

## غنی‌سازی برنج به روش مهندسی ژنتیک برای مقابله با فقر آهن و روی

حبیب اله عباسی\*

استادیار دانشگاه صنعتی جندی شاپور دزفول، گروه مهندسی شیمی

habbasi@jsu.ac.ir

### چکیده

کم‌خونی ناشی از کمبود آهن و کمبود روی جزو شناخته‌شده‌ترین شکل‌های سوء‌تغذیه ریزمغذی‌ها هستند به طوری که حدود دو میلیارد نفر از جمعیت جهان به نوعی از آن رنج می‌برند. رژیم‌های غذایی بر پایه غلات که قوت غالب بسیاری از مردم را در سراسر جهان تشکیل می‌دهد، منابع ضعیفی از آهن و روی هستند. برنج برای بیش از نیمی از جمعیت جهان به عنوان یک غذای اصلی به حساب می‌آید. روش‌های مختلفی برای غنی‌سازی مواد غذایی پیشنهاد شده‌اند، اما خیلی از آن‌ها به دلایل بیولوژیکی و اقتصادی-اجتماعی کارایی لازم را ندارند. روش‌های مرسوم که برای افزایش دسترسی چنین ریزمغذی‌هایی استفاده می‌شود بیشتر شامل مکمل‌دهی به برخی از غذاها و غنی‌سازی آنهاست. از روش‌های جدیدی که توجه زیادی را به سمت خود جلب کرده است غنی‌سازی زیستی دانه‌های غلات، مانند برنج، به عنوان یک راهبرد امیدوارکننده است. به علت تنوع ژنتیکی پایین ریزمغذی‌ها در ژرم‌پلاسما برنج، روش اصلاح نباتات سنتی به‌تنهایی روش چندان موثری برای غنی‌سازی زیستی برنج نیست. تکنولوژی ژن، چشم‌اندازهایی برای بهبود مؤثر محتوای روی و آهن در دانه‌های برنج ارائه می‌دهد. در این مقاله راهبردهای استفاده شده برای بهبود محتوای آهن و روی در برنج و ژن‌های کنترل‌کننده هموستازهای آن‌ها مورد بررسی قرار می‌گیرند.

**واژه‌های کلیدی:** غنی‌سازی زیستی، برنج، آهن، روی، مهندسی ژنتیک.

## مقدمه

زنان باردار ۳۰ میلی گرم در روز است (۱).

به طور مشابه، روی به عنوان یک کوفاکتور برای بیش از ۳۰۰ آنزیم در انسان، در سنتز و تجزیه کربوهیدرات‌ها، لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک شرکت می‌کند و بنابراین کمبود آن نقش حیاتی برای سلامت انسان دارد. برآورد شده است که ۴۹ درصد از جمعیت جهان در خطر کمبود متوسط تا شدید روی هستند و علائم مختلف کمبود روی شامل عقب ماندگی رشد، تعویق در رشد استخوان، ضایعات پوستی، اسهال و تضعیف سیستم ایمنی بدن است. مصرف روزانه توصیه شده روی در افراد بالغ بین ۷ تا ۱۰ میلی گرم در روز، بسته به سن و جنسیت، تغییر می‌کند. موضوع سلامتی ذکر شده فقط به کمبود آهن و روی محدود نمی‌شود اما سایر ریزمغذی‌ها یک نقش حیاتی در عملکرد عادی بدن ایفا می‌کنند و بنابراین کمبود این ترکیبات می‌تواند منجر به عواقب شدیدی شود (۳). تمرکز اصلی این مقاله با این حال بر

کمبود مواد معدنی و ویتامین‌های مختلف در کنار هم اغلب با عنوان "گرسنگی پنهان" بیان می‌شود که امروزه یکی از جدی‌ترین چالش‌ها برای سلامت جهانی انسان‌هاست. کم‌خونی ناشی از کمبود آهن و روی، در کنار کمبود ویتامین A و کمبود یُد، بین شناخته شده‌ترین شکل‌های سوء تغذیه ریزمغذی‌ها در انسان‌ها قرار دارند (۱).

کمبود سایر مواد مغذی از قبیل فولات، کلسیم، پروتئین و ویتامین‌ها نیز قابل توجه هستند. عواقب جدی شامل عقب ماندگی ذهنی، کاهش عملکرد ایمنی و افزایش مرگ مادر و کودک هنگام تولد می‌تواند ناشی از کمبود آهن باشد (۱) و (۲).

تقریباً دو میلیارد نفر در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه شناسایی شده‌اند که تحت تأثیر کم‌خونی ناشی از کمبود آهن قرار دارند. میزان مصرف آهن توصیه شده برای افراد بالغ در روز برای مردان ۸ میلی گرم، زنان ۱۸ میلی گرم و

## "عباسی، غنی‌سازی برنج به روش مهندسی ژنتیک برای مقابله با فقر آهن و روی"

کمبود آهن و روی و بهبود آن‌ها در دانه برنج است.

