از طریق افزایش جایگاه های اتصال فلزات در پیکر گیاه رهیافتی دیگر است. هیبریداسیون سوماتیکی سلولی بین گیاهان مناسب و دارای ظرفیت تولید بیوماس بالا با گیاهان انباشته کننده فلزات اما دارای ظرفیت تولید بیوماس پایین، راهی بسیار مفید جهت تولید هیبرید های انباشته کننده فلز با قابلیت تولید بیوماس خواهد بود.

مهندسی کلروپلاست

تاکنون تقریبا" تمامی تحقیقات انجام گرفته در مهندسی ژنتیک گیاهی به منظور اصلاح و بهبود گیاهان جهت زدودن فلزات سمی از محیط، بر اساس تراریزش ژنوم هسته ای بوده است. رهیافت جدید و جایگزین این روش ها برای رسیدن به این هدف، مهندسی ژنوم کلروپلاست گیاهان عالی است. این روش نسبت به تراریزش هسته از مزایای زیر برخوردار است:

- 1) بیان بسیار بالای ژن انتقالی در کلروپلاست (بیشتر از 46% کل پروتئین محلول در سلول)
- 2) وراثت ژن پلاستییدی به صورت تک والدی (در اکثر گیاهان زراعی) که از انتشار ترانسژن از طریق دانه گرده به گیاهان ناخواسته به میزان زیادی جلوگیری می کند.
- 3) عدم وجود خاموشی ژن¹ و اثر مکانی² در کلروپلاست
- 4) قابلیت بیان چندین ژن در یک واقعه تراریزش در کلروپلاست

¹ Gene silencing

¹ positio Gene silencing

² positioning effect



5) بیان ژن‌های باکتریایی در کلروپلاست بدون نیاز به بهینه‌کردن کدون¹
6) امکان ادغام ژن هدف از طریق فرایند نو ترکیبی همسان² جهت تسهیل در ادغام ژن انتقالی به کلروپلاست
تاکنون مهندسی کلروپلاست برای اهداف مختلفی از جمله مقاومت به آفات، بیماری‌ها، علف‌کش‌ها، تحمل به خشکی و بیان و تولید ترکیبات دارویی با موفقیت انجام گرفته است. اخیراً از این تکنیک در انتقال اپرون باکتریایی دارای ژن‌های *mer A* و *mer B* به کلروپلاست تنباکو جهت تولید گیاهان تراریخته مقاوم به فلزات سمی استفاده شده است (13).

نتیجه‌گیری

تحقیقات نشان می‌دهند که ریمیداسیون گیاهی روشی بسیار موثر جهت حذف و سمیت‌زدایی فلزات سنگین و متالوئیدهای سمی همچون کادمیوم و جیوه از آب و خاک‌های آلوده می‌باشد. شناسایی ژن‌های مفید در گیاهانی که به طور طبیعی فلزات را در بافت‌های خود انباشته می‌کنند ضروری به نظر می‌رسد تا بتوان این ژن‌ها را به گونه‌های سریع‌الرشد انتقال داد.

با وجود اینکه مکانیسم‌های مختلفی برای تولید گیاهان تراریخته تاکنون گزارش شده است اکثر گیاهانی که تاکنون تراریخته شده‌اند با افزایش بیان ژن‌های مسئول بیوسنتز پروتئین‌ها و پپتیدهای باند شونده به فلزات، ژن‌های کاهش دهنده سمیت فلزات و یا ترکیبی از این دو مسیر تولید شده‌اند. برای بهره‌مندی موثر از بیوتکنولوژی جهت تولید گیاهان تراریخته‌ای که بتوانند حذف و خارج سازی فلزات را از محیط به طور موثر و پایدار انجام دهند دانستن اصول و پایه‌های ژنتیکی بیش- انباشتگی³ ضروری است. با وجود پتانسیل بسیار بالای گیاهان انباشته کننده⁴ فلزات سمی در زدودن فلزات سمی از خاک‌های آلوده، استفاده و کاربرد این گیاهان در مقیاس وسیع با محدودیت‌هایی همراه است، به طوری که اکثر این گیاهان به طور طبیعی بیوماس و سرعت رشد بسیار پائینی دارند. رفع این محدودیت‌ها ضروری بوده و این خود نیاز به بررسی هر چه بیشتر مکانیسم‌های مولکولی جذب و انباشتن فلزات موجود در این گیاهان دارد. در سال‌های گذشته اکثر تحقیقات در این زمینه، به درک و دریافتن مکانیسم‌های فیزیولوژیکی انباشتن فلزات در گیاهان پرداخته و پیشرفت‌های خوبی هم حاصل شده است. بدون شک، درک و شناخت مکانیسم‌های سلولی- مولکولی این فرایند در گیاهان عالی تحول بسیار عظیمی را در زدودن فلزات سمی از محیط‌های آلوده پدید می‌آورد.

منابع:

1. Bizily SP, Rugh CL, Meagher RB. Phytodetoxification of hazardous organomercurials by genetically engineered plants. *Nat Biotechnol* 2000;18:213– 7.
2. Eapen S, D'Souza SF. Prospects of genetic engineering of plants for phytoremediation of toxic metals. *Biotechnol Adv* 2005;23: 97–114.

