



Available online: <https://ijhe.tums.ac.ir>

مقاله مرور ساختاریافته

## مروری بر کاربرد ریشه‌های مویین در حذف ترکیبات فنلی از محلول‌های آبی

طاهره ابراهیمی<sup>۱</sup>، خسرو پیری<sup>۱\*</sup>، اصغر عبدلی<sup>۱</sup>، مسعود توحیدفرا<sup>۲</sup>

- ۱- گروه تنوع زیستی و مدیریت اکوسیستم‌ها، پژوهشکده علوم محیطی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران  
۲- گروه زیست شناسی سلولی-مولکولی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

### چکیده

### اطلاعات مقاله:

**زمینه و هدف:** گسترش صنایع آلوده کننده، ترکیبات خطرناکی نظیر فنل‌ها را به محیط وارد می‌کند. اخیراً روش‌های نظیر کشت ریشه‌های مویین جهت حذف این ترکیبات سمی مورد توجه قرار گرفته است. هدف از این مطالعه مروری، بررسی استفاده از ریشه‌های مویین برای جذب آلاینده‌های فنل و پارامترهای تأثیرگذار بر روی جذب این آلاینده‌ها توسط ریشه‌ها است. **روش بررسی:** این مطالعه به روش مروری-توصیفی بر روی مطالعات انجام شده در مورد پالایش ترکیبات فنل توسط ریشه‌های مویین بر مبنای مرور مقالات موجود در پایگاه داده‌های Science Direct، PubMed، Google Scholar و کلیدواژه‌هایی مانند Phytoremediation، Transgenic roots، Phenol، Hairy root جمع‌آوری گردید.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۰۶  
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۲/۲۳  
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۲۷  
تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۰۳/۲۹

**یافته‌ها:** ریشه‌های مویین در حذف آلاینده فنل بسیار موفق عمل کردند که علت آن وجود آنزیم‌های پراکسیداز است که به مقدار زیاد توسط ریشه‌های مویین تولید می‌شود. بر طبق مطالعات صورت گرفته، گیاهانی نظیر کلزا (*Brassica napus*) و دیگر گیاهان به دلیل داشتن مقدار زیادی آنزیم‌های پراکسیداز دارای کارایی بالایی در حذف آلودگی فنل تا غلظت  $500 \text{ mg/L}$  در حضور هیدروژن پراکسید ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) و در محدوده وسیعی از pH (۴-۹) هستند. **نتیجه‌گیری:** با توجه به مطالعات انجام شده در زمینه استفاده از ریشه‌های مویین برای حذف آلودگی فنل، می‌توان نتیجه گرفت که ریشه‌های مویین قدرت جذب قابل توجهی برای فنل دارند. با این حال، مطالعات نشان می‌دهد که عوامل مختلفی مانند غلظت فنل، زمان تماس، pH و دما می‌توانند بر عملکرد جذب ریشه‌های مویین تأثیر بگذارند. بنابراین نیاز به تحقیقات بیشتر در زمینه بهینه‌سازی شرایط برای حذف آلودگی فنل وجود دارد.

**واژگان کلیدی:** ریشه‌های مویین، ترکیبات فنل، گیاه پالایی

پست الکترونیکی نویسنده مسئول:

p\_khosro@sbu.ac.ir

Please cite this article as: Ebrahimi T, Piri Kh, Abdoli A, Tohidfar M. A review on the application of hairy roots in removing phenolic compounds from aqueous solutions. Iranian Journal of Health and Environment. 2023;16(1):175-94.



## مقدمه

فنل یکی از هیدروکربن‌های آروماتیک سمی است که در حالت خالص بی‌رنگ یا جامد سفید است. ترکیبات آروماتیک در پساب‌های صنعتی ناشی از فرآوری ذغال سنگ، کوره‌های کک، پالایشگاه‌های نفتی، ساخت رزین‌ها، علف‌کش‌ها، سموم دفع آفات، ضدعفونی کننده‌ها، صنایع کاغذ، چوب، فلز و پلاستیک یافت می‌شوند (۱). فنل‌ها به دلیل سمیت و مقاومت در برابر تجزیه زیستی به عنوان یکی از گروه‌های اصلی آلاینده‌های خطرناک طبقه‌بندی می‌شوند. علاوه بر سمیت آن، فنل در آب بسیار محلول است و می‌تواند بو و طعم بد را به غذا و آب آشامیدنی منتقل و آن را برای استفاده نامناسب کند (۲). فنل همچنین در صورت راهیابی به اکوسیستم‌های آبی باعث مسمومیت آبزیان خواهد شد. بنابراین از دیدگاه محیط زیستی نیز حائز اهمیت است. حداکثر غلظت مجاز برای مصارف کشاورزی و آبیاری در ایران برابر  $1 \text{ mg/L}$  است و جهت مصارف آشامیدنی، حداکثر غلظت مجاز فنل بر طبق دستورالعمل سازمان بهداشت جهانی  $0.001 \text{ mg/L}$  در نظر گرفته شده است (۳). لذا به دلیل خطراتی که بر روی سلامتی انسان و محیط دارد، فنل جزء آلاینده‌های اولویت‌دار است و ارائه راهکارهایی جهت حذف این آلاینده ضروری است. فرایندهای متداول حذف ترکیبات فنلی شامل اکسیداسیون شیمیایی، اسمز معکوس، جذب روی جاذب‌ها (مانند کربن فعال)، انعقاد، تبادل یونی، تثبیت به وسیله غشای میکروبی، فرایندهای غشایی مانند اولترافیلتراسیون و روش‌های الکتروشیمیایی هستند (۴). اگرچه هر یک از این روش‌ها دارای عملکرد خوبی در زمینه تصفیه فنل از پساب داشته‌اند ولی مشکلی که این روش‌ها دارند: نیاز به استفاده از تجهیزات زیاد، انرژی بالا، هزینه زیاد و تولید آلودگی ثانویه و سمی است (۵). لذا این امر باعث شده است تا محققان به دنبال یافتن تکنولوژی‌هایی جدید در حوزه بیولوژی همچون بیوتکنولوژی باشند که در عین حال که

روشی موثر برای جذب آلاینده است، نسبت به روش‌های معمول فیزیکی و شیمیایی هزینه کمتر و نیز تولید آلاینده ثانویه کمتری داشته باشند. تصفیه آلاینده‌ها با استفاده از گیاهان برای پاکسازی محیط‌های آلوده، یک فناوری سبز و سازگار با محیط زیست است که در رابطه با روش‌های معمول حذف آلودگی اهمیت پیدا کرده است. گیاه‌پالایی اگرچه ابتدا برای حذف آلاینده‌های غیرآلی استفاده می‌شد، اما به تدریج برای تصفیه آلاینده‌های آلی نظیر فنل‌ها نیز مورد استفاده قرار گرفت. از آن زمان، توسعه ژنومیک، پروتئومیکس و متابولومیکس به افزایش یا دستکاری متابولیسم گیاهان در بسیاری از آلاینده‌ها کمک کرده است، و تلاش‌های قابل توجهی توسط دانشمندان و متخصصان محیط زیست در حال انجام است تا فن‌آوری‌های عملیاتی برای گیاه‌پالایی را توسعه دهند. با این حال، توانایی استفاده از پتانسیل گیاهان برای اصلاح محیط زیست اغلب با درک محدود از مسیرهای متابولیکی گیاه، طیف گسترده‌ای از آنزیم‌های درگیر و مکانیسم‌های تحمل محدود می‌شود (۶). در این راستا ریشه‌های موبین اغلب در تحقیقات گیاه‌پالایی به عنوان سیستم‌های مدل گیاهی استفاده می‌شوند، زیرا آنها امکان بررسی توانایی‌های متابولیک ذاتی سلول‌های گیاهی و ظرفیت سلول‌های گیاهی برای تحمل سمیت را دارند (۷).