برای مبارزه با سوءتغذیه ریزمغذی‌های رژیم‌های غذایی متعادل‌تری موردنیاز است، اما متأسفانه افراد زیادی از مردم سراسر جهان امکان متنوع‌سازی رژیم‌های غذایی خود را به منظور فراهم کردن این تعادل ندارند. چندین روش برای غنی‌سازی مواد غذایی پیشنهاد شده است، اما خیلی از آن‌ها به دلایل بیولوژیکی و اقتصادی-اجتماعی مفید نیستند. آهن یکی از سخت‌ترین مواد معدنی برای غنی‌سازی مواد غذایی است، زیرا ترکیبات آهنی که بسیار محلول هستند و دسترسی زیستی بالایی دارند (مانند فرس سولفات) نامطلوب هستند و اغلب رنگ غیرقابل قبولی را ایجاد می‌کنند و از طرف دیگر ترکیبات کم محلول‌تر، مانند آهن عنصری، جذب ضعیفی دارند (۲).

به نظر می‌رسد کمبودهای مواد مغذی برای انسان با رژیم‌های یکنواخت بر پایه محصولات اساسی شامل غلات و رژیم کم گوشت یا بدون گوشت همراه است. دانه‌های غلات که مهم‌ترین پایه خوراک

انسان را تشکیل می‌دهند در حقیقت منابع ضعیفی از آهن و روی هستند. بیشتر غلات نه تنها از نظر غلظت کلی این عناصر پایین هستند بلکه دارای مواد ضد مغذی مانند اسید فیتیک و فنولیک‌ها هستند که دسترسی زیستی این عناصر را پایین می‌آورد. برای مثال، برنج که برای بیش از نیمی از جمعیت جهان به عنوان یک غذای اصلی به حساب می‌آید در حال حاضر یک منبع ایده‌آل از مواد مغذی ضروری نیست. نشاسته به عنوان یک بخش اصلی در برنج (حدود ۹۰ درصد) با مقدار اندکی ذخیره پروتئین وجود دارد (۴). برنج هنوز هم از نظر محتوای مواد مغذی ضعیف است و این مواد مغذی لایه‌های بیرونی دانه (شامل پوسته، آلئورون و رویان) حضور دارند و بنابراین، هنگام پولیش زنی دانه خارج می‌شوند. در نتیجه، دانه‌های برنج پولیش شده حاوی مقادیر اندکی از ریزمغذی‌ها هستند، برای مثال ۲ میکروگرم آهن در هر گرم اندوسپرم، یافت شده و هیچ ویتامین D و بتاکاروتنی در آن وجود ندارد. در نظر گرفتن حقایق بالا و شدت

گسترش سوء تغذیه ناشی از ریزمغذی‌ها، باعث ظهور غنی‌سازی زیستی دانه‌های غلات، مانند برنج، به عنوان یک راهبرد امیدوارکننده شده است.

### افزایش آهن و روی در برنج از طریق زیست‌فناوری

در چند سال گذشته، راهبردهای متفاوتی برای افزایش آهن و روی در دانه برنج، به ویژه در اندوسپرم مورد استفاده قرار گرفته است. هدف این راهبردها بهبود دریافت آهن و انتقال آن در گیاه، ذخیره در دانه یا افزایش دسترسی زیستی می‌باشد. برای ذخیره آهن در دانه‌های برنج، افزایش بیان پروتئین ذخیره آهن یعنی فریتین، در مطالعات مختلف ارزیابی شده است. فریتین به عنوان یک بافر آهن درون سلولی که می‌تواند تا ۴۵۰۰ مولکول آهن را در شکل محلول و غیر سمی ذخیره کند، فعالیت می‌کند و دسترسی زیستی نیز دارد. یکی از اولین گزارش‌ها در مورد غنی‌سازی زیستی آهن از طریق زیست‌فناوری شامل افزایش بیان فریتین سویا در اندوسپرم برنج بود، که تحت

کنترل پیشبر پروتئین ذخیره‌ای گلوتلین دانه برنج (GluB-1) راه‌اندازی شده است. محتوای آهن دانه‌های تراریخته در مقایسه با نوع غیرتراریخته آن‌ها تا سه برابر افزایش یافت. فریتین در دانه‌های تراریخته بیان شد، نه در برگ‌های آن‌ها، و محتوای آهن در اندوسپرم در مقایسه با رویان بیشتر افزایش یافت، این نشان می‌دهد که افزایش محتوای آهن مختص اندوسپرم بوده است (۵). افزایش بیان فریتین فاسیلوس وولگاریس در برنج تحت کنترل پیشبر گلوتلین منجر به افزایش دو برابری محتوای آهن در دانه‌های برنج تراریخته شد (۶). این نکته نیز قابل توجه است که باوجودی که پیشبر گلوتلین (GluB-1) یک کاندید خوب برای بیان فریتین مخصوص اندوسپرم است اما ممکن است که انتخاب ایده آلی نباشد. مطالعات نشان دادند که پیشبر گلوتلین به شدت در زیر-آلورن و لایه‌های خارجی بافت دانه بیان می‌شود در حالی که بیان هدایت شده توسط پروموتور گلوبولین بیشتر در مرکز اندوسپرم اتفاق می‌افتد و بنابراین بیان

## "عباسی، غنی‌سازی برنج به روش مهندسی ژنتیک برای مقابله با فقر آهن و روی"

دسترسی زیستی آهن و روی از طریق افزایش بیان پروتئین‌های تقویت کننده جذب آهن و روی در انسان یا از طریق حذف ضد مغذی‌هایی مثل اسید فیتیک هدف گذاری شده است.