¹ Codon optimization

² homologous recombination

³ Hyperaccumulation

⁴ Hyperaccumulators



3. Evans KM, Gatehouse JA, Lindsay WP, Shi J, Tommey AM, Robinson NJ. Expression of the pea metallothionein like gene Ps MTA in *Escherichia coli* and *Arabidopsis thaliana* and analysis of trace metal ion accumulation: implications of Ps MTA function. *Plant Mol Biol* 1992;20:1019–28.
4. Gisbert C, Ros R, De Haro A, Walker D. J., Bernal M.P., Serrano R., and Navarro-Avi J., (2003), A plant genetically modified that accumulates Pb is especially Promising for Phytoremediation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 303: 440–445.
5. Harada E, Choi YE, Tsuchisaka A, Obata H, Sano H. Transgenic tobacco plants expressing a rice cysteine synthase gene are tolerant to toxic levels of cadmium. 2001.
6. Heaton ACP, Rugh CL, Wang NJ, Meagher RB (1998) Phytoremediation of mercury and methylmercury polluted soils using genetically engineered plants. *J Soil Contam* 7: 497–509
7. Hedden P, Phillips AL. Manipulation of hormone biosynthetic genes in transgenic plants. *Curr Opin Biotechnol* 2000;1(2):130 –7.
8. Hirschi KD, Korenkov VD, Wilganowski NL, Wagner GJ. Expression of *Arabidopsis* CAX2 in tobacco Altered metal accumulation and increased manganese tolerance. *Plant Physiol* 2000;124:125– 33.
9. Ka`renlampi S, Schat H, Vangronsveld J, Verkleij JAC, Lelie D, Mergeay M, Tervahauta AI (2000) Genetic engineering in the improvement of plants for phytoremediation of metal polluted soils. *Environ Pollut* 107: 225–231
10. Krämer U. and Chardonnens A. N., (2001), the use of transgenic plants in the bioremediation of soils contaminated with trace elements. *Applied Microbiology and Biotechnology*.
11. Meagher RB (2000) Phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants. *Curr Opin Plant Biol* 3: 153–162
12. Misra S, Gedamu L. Heavy metal tolerant transgenic *Brassica napus* L and *Nicotiana tabacum* L plants. *Theor Appl Genet* 1989;78:16 – 8.
13. Oscar N. Ruiz, Hussein S. Hussein, Norman Terry, and Henry Daniel, (2003) Phytoremediation of Organomercurial Compounds via Chloroplast Genetic Engineering. *Plant Physiology*. 132: 1344–1352.
14. Song WY, Sohn EJ, Martinoia E, Lee YJ, Yang YY, Jasinski M, et al. Engineering tolerance and accumulation of lead and cadmium in transgenic plants. *Nat Biotechnol* 2003;21(8):914– 9.
15. Van der Zaal BJ, Neuteboom LW, Pinas JE, Chardonnens AN, Schat H, Verkleij JAC, et al. Overexpression of a novel *Arabidopsis* gene related to putative zinc transporter genes from animals can lead to enhanced zinc resistance and accumulation. *Plant Physiol* 1999;119:1047– 55.
16. Varvara P. Grichko, Brendan Filby, Bernard R. Glick, (2000) Increased ability of transgenic plants expressing the bacterial enzyme ACC deaminase to accumulate Cd, Co, Cu, Ni, Pb, and Zn. *Journal of Biotechnology* 81: 45–53.
17. Yang X, Feng Y, Hea Z. and Stoffella P. J., (2005) Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and Phytoremediation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*.



Plant Genetic engineering for bioremediation of soils contaminated by heavy metals

Rahmani M.¹, Mokhtarzadeh S.², Derakhshan E.¹, and Abbaszadeh Sh.²

1: M.Sc. Student of Plant Biotechnology, 2: M.Sc. Student of Genetic and Animal Breeding, Natural Resources and Agricultural Sciences University of Ramin, Ahwaz, Iran.

Abstract

Heavy metals and toxic metalloids such as cadmium, lead, mercury, arsenic, selenium, trichloro ethylene and trinitro toluene continual have release to the environment and biosphere has been further polluted to this pollutants. Nowadays, need to cheap, effective and stable methods for remediation and detoxifying of these toxic pollutants. Phytoremediation—the use of green plants to remove, contain or render harmless environmental pollutants—may offer an effective and cheap remediation method and due to plant growth *in situ*, solar-driven system that Compared to the conventional treatment methods, is cheap and environmentally nondestructive. In polluted ecosystems to toxic metals, some of plants can absorb, accumulate, detoxifying and release as gaseous form into environment. However, the remediation potential of many of these plants is limited because of their slow growth, low biomass and susceptible to some of environmental stresses. In recent years, genetic engineering used to modify plants for enhancement metal uptake, transport and higher biomass production of candidate plants. Although plants have the inherent ability to detoxify some xenobiotic pollutants, they generally lack the catabolic pathway for complete degradation/ mineralization of these compounds compared to microorganisms. Hence, transfer of genes involved in xenobiotic degradation from microbes/other eukaryotes to plants will further enhance their potential for remediation of these dangerous groups of compounds.

Key words: Phytoremediation, Transformed plants, Heavy metals, Organic pollutants.