اگرچه تحقیقات صورت گرفته بر روی ریشه‌های موبین بیشتر در زمینه تولید و تقویت متابولیت‌های ثانویه بوده است؛ اما در چند سال گذشته تحقیقات بر روی استفاده از ریشه‌های موبین برای درک مکانیسم‌های فرایند گیاه‌پالایی در حال افزایش است. در ایران بررسی‌های صورت گرفته بیشتر براساس گیاه‌پالایی بدون استفاده از ریشه‌های موبین آنها بوده و در زمینه تولید ریشه‌های موبین و استفاده از آنها در پالایش ترکیبات آلاینده مطالعات اندکی صورت گرفته است. مقاله حاضر اولین مطالعه‌ای است که در ایران به بررسی استفاده از ریشه‌های موبین برای حذف فنل با

برای اهداف گیاه‌پالایی فنل و حذف توسط ریشه‌های مویین بررسی کنند. گنجاندن انواع گونه‌های گیاهی می‌تواند به درک اثربخشی، مکانیسم‌ها و محدودیت‌های آنها در گیاه‌پالایی کمک کند. ۵- نتایج و اندازه‌گیری‌ها: مقالات باید داده‌های کمی یا کیفی مربوط به عملکرد و کارایی تکنیک‌های گیاه‌پالایی و ریشه‌های مویین را گزارش کنند که می‌تواند شامل اندازه‌گیری غلظت آلاینده قبل و بعد از درمان، پارامترهای رشد گیاه، جذب آلاینده، جابجایی، تبدیل یا سایر شاخص‌های مرتبط به اثربخشی تکنیک باشد.

#### – استخراج داده‌ها

یک فرم استاندارد استخراج داده ایجاد شد که شامل اطلاعاتی در مورد گونه‌های گیاهی مورد استفاده، پارامترهای اثر بخشی و تنظیمات آزمایشی بود. دو مرورگر مستقل داده‌های مربوطه را از هر مطالعه استخراج کردند.

#### – ترکیب داده‌ها

یافته‌های حاصل از مطالعات وارد شده به صورت کیفی برای شناسایی روندها و اشتراکات در رویکردهای گیاه‌پالایی و اثربخشی آنها سنتز شد. یک تجزیه و تحلیل موضوعی برای دسته‌بندی مطالعات براساس گونه‌های گیاهی مورد استفاده و مکانیسم‌های اصلاحی به کار گرفته شده، انجام شد. درنهایت برای تحلیل آماری داده‌ها و رسم نمودارها از SPSS ورژن ۲۵ استفاده گردید.

### یافته‌ها

در کل با تمرکز بر روی مقالات مرتبط با گیاه‌پالایی فنل و ریشه‌های مویین برای حذف فنل تعداد ۱۰ مقاله بر روی گیاه‌پالایی فنل و تعداد ۱۱ مقاله بر استفاده از ریشه‌های مویین برای حذف فنل یافت شد و تمام آنها بررسی گردید. در جدول ۱ نام مقالات، سال انتشار و خلاصه نتایج مطالعات بر روی گیاه‌پالایی فنل ارائه شده است.

مروری بر مطالعات صورت گرفته پرداخته و نکات مهم و تاثیرگذار در فرایند حذف توسط ریشه‌ها را گزارش می‌دهد. این تحقیق می‌تواند مورد توجه محققان در زمینه برنامه‌های تصفیه فاضلاب و حفظ منابع آب قرار گیرد. لذا هدف از این مطالعه مروری، بررسی استفاده از ریشه‌های مویین برای جذب آلاینده‌های سمی فنل و پارامترهای تاثیرگذار بر روی جذب این آلاینده‌ها توسط ریشه‌ها است.

### مواد و روش‌ها

#### – روش تحقیق

این مطالعه به روش مروری-توصیفی بر روی مطالعات انجام شده در مورد پالایش فنل توسط ریشه‌های مویین بر مبنای مرور مقالات موجود جمع‌آوری گردید. برای این کار مقالات معتبر به چاپ رسیده در مجلات بین‌المللی که در بین سال‌های ۲۰۰۰ تا ۲۰۲۳ میلادی به چاپ رسیده بودند در پایگاه داده‌های Science Direct، PubMed و Google Scholar مورد بررسی قرار گرفتند. استراتژی جستجو شامل کلید واژه‌هایی مانند Hairy root، Phytoremediation، Transgenic root، Phenol با عملگرهای بولی (مانند، OR، AND) بود.

#### – معیارهای ورود

معیارهای ورود به مطالعه شامل: ۱- مرتبط بودن با موضوع: مقالات باید با ریشه‌های مویین برای پالایش آلودگی فنل مرتبط باشند، به این معنا که باید به استفاده از ریشه‌های مویین برای حذف آلاینده فنل همخوانی داشته باشد. ۲- شرایط محیطی: مقالات باید مطالعات انجام شده در شرایط محیطی منابع آب را در نظر بگیرند. ۳- تکنیک‌های گیاه‌پالایی و ریشه‌های مویین برای حذف فنل: مقاله‌ها باید کاربرد تکنیک‌های گیاه‌پالایی و ریشه‌های مویین را برای حذف آلاینده فنل شرح دهند. ۴- گونه‌های گیاهی: مقالات باید استفاده از گونه‌های گیاهی خاص یا جوامع گیاهی را

جدول ۱- مطالعات صورت گرفته در خصوص حذف ترکیبات فنلی با استفاده از گیاه‌پالایی

منبع	خلاصه	سال انتشار	عنوان مقاله
(۸)	گیاه سورگوم و کلزا قادر به جذب فنل در غلظت ۱۰ mg/L به ترتیب با کارایی ۹۹/۱ و ۹۲/۴ درصد بودند.	۲۰۱۶	بررسی میزان جذب فنل از محلول‌های آبی توسط سورگوم (sorghum) و کلزا (canola) و تعیین ایزوترم‌ها و سینتیک‌های جذب.
(۹)	گیاه می‌تواند برای تجزیه فنل در آب مناسب باشد.	۲۰۱۹	گیاه نی ( <i>Phragmites australis</i> ) - یک چمن هلوفیت - می‌تواند مشارکت موفقیت آمیزی با باکتری‌های تخریب کننده فنل در یک تالاب شناور ایجاد کند.
(۱۰)	گیاه مکانیسم‌های حفاظتی کارآمدی در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از فنل دارد.	۲۰۱۵	گیاه‌پالایی فنل با استفاده از گیاه هفت بند ( <i>Polygonum orientale</i> ) و پاسخ آنتی اکسیدانی آن.
(۱۱)	کشت سوسپانسیون گیاه تنباکو در محلول فنل باعث تولید متابولیت‌هایی نظیر ترکیبات مالونیل-گلوکوزید DCP-(6-O-malonyl)- (glucoside) شد.	۲۰۰۷	سرنوشت متابولیک ۲ و ۴-دی کلروفنل در کشت‌های سوسپانسیون سلولی تنباکو.
(۱۲)	نتایج نشان داد که ماشک یک مکانیسم حفاظتی کارآمد در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از فنل دارد.	۲۰۱۲	گیاه‌پالایی فنل با استفاده از گیاه ماشک ( <i>Vicia sativa</i> ) و پاسخ آنتی اکسیدانی آن.
(۱۳)	گیاه هیدریلا فنل را در محلول‌هایی با غلظت اولیه کمتر از ۲۰۰ mg/L تجزیه می‌کند.	۲۰۲۰	گیاه‌پالایی فنل توسط گیاه هیدریلا ( <i>Hydrilla verticillata</i> ) و اثرات مرتبط با آن بر پارامترهای فیزیولوژیکی مجله مواد خطرناک
(۱۴)	حداکثر حذف فنل‌ها در بافرهای ۶- pH ۵ و در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد در حضور ۰/۷۵ mM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> یافت شد.	۲۰۰۶	کاربردهای بالقوه پراکسیداز کدو تلخ ( <i>Momordica charantia</i> ) در حذف فنل‌ها از آب آلوده
(۱۵)	این گیاه قادر به حذف ۹۶/۴۲ درصد از فنل (۳۰۰ mg/L) است.	۲۰۲۱	پتانسیل گیاه‌پالایی سنبل آبی ( <i>Eichhornia crassipes</i> ) برای حذف فنل و سیانید از فاضلاب شبیه‌سازی شده.