لوکا و همکارانش گیاهان برنجی را تولید کردند که به ترتیب پروتئین‌های شبه متالوتیونین غنی از سیستئین (Cysteine-Rich Metallothionein-Like Protein) یا ژن‌های فیتاز را افزایش بیان می‌کنند. آن‌ها افزایش حدود ۷ درصدی را در محتوای سیستئین در پروتئین محلول در دانه مشاهده نمودند، اما کارایی زیستی این راهبرد باید مورد آزمایش قرار بگیرد. اگرچه فیتاز از آسپرژیلوس فومیگاتوس به عنوان یک آنزیم گرمادوست شناخته شده است، اما آن‌ها گزارش کردند که فعالیت پروتئین تولید شده در گیاه، در دانه‌های برنج تراریخته هنگام پخت، پایین است.

برای بیان بهینه در دانه‌های غلات، که اغلب نیاز به پختن دارند، نیاز است مناسبی از فیتاز که پایداری حرارتی بیشتری دارند مورد ارزیابی قرار بگیرند

فریتین تحت کنترل پیشبر گلوتلین، هنگام پولیش طولانی مدت دانه برنج، ممکن است به افت آهن ذخیره شده در فریتین منجر شود. در مطالعه‌ای دیگر علاوه بر افزایش محتوای آهن هنگام افزایش بیان فریتین سویا تحت کنترل پیشبر گلوتلین در دانه‌های برنج تراریخته، افزایش محتوای روی را نیز مشاهده شد (۷).

در نظر داشته باشید که سطح بیان فریتین می‌تواند در افزایش بیشتر محتوای آهن اندوسپرم نقش یک گلوگاه را داشته باشد. لاین‌های دابل-فریتین توسط تراریخت‌سازی (ترانسفورماسیون) برنج با فریتین بیان شده تحت دو پیشبر ژن متفاوت ذخیره‌ای دانه تولید شده است. پیشبرهای گلوتلین (GluB-1) و گلوبولین (Glb-1) اگرچه فریتین در لاین‌های دابل-فریتین در مقایسه با لاین‌های تک فریتین ۱۳ برابر بالاتر بیان شد، اما تفاوت معنی‌داری بین محتوای دانه‌های برنج بین لاین‌های دابل فریتین و تک فریتین وجود نداشت (۸). این نشان می‌دهد که تجمع آهن در اندوسپرم از طرف جذب و جابه‌جایی آهن نیز محدود می‌شود. بهبود

(۶). در دهه گذشته، دانش ما در مورد ژن‌هایی که در جذب و جابه‌جایی آهن و روی در گیاهان نقش دارند به میزان معنی‌داری افزایش یافت. با هدف بهبود محتوای آهن دانه، پژوهشگران، برنج را با ژن‌های کلیدی درگیر در جذب و جابه‌جایی آهن تغییر داده‌اند. نقش انتقال‌دهنده‌هایی مانند Iron-IRT1 (Regulated Transporter 1) مورد مطالعه قرار گرفته است و افزایش بیان

OsIRT1 در گیاهان برنج، غلظت‌های آهن و روی را در شاخه‌ها، ریشه‌ها و دانه‌های رسیده افزایش داده و منجر به افزایش تحمل به کمبود آهن و روی در مرحله جوانه‌زنی در گیاهان تراریخته شده است. جدول ۱ خلاصه‌ای از راهبردهای مهم زیست‌فناوری استفاده شده برای افزایش آهن و روی در برنج را نشان می‌دهد (۲).

جدول ۱: افزایش آهن و روی برنج با استفاده از روش‌های زیست‌فناوری (۲).

پیشبر/ژن استفاده شده*	افزایش در محتوای آهن دانه برنج تراریخته در مقایسه با نوع وحشی	افزایش در محتوای روی دانه برنج تراریخته در مقایسه با نوع وحشی
<i>GluB-1/SoyferH-1</i>	سه برابر	گزارش نشده
<i>GluB1/Pvferritin</i>	تا دو برابر	گزارش نشده
<i>GluB-1/SoyferH-1</i>	تا ۳/۷ برابر	تا ۱/۶ برابر
<i>GluB-1/SoyferH-1 + Glb-1/SoyferH-1</i>	تا دو برابر	گزارش نشده
<i>CaMV35S/HvNAS1</i>	۲/۳ برابر	۱/۵ برابر
<i>OsActin1/HvNAS1</i>	۱/۶ برابر	۱/۳ برابر
<i>OsNAS3 with downstream 35S enhancer element</i>	۲/۹ برابر	۲/۲ برابر
<i>Glb-1/Pvferritin + CaMV35S AtNAS1</i>	۶/۳ برابر	۱/۵ برابر
<i>OsSUT1/OsYSL2</i>	تا ۴/۴ برابر	گزارش نشده
<i>CaMV35S/OsNAS</i>	تا ۴/۲ برابر	تا ۲/۲ برابر

\* *GluB-1*: پیشبر پروتئین گولوتلین ذخیره‌ای دانه برنج؛ *SoyferH-1*: ژن فریتین سویا؛ *Pvferritin*: ژن فریتین لوبیا؛ *Glb-1*: پیشبر گلوبولین ذخیره‌ای دانه برنج؛ *HvNAS1*: ژن نیکوتیان‌آمین سنتاز جو؛ *OsActin1*: پیشبر اکتین برنج آسیایی؛ *OsNAS*: ژن نیکوتیان‌آمین سنتاز برنج آسیایی؛ *AtNAS1*: ژن نیکوتیان‌آمین سنتاز آرابیدوپسیس تالیانا؛ *OsYSL2*: yellow stripe-like 2 transporter *Oryza sativa*؛ *OsSUT1*: پیشبر انتقال‌دهنده ساکاروز برنج آسیایی، *CaMV35S*، پیشبر ۳۵S ویروس موزاییک گل‌کلم

با توجه به این که بیشتر وارپته‌های شاخص برنج، که در نهایت لازم است با تکنولوژی تراریختی شوند، دارای حدود ۲ میکروگرم آهن در گرم اندوسپرم هستند، افزایش چهار تا شش برابری برای رسیدن به سطوح قابل توجه در رژیم غذایی کافی نیست. راهبردهای غنی‌سازی زیستی هنوز نیازمند بهینه‌سازی بیشتر هستند و بررسی ترکیب پیشبرها و انتقال‌دهنده‌های گوناگون ممکن است در بالا بردن بیشتر محتوای آهن اندوسپرم مؤثر باشد. اطلاعات در مورد سیستم‌های جذب آهن در برنج و در مورد ژن‌های کلیدی که در بافت‌های متفاوت نقش‌هایی دارند و مراحل توسعه در این مرحله به اصلاح بیشتر اقدامات زیست‌فناوری در آینده کمک خواهد کرد. به دنبال اثبات مفهومی موفقیت‌آمیز در آزمایشگاه، باید عملکرد گیاهان مهندسی ژنتیک شده در مزرعه آزمایش شود و در نهایت به تولید زراعی و مصرف انسانی برسد. ممکن است فرآیندهای قانونی مورد نیاز پیش از ارزیابی و انتشار گیاهان تراریخته زمان‌بر

باشند و بنابراین ممکن است سرعت توسعه و بهره‌برداری آن‌ها کاهش یابد. در بسیاری از کشورها از جمله ایالات متحده، برنامه‌های اصلاح ژنتیکی به نسبت معنی‌داری در حال رشد است، در حالی که این برنامه‌ها در بیشتر کشورهای اروپایی پذیرش نسبتاً پایینی دارند یا این که اصلاً پذیرفته شده نیستند. مادامی که مقررات قانونی مربوط به تحقیق میدانی و انتشار گیاهان اصلاح ژنتیکی شده به منظور اطمینان از ایمنی زیستی سختگیرانه هستند، روش‌های طولانی می‌توانند رسیدن فرآورده مفید را به مصرف‌کننده نیازمند به تأخیر بیندازند. "برنج طلایی"، بهبودیافته برای افزایش پروویتامین A در دانه‌ها، یک مثال است که از اولین گزارشش در سال ۲۰۰۰ با چنین تأخیری مواجه شده است. با این که نشان داده شده است که برنج طلایی می‌تواند یک منبع مؤثر از ویتامین A باشد و مطالعاتی نیز وجود دارد که نشان دهنده پتانسیل این برنج برای کاهش قابل توجه کمبود ویتامین A است، اما این برنج هنوز در دسترس نیست تا بتواند بر مصرف‌کنندگان

### راهبردهای جذب فلزی در گیاهان

جذب آهن در گیاهان می‌تواند به طور گسترده‌ای در دو راهبرد کاهنده (راهبرد ۱) و چنگالی‌کننده (راهبرد ۲) دسته‌بندی شود که راهبرد ۱ برای غیر علفی‌ها و راهبرد ۲ برای علفی‌ها هستند. راهبرد کاهنده شامل القای سه پاسخ در غشاء پلاسمای سلول‌های ریشه می‌باشد (۱۰). راهبرد دوم، که اصولاً توسط علفی‌ها استفاده می‌شود، شامل چهار مرحله اصلی است که عبارتند از ۱- بیوسنتز فیتوسیدروفورهای خانواده اسید موگنیک، ۲- انتشار فیتوسیدروفورها در ریشه‌گاه یا ریزوسفر، ۳- محلول شدن آهن و ۴- انتقال فیتوسیدروفورهای فریک به گیاه (۱۱). در حال حاضر مسیر زیست‌ساخت فیتوسیدروفورهای خانواده اسید موگنیک به خوبی مورد مطالعه قرار گرفته است. اس-آدنوزیل متیونین سنتاز ((S-adenosylmethionine)، نیکوتیان‌آمین سنتاز، نیکوتیان‌آمین آمینوترانسفراز و دی‌اکسی موگنیک اسید سنتاز، ژن‌های کلیدی درگیر در سنتز فیتوسیدروفورهای متیونین هستند.