## ادامه جدول ۱- مطالعات صورت گرفته در خصوص حذف ترکیبات فنلی با استفاده از گیاه پالایی

منبع	خلاصه	سال انتشار	عنوان مقاله
(۱۶)	تقریباً ۹۰ درصد از غلظت اولیه فنل به ترتیب توسط هر گیاه حذف شد.	۲۰۲۰	ظرفیت حذف فنل عدسک آبی ( <i>Lemna minor</i> ) شش سویه باکتریایی مقاوم به فنل از ریزوسفر آن: ارزیابی آزمایشگاهی در غلظت‌های بالای فنل.
(۱۷)	بالاترین میانگین میزان حذف فنل ۰/۲۱ g/L در روز از آب حاوی ۰/۳۰ g/L فنل بود.	۲۰۱۷	قابلیت گیاه اسفناج آبی ( <i>Ipomoea aquatica</i> ) برای اصلاح فنل در آب و اثرات فنل بر رشد گیاه.

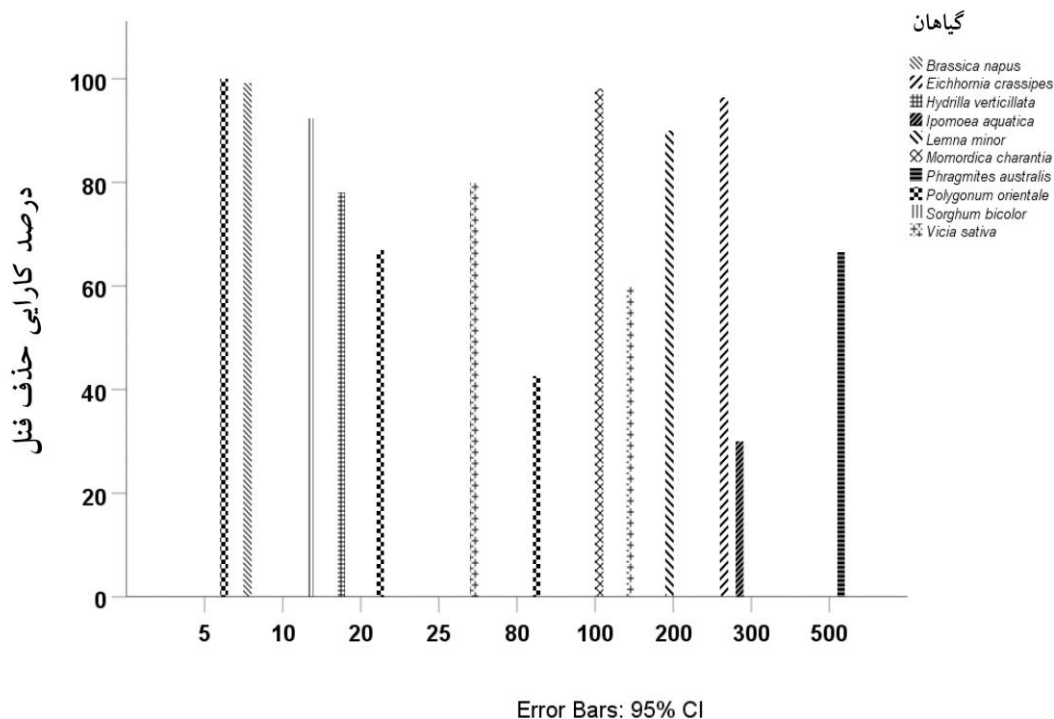
می‌شود. به عنوان مثال می‌توان به گیاه اسفناج آبی اشاره کرد که براساس مطالعه *Sikanna* و همکاران توانایی بالایی در تثبیت آلاینده جیوه دارد (۲۳). در روش تبخیر گیاهی، گیاهان آلاینده‌ها را از خاک جذب و سپس به بخار تبدیل کرده و با عمل تعرق به اتمسفر انتقال می‌دهند. به عنوان مثال، اعضای خانواده شب بویان، برای تصعید آلاینده سلینیوم مناسب هستند (۲۴). در روش تخریب که به کاهش گیاهی نیز معروف است گیاه با متابولیسم خود ترکیبات آلاینده را به مولکول‌های ساده‌تر تجزیه می‌کند که می‌تواند به درون بافت گیاه وارد شوند (۲۵). به عنوان مثال آلاینده‌های مواد منفجره نظیر TNT, HMX و RDX در درخت صنوبر توسط آنزیم‌ها به ترکیبات ساده‌تر و کم خطرتر متابولیزه می‌شوند (۲۶). در روش ریزوفیلتراسیون، آلاینده‌های منابع آبی آلوده در ریشه‌های گیاهان آبی و خاکی رسوب می‌کنند این روش بخصوص برای فاضلاب‌های صنعتی، رواناب کشاورزی و یا فاضلاب معادن اسیدی کاربرد دارد و برای فلزاتی مانند سرب، کادمیم، مس، نیکل، روی و کروم مناسب است (۲۷) گیاهانی مانند خردل هندی و آفتابگردان ظرفیت بالایی برای تجمع فلزات سنگین در طی ریزوفیلتراسیون دارند (۲۸). گیاهان توانایی جذب ترکیبات فنلی را حتی با غلظت کم از طریق سیستم ریشه خود دارند. آنها سیستم ریشه خود را

## - گیاه پالایی

مفهوم استفاده از گیاهان برای پاکسازی محیط‌های آلوده چیز جدیدی نیست و این ایده برای اولین بار در سال ۱۹۸۳ مطرح شد (۱۸). اولین گیاهانی که مورد استفاده قرار گرفتند، گیاه سویس ( *Thlaspi caerulescens* ) و گیاه بنفشه زرد ( *Viola calaminaria* ) بودند که سطح بالایی از فلزات را در برگ‌ها جمع‌آوری کردند (۱۹). روش گیاه پالایی به دلیل مصرف انرژی بسیار پایین و راهبری ساده و به دلیل هزینه‌های اولیه کم، مورد علاقه پژوهشگرانی است که برای یافتن روش‌های مناسب‌تر و ارزان‌تر از روش‌های متداول پیچیده، تحقیق می‌نمایند. گیاهان می‌توانند آلودگی‌ها را از طریق پروسه‌های بیوشیمیایی و فرایند فیزولوژیکی طبیعی کاهش دهند (۲۰). روش‌های متفاوتی برای انجام فرایند گیاه پالایی وجود دارد که شامل روش‌های تخریب آلاینده‌ها ( *Phytodegradation* )، تصعید توسط گیاه ( *Phytovolatilization* )، تثبیت آلاینده‌ها ( *Phytostabilization* ) و ریزوفیلتراسیون ( *Rhizofiltration* ) توسط گیاه است (۲۱). در روش تثبیت، محدود کردن تحرک و قابلیت دسترسی آلاینده‌ها در محیط با استفاده از قدرت ریشه، صورت می‌گیرد (۲۲). این روش معمولاً برای کاهش آلودگی رسوبات و لجن استفاده

نمودار ۱ درصد کارایی حذف فنل در غلظت‌های مختلف فنل توسط گیاهان مختلف بررسی شده در مطالعات ارائه شده است.