برنج تأثیر بگذارد. اخیراً برنج طلایی در برنامه‌های کشت کشورهایمانند فیلیپین، هند، اندونزی و ویتنام جا داده شده است و انتظار می‌رود که به زودی به کشاورزان فیلیپین برسد (۹). بنابراین ضروری است که آگاهی عمومی در مورد مزایای بالقوه و خطرات تکنولوژی بالا برود، به طوری که یک اظهارنظر منطقی می‌تواند فرآیند مقررات زدایی را هدایت کند.

### مکانیسم‌های مولکولی مرتبط با جذب و

#### جابه‌جایی آهن در گیاه

غنی‌سازی زیستی آهن و روی به شدت بر اطلاعات ژن‌های وابسته به اکتساب فلزی در گیاهان وابسته است. تحقیقات در این زمینه به منظور کمک به ژن‌های کاندید، ادامه دارد که بیان تکی و ترکیبی می‌تواند به طور بالقوه با توجه به افزایش غلظت‌های آهن و روی در دانه‌های برنج ارزیابی شود. ژن‌ها و مکانیسم‌های درگیر در جذب و جابه‌جایی آهن و روی جدول ۲ خلاصه شده است (۲).



جدول ۲: ژن‌های درگیر در هموستازی آهن و روی در برنج (۲).

فرآیند درگیر	ژن	نقش	الگوی بیان
جذب آهن راهبردها در گیاهان			
راهبرد کاهشی (راهبرد ۱)	<i>OsIRT1</i> , <i>OsIRT2</i> (انتقال‌دهنده‌های تنظیم‌کننده آهن در برنج آسیایی)	انتقال‌دهنده فرس	به‌طور اختصاصی در گیاهان دارای کمبود آهن تنظیم افزایشی (افزایش بیان) می‌شود. تحت شرایط کمبود آهن، رونوشت‌های <i>OsNAS1</i> , <i>OsNAS2</i> به شدت در ریشه‌ها و برگ‌ها تحریک می‌شوند، در حالی که <i>OsNAS3</i> در ریشه‌ها تحریک می‌شود اما در برگ‌ها سرکوب می‌شود. <i>OsNAS3</i> تحت شرایط کمبود روی در ریشه‌ها و ساقه‌ها افزایشی (افزایش بیان) می‌شود.
راهبرد چنگالی‌کننده (راهبرد ۲)	<i>OsNAS1</i> , <i>OsNAS2</i> , <i>OsNAS3</i> (ژن‌های نیکوتیان‌آمین سنتاز برنج آسیایی)	سنتز فیتوسیدروفورها	تحت شرایط کمبود آهن به شدت در ریشه‌ها و ساقه‌ها تحریک می‌شود. تنظیم افزایشی (افزایش بیان) در ریشه‌ها و ساقه‌ها تحت شرایط کمبود آهن
	<i>OsNAAT1</i> (آمینوترانسفر نیکوتیان‌آمین برنج آسیایی)	سنتز فیتوسیدروفورها	تحت شرایط کمبود آهن به شدت در ریشه‌ها و ساقه‌ها تحریک می‌شود.
	<i>OsDMASI</i> (سنتاز دی‌آکسی‌موگنیک اسید برنج آسیایی)	سنتز فیتوسیدروفورها	تحت شرایط کمبود آهن به شدت در ریشه‌ها و ساقه‌ها تحریک می‌شود.
	<i>OsYSL15</i> (ژن شبه راه‌راه زرد رنگ برنج آسیایی)	جذب کمپلکس‌های فیتوسیدروفورهای فریک	تحت شرایط کمبود آهن به شدت در سلول‌های روپوستی یا اپیدرمی ریشه بیان می‌شود.
	<i>OsZIP1</i> , <i>OsZIP3</i> , <i>OsZIP4</i> , <i>OsZIP5</i> (انتقال‌دهنده تنظیم روی در برنج آسیایی، خانواده شبه پروتئین انتقال‌دهنده تنظیم آهن برنج آسیایی)	انتقال‌دهنده‌های روی	تحت شرایط کمبود در ریشه‌ها و ساقه‌ها به میزان بالایی بیان می‌شود.
انتقال‌دهنده فلز درون سلولی و بین سلولی	<i>OsFRDL1</i> (ژن فریک ردوکتاز defective 3-like برنج آسیایی)	انتقال‌دهنده سترات آهن از ریشه‌های برنج به ساقه‌ها انتقال‌دهنده‌های نیکوتیان‌آمین فلزی، درگیر در جابه‌جایی آهن از بافت آبکش و جایگذاری آن در دانه	متمرکز شده در سلول‌های پری‌سایکل (Pericycle) ریشه
	<i>OsYSL2</i> (ژن yellow stripe-like gene برنج آسیایی)	نیکوتیان‌آمین فلزی، درگیر در جابه‌جایی آهن از بافت آبکش و جایگذاری آن در دانه	بیان مخصوص در بافت آبکش
	<i>OsMIR</i> (ژن تنظیم‌کننده آهن در میتوکندری برنج آسیایی)	تنظیم هموستازی آهن در میتوکندری	بیان ژن القای کمبود آهن در ریشه‌ها و ساقه‌ها

عوامل رونویسی که به طور مستقیم با کمبود آهن تعامل دارد.	ژن‌های درگیر در هموستازی آهن را تنظیم می‌کند.	<i>OsIDEF2, OsIDEF1</i>	عوامل رونویسی درگیر در هموستازی فلز
Iron-deficiency- inducible basic helix-loop-helix transcription factor	در زمان کمبود آهن به شدت در ریشه‌ها و ساقه‌ها بیان می‌شود.	<i>OsIRO2</i>	

طور اختصاصی در گیاهانی که کمبود آهن دارند تنظیم افزایشی (افزایش بیان) هستند. در هر حال، ظاهراً برنج نمی‌تواند کاهش فریک را، به صورتی که در گیاهان راهبرد اول صورت می‌گیرد، به انجام برساند.

مکانیسم‌های مولکولی برای جذب روی در مقایسه با آهن به خوبی شناخته نشده‌اند. در نظر گرفته می‌شد که ریشه‌های گیاهان چمنی (Graminaceous) در درجه اول یون‌های روی چنگالی نشده را جذب می‌کند؛ با این حال، نشان داده شده است که فیتوسیدروفورها که در جذب و انتقال روی نقش دارند (۱۴). جذب و هموستازی روی و آهن به شدت به هم مرتبط هستند به صورتی که توسط اعضای خانواده پروتئین‌های انتقال‌دهنده تنظیم‌کننده آهن و روی (ZIP) کنترل می‌

در برنج هجده ژن *YSL* تعریف شده است و نشان داده است از میان آن‌ها *OsYSL15* نقش بالقوه‌ای در جذب کمپلکس‌های فیتوسیدروفورهای فریک دارد؛ زیرا این ژن تحت شرایط کمبود آهن به شدت در سلول‌های اپیدرمی ریشه برنج بیان می‌شود (۱۲). بر خلاف سایر علفی‌ها، برنج یک سیستم جذب آهن مؤثر را دارا می‌باشد. چنگ و همکارانش (۱۳) نشان دادند که گیاهان برنج حامل یک جهش در ژن *NAAT* هستند و بنابراین نمی‌توانند فیتوسیدروفورها را سنتز کنند و اگر آهن خارجی به صورت فروس تأمین شود، نقص در رشد را نشان نمی‌دهند اما اگر به صورت فریک در اختیار گیاه قرار داده شود نقص رشدی شدیدی را نشان می‌دهند. *OsIRT1* و *OsIRT2*، هومولوگ‌های برنج از انتقال‌دهنده تنظیم‌کننده آهن *IRT1*، به

شود. ویرث و همکارانش (۱۵) مشاهده کردند هنگامی که ذخیره آهن خارجی در برنج افزایش می‌یابد، محتوای روی در برگ‌های برنج کاهش می‌یابد، این ایده که آهن و روی ممکن است برای انتقال در گیاهان با یکدیگر رقابت نمایند بیشتر مورد تأیید قرار گرفته است. بین ژن‌های ZIP برنج، *OsZIP1*، *OsZIP3*، *OsZIP4* و *OsZIP5* تحت شرایط کمبود روی تحریک می‌شوند و بنابراین به عنوان انتقال‌دهنده‌های روی شناخته می‌شوند (۱۶).

### انتقال درون سلولی و بین سلولی فلزات در گیاهان

مطالعات اخیر اطلاعات بیشتری در مورد ژن‌های درگیر در انتقال فلزی درون سلولی و بین سلولی فراهم کرده‌اند. برای فواصل جابه‌جایی طولانی، سیترات به عنوان عامل چنگالی‌کننده اصلی در نظر گرفته می‌شود. *FRD3* (Ferric Reductase Defective 3) یک عضو از خانواده MATE (Multidrug and Toxin Efflux)،

سیترات را درون مویرگ‌های ریشه آراییدوپسیس منتشر می‌سازد و برای انتقال آهن به ساقه اهمیت دارد. در برنج، یک ژن شبه *FDR3*، *OsFRDL1*، که در سلول‌های پری‌سایکل ریشه متمرکز می‌شود، در جابه‌جایی آهن-سیترات از ریشه‌های برنج به ساقه‌ها درگیر است. علاوه بر این، در آراییدوپسیس، دو انتقال‌دهنده (IREG1/FPN1 و IREG2/FPN2) از خانواده فروپورتین (Ferroportin) شناسایی شده‌اند. IREG1/FPN1 در بارگذاری عروقی عمل می‌کند، در حالی که IREG2/FPN2 در بافر کردن جریان فلزی نقش دارد. اساساً جایگیری روی در بافت چوبی بر انتقال‌دهنده‌های *HAM2* (ATPase 2) فلز سنگین) و *HMA4* (ATPase4) فلز سنگین)، که در بافت‌های عروقی ریشه‌ها، ساقه‌ها و برگ‌ها بیان می‌شود، تکیه دارد (۲).