به داخل ماتریس محیط گسترش داده و اکوسیستم ریزوسفر را برای تعدیل فراهمی زیستی فنل ایجاد می‌کنند (۲۹). در



غلظت فنل در مطالعات بررسی شده (mg/L)

### نمودار ۱- درصد کارایی حذف فنل در غلظت‌های مختلف فنل توسط گیاهان مختلف بررسی شده در مطالعات

مطالعات گیاه‌پالایی، از یک گیاه کامل رشد داده شده در خاک یا محیط هیدروپونیک برای آزمایشات حذف آلاینده‌ها استفاده شده است، اما اخیراً استفاده از ریشه‌های مویین در گیاه‌پالایی نیز مورد توجه قرار گرفته است.

– باکتری آگروباکتریوم رایزوزنز

باکتری آگروباکتریوم رایزوزنز با نام علمی *Agrobacterium rhizogenes* متعلق به خانواده *Rhizobiaceae* نوعی باکتری گرم منفی و خاکزی است که به دلیل توانایی‌اش در انتقال DNA به سلول‌های گیاهی به یک ابزار مهم در مهندسی ژنتیک تبدیل شده است (۳۲). باکتری آگروباکتریوم قادر است DNA خود را به تعداد قابل

در مطالعات گیاه‌پالایی انتخاب گیاه مناسب از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. به دلیل اینکه مطالعه گیاهان با عمر طولانی جهت استفاده در گیاه‌پالایی دشوار است، سیستم‌های مدل آزمایشگاهی ایجاد شده است. استفاده از گیاهان در شرایط آزمایشگاهی به عنوان یک سیستم مدل برای مطالعه تخریب آلاینده‌های آلی دارای این مزیت است که از هر گونه آلودگی یا میکروب که ممکن است به نتایج اشتباه منجر شود، می‌تواند اجتناب شود. ضمن اینکه در حجم‌های کوچک از محلول‌ها می‌توان برای آزمایش گیاه‌پالایی استفاده کرد (۳۰). برای بهبود بهره‌وری از گیاهان، درک بهتر مکانیسم‌های اساسی تجمع و تحمل ترکیبات فنلی در گیاه ضروری است (۳۱). در اکثر

ملاحظه‌ای از گیاهان دو لپه‌ای‌ها و نیز تک لپه‌ای‌ها وارد کند. این باکتری دارای یک پلاسمید بزرگ به نام پلاسمید Ri است که یک ناحیه T-DNA بر روی این پلاسمید قرار گرفته است (۳۳). T-DNA دارای دو توالی مستقل است که با مرزهای TL (چپ) و TR (راست) مشخص می‌شوند. TL-DNA و TR-DNA به طور کلی به طور مستقل به ژنوم گیاه میزبان منتقل و ادغام می‌شوند، اما تنها TL-DNA برای ایجاد ریشه‌های موپین ضروری و کافی است (۳۴).

– کشت ریشه‌های موپین

در طی چند سال گذشته، ریشه‌های موپین به دانش در مورد مکانیسم‌های پیچیده بیوشیمیایی و مولکولی درگیر در گیاه‌پالایی کمک کرده است (۳۵). ریشه‌های موپین برای توسعه یک برنامه بیوتکنولوژی ارزشمند مورد بهره‌برداری قرار گرفته و پیشرفت زیادی در توسعه کشت ریشه‌های موپین رخ داده است. تولید ریشه‌های موپین توسط آگروباکتریوم رایزوزنز صورت می‌گیرد. اولین مطالعات مربوط به تولید ریشه‌های موپین از اوایل دهه ۱۹۰۰ آغاز شد (۳۶). پایداری ژنتیکی یا بیوشیمیایی، نیازهای کم هزینه کشتی و رشد مستقل از هورمون باعث شده ریشه موپین به عنوان یک سیستم انتقال بیولوژیکی کارآمد برای تبدیل ترکیبات آلی آلاینده به ترکیبات غیر آلاینده نیز مورد توجه قرار گیرد (۳۷). کشت ریشه‌های موپین که در نتیجه تعامل بین باکتری آگروباکتریوم رایزوزنز و گیاه میزبان صورت می‌گیرد، از روش‌های بیوتکنولوژی پیشرفته است که در بررسی فرایندهای کاهش آلودگی‌ها، به عنوان یک ابزار تحقیقاتی با ارزش به حساب می‌آید. در این روش آلودگی گیاه با باکتری آگروباکتریوم رایزوزنز باعث تولید ریشه‌های زیاد در جایگاه ورود باکتری می‌شود که ریشه‌های موپین نامیده می‌شوند (۳۸). این آلودگی با انتقال یک قطعه DNA از T-DNA که به عنوان پلاسمید القا کننده ریشه (Ri) پلاسمید) به DNA کروموزومی سلول گیاه است، ایجاد می‌شود (۳۲). ژن‌های منتقل شده از T-DNA پلاسمید Ri طی آلودگی به سلول‌های گیاه میزبان، معمولاً

rol) oncogenic loci root (A,B,C,D) هستند که نقش اصلی را در تولید ریشه‌های موپین ایفا می‌کنند (۳۹). ژن‌های مربوط به سنتز اکسین ( $aux_1$ ,  $aux_2$ ) که در ناحیه T-DNA پلاسمید Ri قرار گرفته‌اند نقش کمکی در القاء ریشه‌های موپین را دارند (۴۰). پلاسمیدهای Ri براساس نژاد آگروباکتریومی که از آن جدا شده‌اند و یا براساس نوع اوپینی (ترکیبات کربنی) که تولید می‌نمایند، طبقه‌بندی و نام گذاری می‌شوند. کارایی انتقال ژن به فاکتورهای مختلفی نظیر گونه گیاهی و ژنوتیپ، تنظیم کننده‌های رشدی، ریز نمونه، نور و دما، دمای هم‌کشتی، آنتی بیوتیک و غیره دارد (۴۱). از عوامل کلیدی مهم دیگر در موفقیت انتقال ژن به واسطه آگروباکتریوم، سویه آگروباکتریوم مورد استفاده است (۴۲). توانایی سویه‌های مختلف در انتقال ژن به سلول گیاهی متفاوت است. ریشه‌های موپین به سرعت رشد می‌کنند و در محیط بدون هورمون‌های گیاهی به خوبی تکثیر شده و تولید انشعابات فرعی می‌نمایند (۴۳). کشت ریشه‌های موپین مزایای زیادی از جمله پایداری ژنتیکی و بیوشیمیایی، رشد سریع، هزینه‌های کم اجرا و نگهداری آسان، استقلال از سایر اندام‌های گیاهی و امکان توسعه در مدل‌های بیوراکتور صنعتی را دارد (۴۴). عوامل مختلفی از جمله منبع و نوع ریزنمونه، محیط کشت، تراکم سلول باکتری، نوع سویه باکتری و فاز رشدی، استفاده از استوسرینگون قبل از کشت، روش عفونت، مدت زمان هم‌کشتی و آنتی‌بیوتیک‌های باکتری در انتقال ژن با واسطه آگروباکتریوم موثر هستند (۴۵). استراتژی‌های مختلفی برای افزایش فعالیت‌های بیوسنتزی ریشه‌های موپین وجود دارد از جمله: بهینه سازی ترکیبات محیط کشت، شرایط نگهداری، انتخاب لاین برتر، رویکردهای مهندسی متابولیت و استفاده از بیوراکتورها. بیوراکتورها برای موفقیت آمیز بودن فرایندهای زیستی مبتنی بر ریشه‌های موپین بسیار مهم هستند.

– تأیید تراریختگی ریشه‌های موپین

ویژگی‌های مورفولوژیکی و استفاده از نشانگرهای ژنتیکی از روش‌های تأیید تراریختگی ریشه‌های موپین است. فنوتیپ

بر روی T-DNA این باکتری که مهمترین آنها ژن‌های *rolA*، *rolB*، *rolC* است، انجام داد. برای این منظور از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود که مهمترین آنها استفاده از تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلی مرز (PCR) است.

– ریشه‌های مویین و توسعه گیاه پالایی  
مقالات یافت شده با تمرکز بر ریشه‌های مویین برای حذف فنل در جدول ۲ ارائه شده است.

ریشه‌های تراریخته با ریشه‌های غیرتراریخته و نابه‌جا متفاوت است (۴۶). ریشه‌های مویین تراریخته دارای رشد سریع در محیط بدون هومورن هستند (۴۷). این ریشه‌های تراریخته که برخلاف ریشه‌های معمولی عدم زمین گرایی دارند دارای انشعابات جانبی فراوان نیز هستند (۴۸). از آنجایی که ریشه‌های مویین حاصل انتقال T-DNA پلاسمید Ri آگروباکتریوم رایزوزنز به سلول‌های گیاهی هستند، تأیید تراریختگی ریشه‌های مویین را نیز می‌توان با ردیابی ژن‌های موجود

## جدول ۲- مطالعات صورت گرفته در خصوص استفاده از ریشه‌های مویین گیاهان جهت حذف فنل

منبع	خلاصه	سال انتشار	عنوان مقاله
(۴۹)	مقدار فنل حذف شده توسط ریشه در طی ۷۲ ساعت تیمار به ترتیب ۷۲/۷، ۹۰/۷ و ۹۸/۶ درصد غلظت اولیه برای <i>D. carota</i> ، <i>I. batatas</i> و <i>S. aviculare</i> بود. برای حذف ۲۰۶-دی کلروفنل مقادیر به ترتیب ۸۳، ۵۷/۷ و ۷۳/۱ درصد بود.	۲۰۰۶	جذب و تبدیل فنل و کلروفنل‌ها توسط کشت‌های ریشه مویین هویج ( <i>Daucus carota</i> )، سبب زمینی شیرین ( <i>Solanum</i> ) و بادنجان ( <i>Ipomoea batatas</i> ) و <i>aviculare</i> .
(۵۰)	ریشه‌ها توانستند فنل را در حضور ۵ mM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> از محلول‌های حاوی ۱۰۰ mg/L حذف کنند.	۲۰۰۶	گیاه پالایی فنل از فاضلاب با پراکسیدازهای کشت ریشه مویین گوجه فرنگی ( <i>Lycopersicon esculentum</i> )
(۵۱)	راندمان حذف بالا (۹۸ درصد) در زمان کوتاه (۳۰ دقیقه) به دست آمد. هنگامی که ریشه‌ها برای شش چرخه متوالی دوباره استفاده شدند، راندمان حذف ۲،۴-DCP از ۹۸ به ۸۶ درصد در آخرین چرخه کاهش یافت.	۲۰۱۱	افزایش حذف ۲، ۴-دی کلروفنل از محلول‌های آبی با استفاده از ریشه‌های مویین کلزا <i>Brassica napus</i>
(۵۲)	راندمان حذف بالا (۹۵-۹۳ درصد) در محدوده pH وسیع (۳-۹) مشاهده شد.	۲۰۰۳	گیاه پالایی ۲، ۴-دی کلروفنل توسط کشت ریشه‌های مویین کلزا <i>Brassica napus</i>
(۵۳)	راندمان حذف برای گوجه فرنگی نسبت به گیاه تنباکو بالاتر بود که به علت بیان بیشتر ژن‌های پراکسیداز است.	۲۰۰۹	ایجاد ریشه‌های موی توتون تراریخته بیان کننده پراکسیدازهای پایه و کاربرد آن برای حذف فنل.
(۵۴)	۲، ۴-DCP را در زمان کوتاه و با راندمان بالا (۹۸، ۸۸ و ۸۳ درصد) برای محلول‌های اولیه حاوی ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ mg/L حذف کردند.	۲۰۱۰	حذف ۲، ۴-دی کلروفنل از محلول‌های آبی با استفاده از کشت ریشه مویین تنباکو.

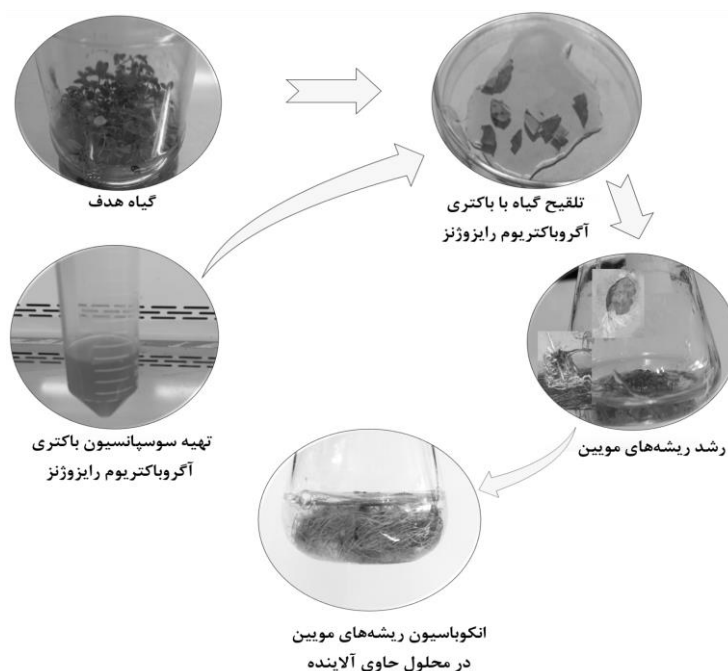


## ادامه جدول ۲- مطالعات صورت گرفته در خصوص استفاده از ریشه‌های مویین گیاهان جهت حذف فنل

منبع	خلاصه	سال انتشار	عنوان مقاله
(۵۵)	حذف فنل توسط ریشه‌های مو بدون نیاز به اضافه کردن پراکسید هیدروژن خارجی ( $H_2O_2$ ) انجام می‌شود	۲۰۰۶	حذف فنل با استفاده از ریشه‌های مویین گیاه خردل هندی <i>Brassica juncea</i> : نقش پراکسیداز ذاتی و $H_2O_2$ .
(۵۶)	ال-پرولین راندمان حذف فنل توسط ریشه‌های مویین گیاه را افزایش داد که منجر به حذف $mg/L$ ۱۰۰ فنل پس از ۲۴ ساعت شد	۲۰۱۳	تجزیه بیولوژیکی فنل با استفاده از ریشه‌های مویین گیاه آفتابگردان <i>Helianthus annuus</i>
(۵۷)	ریشه‌ها قادر به حذف غلظت فنل تا $500 mg/L$ در حضور $H_2O_2$ بودند و به راندمان حذف بالایی رسیدند.	۲۰۰۸	استفاده از کشت ریشه مویین گیاه کلزا <i>Brassica napus</i> برای حذف فنل از محلول‌های آبی.
(۵۸)	در حضور $H_2O_2$ ، ریشه‌ها توانست غلظت فنل را تا $500 mg/L$ حذف کند.	۲۰۱۵	حذف فنل توسط ریشه مویین گیاه شایبک <i>A. belladonna</i>
(۵۹)	راندمان حذف برای ریشه‌های مویین کلزا و گوجه فرنگی به ترتیب ۹۵-۸۰ درصد و ۷۰-۶۰ درصد بود. افزودن پلی اتیلن گلیکول (PEG-3350) به محیط واکنش، راندمان حذف فنل توسط ریشه‌های مویین کلزا را به میزان قابل توجهی افزایش داد و به مقادیر ۹۸-۸۸ درصد رسید.	۲۰۱۰	سمیت محلول‌های فنل درمان شده با کلزا ( <i>Brassica napus</i> ) و ریشه‌های مویین گوجه فرنگی ( <i>Lycopersicon esculentum</i> )

ریشه‌های مویین سیستم‌های بسیار مفیدی برای مطالعه تغییر شکل ماده آلاینده و فعالیت آنزیم‌های تبدیل کننده آلاینده گیاهی (به عنوان مثال، سیتوکروم P450، پراکسیدازها و آنزیم گلوکوتانیون S-ترانسفرازها) هستند (۶۱) و اطلاعات زیادی را در مورد مکانیسم‌های بیوشیمیایی، فیزیولوژی و مولکولی درگیر در متابولیسم آلاینده‌ها، سمیت و تحمل در سلول‌های گیاهی فراهم می‌کنند. در شکل ۱ مراحل تولید ریشه‌های مویین با استفاده از باکتری آگروباکتریوم رایزوزنز و انکوباسیون ریشه‌ها در محلول حاوی فنل نشان داده شده است.