شناخت نسبتاً کمی در مورد انتقال فلزی درون سلولی، شامل واکوئل‌ها، کلروپلاست‌ها و میتوکندری، وجود دارد. واکوئل‌ها به عنوان یک بخش سلولی

است، برای دریافت آهن کلروپلاست ضروری است. ژن تنظیم کننده آهن در میتوکندری (*MIR*)، یک تحریک کننده کمبود آهن مختص به برنج، نیز شناسایی شده است. گیاهان دارای *MIR* بیان ژن تحریک کننده کمبود آهن را در ریشه ها و ساقه ها حتی در زمانی که برنج تحت شرایط مناسب آهن رشد می کند، افزایش می دهند (۲).

### نتیجه گیری نهایی

شواهدی از مثال های مختلف غنی سازی زیستی، شامل برنج با محتوای بالای ویتامین A (برنج طلایی)، برنج با میزان فولات بالا و برنج با محتوای آهن بالا، وجود دارد که در آنها ترکیب درست ژن های هدف برای بهبود موفقیت آمیز ترکیب ریزمغذی ها در دانه های برنج ضروری است. دانش افزایش یافته در مورد ژن های درگیر در جذب آهن و روی از خاک و جابه جایی آنها درون گیاه، پیوسته به طراحی بهتر راهبردهای غنی سازی زیستی هدفمند برای افزایش این مواد مغذی کمک می کند. اطلاعات بیشتر

ضروری برای ذخیره فلز عمل می کنند و *VIT1* (انتقال دهنده واکوئلی آهن) موجود در غشای واکوئل، تجزیه آهن در واکوئل ها را کنترل می کند. پیشنهاد شده است که در طول جوانه زنی دانه، انتقال دهنده های خانواده پروتئینی ماکروفاژها (*NRAMP*)، برای حرکت آهن جهت خروج از واکوئل ضروری هستند (۱۷). *AtNRAMP3* و *AtNRAMP4* در شرایط کمبود آهن تحریک می شوند و در طول رشد اولیه، منابع آهن واکوئلی را در آرابیدوپسیس به حرکت در می آورند. هموستاز روی در آرابیدوپسیس توسط بیان *AtMTP1* (Metal Tolerance Protein1) مستقر روی غشای واکوئلی و *AtMTP3* (Metal Tolerance Protein3)، متعلق به خانواده پروتئین های *CDF* (Cation Diffusion Facilitator یا تسهیل کننده های نفوذ کاتیونی)، تحت تأثیر قرار می گیرد (۱۸). نشان داده شده است که *P1C1* (Permease in Chloroplasts1) در انتقال آهن کلروپلاست مشارکت دارد. علاوه بر این، *FRO7* که در کلروپلاست متمرکز

## "عباسی، غنی‌سازی برنج به روش مهندسی ژنتیک برای مقابله با فقر آهن و روی"

ارقامی نیازمند آزمایش‌های میدانی و تغذیه‌ای است و بنابراین، آگاهی و فهم عمومی در مورد این پیشرفت‌های علمی ضروری است. فرآیندهای نظارتی نیز از نظر کاربردهای عملی و استفاده از دستاوردهای غنی‌سازی زیستی محصولات کشاورزی، نیازمند انطباق هستند. در صورت موفقیت، غنی‌سازی زیستی برنج، پتانسیل این را دارد که سهم معنی‌داری را در بهبود سلامت و رفاه مردم دچار سوءتغذیه در سراسر جهان داشته باشد.

در مورد انتقال فلزات درون سلولی، اجازه خواهد داد تا مواد مغذی در بافت‌های خاصی، برای مثال دانه‌ها، افزایش داده شود. برای غنی‌سازی زیستی آهن و روی، تلاش‌های بیشتر باید این راهبرد را به ارقام شاخص برنج که به طور وسیع کشت شده‌اند انتقال دهد و تحقیقات آینده نیز باید روی ترکیب ویژگی‌های مختلف به لاین‌های برنج تمرکز کنند. همه این‌ها باید بدون تغییر در کارایی کشاورزی و کیفیت پخت برنج اصلاح شده قابل دست‌یابی باشند. استفاده از چنین

### References

1. World Health Organization (WHO). (2011). Micronutrient deficiencies: iron deficiency anemia. Available at <http://www.who.int/nutrition/topics/ida/en/index.html>. Assessed June 27.
2. Victor R. Preedy, Rajaventhana Srirajaskanthan and Vinood B. Patel, (2013). Handbook of Food Fortification and Health. Humana Press, New York, NY. 293-305. Bhullar, N.K., Boonyaves, K., Wang, M. and Sautter, C. 2013. Iron and zinc enhancement in rice endosperm by targeted and synergistic action of genes. Humana Press, New York, USA.
3. Tauris B., Borg S., Gregersen P.L. and Holm P.B. (2009). A roadmap for zinc