ریشه‌های مویین برای مطالعه جنبه‌های کلیدی استراتژی‌های مختلف گیاه‌پالایی مانند تثبیت گیاهی (Phytostabilization)، تجزیه بیولوژیک در محیط ریشه (Rhizodegradation)، عصاره کشی یا استخراج گیاهی (Phytoextraction) و تغییر شکل آلاینده‌های آلی و معدنی ارزشمند هستند. تغییر شکل گیاهی یا تجزیه گیاهی (Phytodegradation) به جذب، متابولیسم و تغییر آلاینده‌ها در سلول‌های گیاهی اشاره دارد که شامل واکنش‌های کاتالیزوری آنزیمی است که در شبکه‌های پیچیده سازمان یافته‌اند (۶۰).

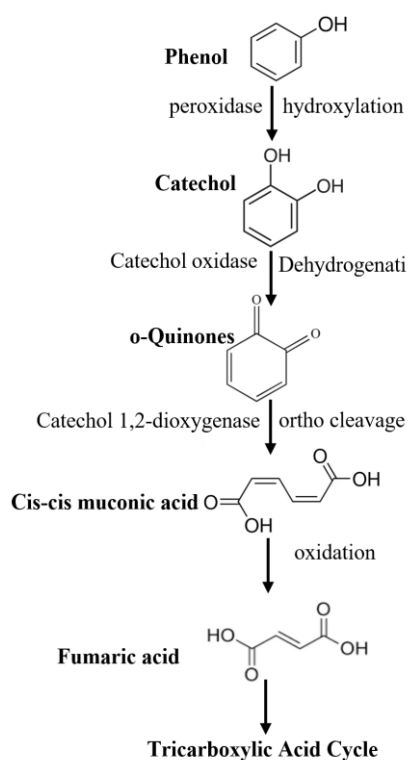


شکل ۱- مراحل کشت ریشه‌های مویین و انکوباسیون آن در محلول حاوی آلاینده (۶۲)

سپس به فیتوکلاتین‌ها، متالوتیونین‌ها، نیکوتین آمین، اسیدهای آلی یا دیگر عوامل کمپلکس شدن می‌پیوندند و در واکنش‌ها تخریب می‌شوند (۶۳).

قرار گرفتن در معرض فنل باعث افزایش فعالیت پراکسیدازهای گیاهی (px) در ریشه‌ها می‌شود. نقش آنزیم‌های پراکسیداز در حذف فنل و کلروفنل‌ها از محیط کشت حائز اهمیت است. فنل پس از جذب توسط ریشه‌ها توسط آنزیم‌های پراکسیداز و طی هیدروکسیلاسیون به catechol تجزیه می‌شود. همچنین در طی تجزیه فنل متابولیت‌هایی نظیر fumaric acid و cisecis muconic aci، o-Quinone نیز تولید می‌شوند (شکل ۲). Jha و همکاران (۶۴) بیان می‌کنند که حذف فنل با اضافه کردن هیدروژن پراکسید افزایش خواهد یافت. هیدروژن پراکسید می‌تواند اکسیداسیون شیمیایی آلاینده‌های آلی پایدار را متعادل کند و به عنوان یک سوبسترای آنزیمی در سیستم‌های پالایش بکار رود.

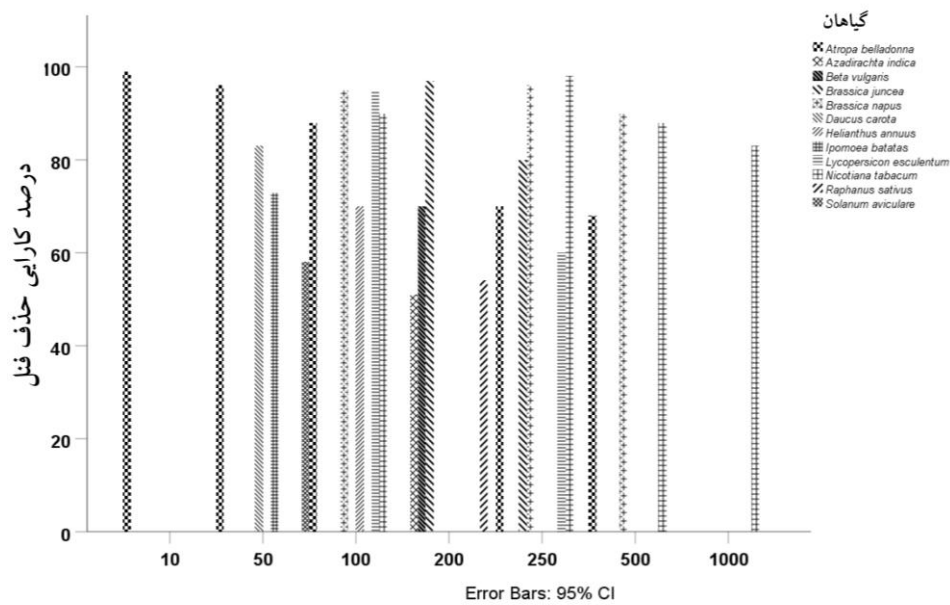
یکی از موفق‌ترین کاربردهای کشت‌های ریشه‌های مویین جهت گیاه‌پالایی حذف فنل است چون این فرایند بیشتر توسط پراکسیدازها کاتالیز می‌شود که به مقدار زیادی توسط ریشه‌های مویین تولید می‌شوند. حذف فنل توسط ریشه‌های مویین گیاهان بستگی به نوع گونه گیاهی و همچنین به غلظت آلاینده دارد. بر طبق مطالعات صورت گرفته، ریشه‌های مویین قادر به متابولیسم موثر فنل تا غلظت  $500 \text{ mg/L}$  هستند. در غلظت‌های بالاتر فنل، راندمان حذف فنل کاهش پیدا می‌کند که علت آن آسیب سم به سلول‌های گیاه است. قهوه‌ای شدن ریشه‌ها نشان دهنده آسیب فنل در غلظت‌های بالای فنل است (۶۲). گیاه‌پالایی ترکیبات آلی عموماً شامل درهم شکستن آلاینده توسط آنزیم‌های گیاه (پراکسیدازها، لاکتاز و سیتوکروم P450)، اتصال به گلوکز، گلوکاتینون یا پپتیدها و تجزیه در واکنش‌ها و یا دیواره سلولی و آپوپلاست است. آلاینده‌های غیرآلی یا معدنی به طور مکرر توسط گیاه جمع‌آوری می‌شوند،



شکل ۲- مسیرهای متابولیتی فنل توسط ریشه‌های مویین (۶۴)

۱۰۰ درصد پس از ۳۰۰ دقیقه و کارایی جذب ۸۰ درصدی در ۱۵ دقیقه اول برای حذف فنل توسط ریشه‌های مویین گیاه *Atropa belladonna* حاصل شد (۵۸). Nakamoto و همکار (۶۵) بیان کردند که یکی از مزایای استفاده از ریشه‌های مویین نسبت به سایر روش‌ها، سرعت واکنش سریع در طی ساعت اول است. البته بایستی در نظر داشت با افزایش مداوم مدت زمان انکوباسیون، کارایی جذب افزایش نمی‌یابد و بعد از رسیدن به نقطه حداکثر خود روند آن ثابت می‌شود که این امر به علت کاهش فعالیت آنزیمی پس از نقطه حداکثر است. در نمودار ۲ درصد کارایی حذف فنل در غلظت‌های مختلف فنل توسط ریشه‌های مویین گیاهان مختلف بررسی شده در مطالعات، ارائه شده است.