### فهرست منابع

- trafficking in the developing barley grain based on laser capture microdissection and gene expression profiling. *Journal of experimental botany*. 60(4), 1333-1347.
4. Kennedy G., Burlingame B. and Nguyen V.N. (2003). Nutritional contribution of rice and impact of biotechnology and biodiversity in rice-consuming countries.
  5. Goto F., Yoshihara T., Shigemoto N., Toki S. and Takaiwa F. (1999). Iron fortification of rice seed by the soybean ferritin gene. *Nature Biotechnology*. 17(3), 282.
  6. Lucca P., Hurrell R. and Potrykus I. (2001). Genetic engineering approaches to improve the bioavailability and the level of iron in rice grains. *Theoretical and Applied Genetics*. 102(2-3): 392-397.
  7. Vasconcelos M., Datta K., Oliva N., Khalekuzzaman M., Torrizo L., Krishnan S., Oliveira M., Goto F. and Datta S.K. (2003). Enhanced iron and zinc accumulation in transgenic rice with the ferritin gene. *Plant Science*. 164(3), 371-378.
  8. Qu L.Q., Yoshihara T., Ooyama A., Goto F. and Takaiwa F. (2005). Iron accumulation does not parallel the high expression level of ferritin in transgenic rice seeds. *Planta*. 222(2), 225-233.
  9. Stein A.J., Sachdev H. and Qaim M. (2008). Genetic engineering for the poor: Golden Rice and public health in India. *World Development*. 36(1): 144-158.
  10. Korshunova Y.O., Eide D., Clark W.G., Guerinot M.L. and Pakrasi H.B. (1999). The IRT1 protein from *Arabidopsis thaliana* is a metal transporter with a broad substrate range. *Plant molecular biology*. 40(1), 37-44.
  11. Palmer C.M. and M.L. (2009). Guerinot, facing the challenges of Cu, Fe and Zn homeostasis in plants. *Nature chemical biology*. 5(5): 333-340.
  12. Inoue H., Kobayashi T., Nozoye T., Takahashi M., Kakei Y., Suzuki K., Nakazono M., Nakanishi H., Mori S. and Nishizawa N.K. (2009). Rice OsYSL15 is an iron-regulated iron (III)-deoxymugineic acid transporter expressed in the roots and is essential for iron uptake in early growth of the seedlings. *Journal of Biological Chemistry*. 284(6), 3470-3479.
  13. Cheng L., Wang F., Shou H., Huang F., Zheng L., He F., Li J., Zhao F.J., Ueno D., Ma J.F. and Wu P. (2007). Mutation in nicotianamine aminotransferase stimulated the Fe (II) acquisition system and led to iron accumulation in rice. *Plant physiology*. 145(4), 1647-1657.
  14. Schaaf G., Ludewig U., Erenoglu B.E., Mori S., Kitahara T. and von Wirén N. (2004). ZmYS1 functions as a proton-coupled symporter for phytosiderophore-and nicotianamine-chelated metals. *Journal of Biological Chemistry*. 279(10), 9091-9096.
  15. Wirth J., Poletti S., Aeschlimann B., Yakandawala N., Drosse B., Osorio S.,

"عباسی، غنی‌سازی برنج به روش مهندسی ژنتیک برای مقابله با فقر آهن و روی"

Tohge T., Fernie A.R., Günther D., Grissem W. and Sautter C. (2009). Rice endosperm iron biofortification by targeted and synergistic action of nicotianamine synthase and ferritin. *Plant Biotechnology Journal*. 7(7), 631-644.

16. Lee S., Jeong H.J., Kim S.A., Lee J., Guerinot M.L. and An G. (2010). OsZIP5 is a plasma membrane zinc transporter in rice. *Plant molecular biology*. 73(4-5), 507-517.

17. Conte S.S. and E.L. Walker. (2011). Transporters contributing to iron trafficking in plants. *Molecular Plant*. 4(3): p. 464-476.

18. Arrivault S., Senger T. and Krämer U. (2006). The Arabidopsis metal tolerance protein AtMTP3 maintains metal homeostasis by mediating Zn exclusion from the shoot under Fe deficiency and Zn oversupply. *The Plant Journal*. 46(5): 861-879.

## **Rice Enrichment by Genetic Engineering for Combating Iron and Zinc Deficiency**

**Habib Abbasi**

Assistant Professor, Department of Chemical Engineering, Jundi-Shapur University of Technology, Dezful, Iran.

habbasi@jsu.ac.ir

### **Abstract:**

Iron deficiency anemia and zinc deficiency are among the most recognized forms of micronutrient malnutrition and about two billion of people around the world suffer from it. Monotonous diets based on staple cereals are in fact a poor source of iron and zinc. Rice is a staple food for more than half of the world's population. Various methods have been proposed for food enrichment, but many of them are not effective for biological and socio-economic reasons. Conventional methods used to increase the availability of such micronutrients mainly include supplementing certain foods and enriching them. One of the new methods that has attracted a lot of attention is biofortification of cereal grains, such as rice, has therefore emerged as a promising strategy. Traditional breeding alone is not a valid option for rice biofortification in many circumstances, owing to low genetic variability of micronutrients in the rice germplasm. Gene technology offers perspectives for efficiently improving iron and zinc content in rice grain. In this paper the biotechnology strategies used in order to improve rice for iron and zinc content and the genes controlling iron and zinc homeostasis are reviewed.

**Keywords:** Biofortification, Rice, Iron, Zinc, Genetic Engineering