در مطالعات سمیت زدایی که به وسیله ایزو آنزیم‌های پراکسیداز کاتالیز می‌شوند،  $H_2O_2$  یک کلید سازنده و مورد نیاز برای بهینه سازی غلظت است. غلظت هیدروژن پراکسید در کارایی جذب یک عامل محدودکننده است و در غلظت‌های بالاتر  $H_2O_2$  کارایی جذب کاهش می‌یابد. Coniglio و همکاران (۵۷) نیز در مطالعه خود گزارش کردند که با استفاده از زی-توده‌ی زیاد ریشه‌های مویین گیاه کلزا در محلول‌های حاوی  $250 \text{ mg/L}$  و  $500 \text{ mg/L}$  فنل و  $7/5 \text{ mM}$  و  $10 \text{ mM}$  اثر  $H_2O_2$  حذف بهبود می‌یابد. یکی از فاکتورهای مهم در انکوباسیون ریشه‌های مویین در محیط حاوی آلودگی، مدت زمان انجام آزمایش است. مطالعات نشان داد که میزان کارایی جذب با افزایش طول مدت زمان انکوباسیون افزایش پیدا می‌کند. بطوری‌که در غلظت  $10 \text{ mg/L}$  فنل، کارایی جذب



غلظت فنل در مطالعات بررسی شده (mg/L)

## نمودار ۲- درصد کارایی حذف فنل در غلظت‌های مختلف فنل توسط ریشه‌های مویین گیاهان مختلف بررسی شده در مطالعات

جوانه زنی دیده نشد. ریشه‌های مویینی که در نتیجه تلقیح گیاه و آگروباکتریوم رایزوزنز تولید می‌شوند، پروتئین‌هایی تولید کنند که قادر به متابولیسم کردن ترکیبات شیمیایی و آلاینده‌ها هستند. این پروتئین‌ها می‌توانند برای طولانی مدت توسط این ریشه‌ها تولید شوند. کشت ریشه‌های مویین به عنوان شاخص‌هایی از توانایی گیاهان برای پالایش آلاینده‌ها عمل می‌کند، چون این ریشه‌ها ظرفیت ژنتیکی گیاه اصلی خود را برای تغییر یک ترکیب خاص دارند (۶۷). برخی از معایب نیز در استفاده از کشت ریشه‌های مویین برای تحقیقات گیاه‌پالایی همراه است، به عنوان مثال ایجاد شرایط استریل مورد نیاز است و کاربرد آن در مقیاس بزرگ با پیچیدگی‌هایی همراه است. با این وجود از ریشه‌های مویین در تحقیقات گیاه‌پالایی به خوبی استفاده شده و مورد بررسی قرار گرفته است.

یکی از مواردی که بایستی در آزمایشات پایش سموم همواره مورد توجه قرار داد این است که روش بکار گرفته شده منجر به تولید مواد سمی‌تر و خطرناک‌تر از ترکیب اولیه آلودگی مورد نظر نشود. به همین دلیل آزمون سمیت به طور معمول جهت بررسی میزان سمیت محیط پس از آزمایش باید انجام شود. به خصوص در مواقعی که قصد برگشت پساب به محیط وجود دارد این امر از اهمیت زیادی برخوردار است. در تحقیقی که به وسیله Angelini و همکاران (۶۶) صورت گرفت، جهت آزمون سمیت از *Lactuca sativa* استفاده نمودند که در آن جوانه زنی بذرها و رشد سریع گیاهچه‌ها در محلول بدست آمده از آزمایش حذف فنل مورد بررسی قرار گرفت. طبق نتایج، بذره‌های گیاه کاهو که در معرض فنل قادر به جوانه زنی نبودند، در محلول پس از آزمایش به دلیل اینکه سمیت فنل کمتری نسبت به محلول اولیه داشتند، تقریباً هیچ گونه جلوگیری از

## بحث

(۶۹). اما زمانی که گیاه در معرض غلظت بالای فنل قرار می‌گیرد، ممکن است به دلیل آسیب سم به سلول‌ها، آنزیم‌ها توسط سلول‌های گیاهی تولید نشوند. در نتیجه مقدار آنزیم کاهش می‌یابد و در این حالت اثر بازدارندگی  $H_2O_2$  بر فعالیت آنزیم رخ می‌دهد (۷۰). بنابراین مقدار  $H_2O_2$  مورد نیاز برای افزایش راندمان حذف فنل توسط ریشه‌ها به غلظت آلاینده فنل و نوع گونه گیاهی بستگی دارد.

دوره انکوباسیون در محیط حاوی سم عامل مهمی است که باید در هر آزمایش بهینه شود. با افزایش زمان انکوباسیون، راندمان حذف فنل توسط ریشه‌ها افزایش می‌یابد. با توجه به اینکه راندمان حذف فنل در اکثر مطالعات بین ۳۰۰ min تا ۷۲ h اتفاق افتاده است، می‌توان بیان کرد که ریشه‌های مویین قادر به حذف آلاینده فنل از محیط در مدت زمان کوتاهی هستند و می‌توان گفت زمان کافی برای جذب موثر آلاینده نیز به ماهیت و غلظت آلاینده و همچنین گونه‌های گیاهی مورد استفاده بستگی دارد.

کارایی حذف فنل توسط ریشه‌های مویین در اغلب مطالعات صورت گرفته در محدوده pH ۹-۴ افزایش یافت که نشان‌دهنده پتانسیل بالای این ریشه‌ها در برابر تغییرات pH است. در pH بالاتر، احتمالاً به دلیل وجود یون‌های  $OH^-$  اضافی، فنل نمی‌تواند به عنوان دهنده هیدروژن عمل کند و در نتیجه، راندمان حذف کاهش می‌یابد.

به طور کلی، به دلیل پایداری ژنتیکی ریشه‌های مویین، پروتئین‌های عملکردی که در متابولیسم آلاینده‌های محیطی دخیل هستند می‌توانند به مدت طولانی توسط ریشه‌ها تولید شوند (۷۱). ریشه‌های مویین ظرفیت ژنتیکی گیاه مادر را برای تبدیل یک ترکیب خاص دارند و می‌توانند به عنوان شاخص‌هایی از گیاهانی که قادر به پالایش ترکیبات آلاینده هستند، عمل کنند. ریشه‌های مویین دارای مزایایی زیادی مانند سرعت رشد بالا در شرایط استریل، افزایش سطح تماس بین آلاینده و بافت‌های گیاه، پایداری ژنتیکی بالا و توانایی تولید مقادیر زیاد از ترشحات حاوی آنزیم‌ها که موجب سم‌زدایی از آلاینده‌های

ریشه‌های مویین القا شده توسط *A. rhizogenes* بسیار منشعب شده و به سرعت در محیط بدون هورمون‌های گیاهی رشد کرده، به طوری که با ریشه‌های معمولی کاملاً متمایز می‌شوند. بیوماس بالای ریشه‌ها در گیاهان یکی از پیش نیازهای افزایش اثربخشی فرآیندهای گیاه‌پالایی است.

اثر سمیت‌زدایی از ترکیبات فنلی با کاربرد ریشه‌های مویین در مطالعات مختلف به اثبات رسیده است، که این اثر سم‌زدایی به دلیل حضور آنزیم‌های پراکسیداز است که به مقدار زیادی توسط ریشه‌های مویین تولید می‌شود. هیدروژن پراکسید ( $H_2O_2$ ) سبب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در جذب فنل در ریشه‌های مویین می‌شود. در بررسی مطالعات صورت گرفته بیشترین راندمان حذف فنل توسط ریشه‌های مویین *Brassica napus* زمانی رخ داد که ریشه‌ها در معرض فنل و  $H_2O_2$  قرار گرفتند و کمترین راندمان حذف در محیط بدون  $H_2O_2$  مشاهده شد. با این حال، برخی از گیاهان مانند خردل هندی (*Brassica juncea*) ذاتی در بافت خود دارند و نیازی به  $H_2O_2$  اضافی برای حذف فنل ندارند (۶۸). به نظر می‌رسد که آنزیم پراکسیداز موجود در بافت ریشه‌های مویین، اکسیداسیون فنل را در حضور  $H_2O_2$  کاتالیز می‌کند. بنابراین عوامل دیگری مانند فعالیت فنل اکسیدازها که از  $O_2$  به عنوان سوپسترا استفاده می‌کنند، نقش کمی در روند حذف فنل دارند. با این حال، با افزایش غلظت  $H_2O_2$ ، حذف فنل تا سطح بهینه افزایش می‌یابد. راندمان پایین حذف فنل در غلظت کم پراکسید هیدروژن می‌تواند به ناکافی بودن بستر لازم برای فعالیت آنزیم پراکسیداز مرتبط باشد. از طرفی کاهش حذف فنل در غلظت‌های بالاتر پراکسید هیدروژن، می‌تواند به دلیل غیرفعال شدن آنزیم‌های پراکسیداز در حضور  $H_2O_2$  اضافی باشد. احتمال می‌رود وقتی گیاه در معرض غلظت کم فنل قرار می‌گیرد، می‌تواند آنزیم‌های اکسید کننده بیشتری برای این ترکیب تولید کند، به طوری که حتی با افزودن غلظت‌های بالاتر  $H_2O_2$ ، اثر بازدارندگی آن بر روی آنزیم مشاهده نمی‌شود

از دیگر محدودیت‌های این بررسی است، زیرا مطالعات با نتایج مثبت احتمال بیشتری دارد که منتشر شوند.

### نتیجه‌گیری

با توجه به مطالعات انجام شده در زمینه استفاده از ریشه‌های مویین برای حذف آلودگی فنل، می‌توان نتیجه گرفت که ریشه‌های مویین قدرت جذب قابل توجهی برای فنل دارند و می‌توانند به عنوان یک روش ساده و اقتصادی در فرایندهای تصفیه آب استفاده شوند. این روش به دلیل سادگی، قابلیت عملکرد در طیف وسیعی از شرایط و کم هزینه بودن، به عنوان یک راهکار محبوب در حذف آلودگی فنل مورد توجه قرار گرفته است. با این حال، مطالعات نشان می‌دهد که عوامل مختلفی جذب ریشه‌های مویین تأثیر بگذارند. همچنین، برخی از این مطالعات با تعداد محدودی نمونه و شرایط آزمایشگاهی صورت گرفته‌اند، بنابراین نیاز به تحقیقات بیشتر در زمینه بهینه‌سازی شرایط و بررسی اثرات جانبی و پایداری طولانی مدت استفاده از ریشه‌های مویین برای حذف آلودگی فنل وجود دارد.

### ملاحظات اخلاقی

نویسندگان کلیه نکات اخلاقی شامل عدم سرقت ادبی، انتشار دوگانه، تحریف داده‌ها و داده‌سازی را در این مقاله رعایت کرده‌اند.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه با عنوان "بررسی پالایش برخی ترکیبات مهم آلاینده پساب‌های شهری و صنعتی با استفاده از روش گیاه‌پالایی و تولید ریشه‌های مویین" در مقطع دکترای تخصصی و کد ۱۵۴۹۱۳۴ که با حمایت دانشگاه شهید بهشتی در حال اجرا است.

معدنی و آلی شود، برای استفاده در تکنیک گیاه‌پالایی هستند. همچنین، این ریشه‌ها قابل دستکاری ژنتیکی هستند و ممکن است بر خصوصیات ژن‌هایی که ظرفیت پالایش گیاهان را تسهیل می‌کند، تأثیر گذارد. البته استفاده از ریشه‌های مویین در پالایش فنل ممکن است با محدودیت‌هایی مواجه شود. ریشه‌های مویین ممکن است نتوانند فنل را به طور کافی جذب کنند. این محدودیت ممکن است باعث کاهش کارایی فرایند پالایش شود و باعث اتلاف فنل در فرایند گردد. علاوه بر این ریشه‌های مویین ممکن است سموم و آلودگی‌های دیگر را به خود جذب کنند. اگر فنل با سمومی مانند فلزات سنگین یا ترکیبات سمی دیگر آلوده شده باشد، استفاده از ریشه‌های مویین می‌تواند منجر به انتقال آن سموم به فرایند پالایش شود و بر کیفیت نهایی فنل تأثیر بگذارد. به طور کلی، در انتخاب فرایند پالایش برای فنل، لازم است عوامل مختلفی مانند سطح آلودگی و خواص فنل مورد بررسی قرار گیرد تا بهترین روش پالایش با استفاده از ریشه‌های مویین مشخص شود.

در مجموع مطالعات متعددی که درخصوص حذف آلاینده فنل توسط ریشه‌های مویین صورت گرفته است نشان می‌دهد که ریشه‌های مویین پتانسیل از بین بردن انواع مختلف ترکیبات فنل را از محیط دارند. لذا این تحقیق می‌تواند مورد توجه محققان در زمینه برنامه‌های تصفیه فاضلاب و حفظ منابع آب قرار گیرد. با این حال مطالعه مروری حاضر نیز مانند سایر مطالعات مروری در حوزه‌های دیگر، با برخی محدودیت‌ها همراه هستند. یکی از محدودیت‌های قابل توجه مطالعات مروری گیاه‌پالایی و ریشه‌های مویین، همگن نبودن مطالعات موجود است. این مطالعات ممکن است در محدوده زمانی و مکانی متفاوتی انجام شده باشند و از نظر روش‌شناسی، پارامترها و شاخص‌های استفاده شده تفاوت داشته باشند. این امر می‌تواند موجب محدود شدن توانایی مقایسه مستقیم بین مطالعات و استخراج نتایج قابل قبول باشد. همچنین سوگیری بالقوه انتشار

## References

1. Rahmani A, Nazemi F, Askari FB, Almasi H, Shabanloo N, Shabanloo A. Performance evolution of silica aerogel synthesized from sodium silicate in the adsorption of phenol from aqueous solutions. *Iranian Journal of Health and Environment*. 2016;9 (1). (In Persian)
2. Ashraf S, Ali Q, Zahir ZA, Ashraf S, Asghar HN. Phytoremediation: Environmentally sustainable way for reclamation of heavy metal polluted soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2019;174:714-27.
3. Shokoochi R, Ebrahimzadeh L, Rahmani AR, Ebrahimi SJ, Samarghandi MR. Comparison of the advanced oxidation processes in phenol degradation in laboratory scale. *Journal of Water and Wastewater; Ab va Fazilab*. 2010;20(4):30-35. (In Persian)
4. Shahamat YD, Farzadkia M, Nasser S, Mahvi A, Gholami M, Esrafil A. Evaluation of toxicity reduction, mineralization, and treatability of phenolic wastewater treated with combined system of catalytic ozonation process/biological reactor (SBR). *Iranian Journal of Health and Environment*. 2015;8 (3). (In Persian)
5. Saputera WH, Putrie AS, Esmailpour AA, Sasongko D, Suendo V, Mukti RR. Technology advances in phenol removals: Current progress and future perspectives. *Catalysts*. 2021;11(8):998.
6. Jaskulak M, Grobelak A. Potential applications of plant in vitro cultures in phytoremediation studies. *Challenges of Modern Technology*. 2017;8 (2).
7. Moola AK, Balasubramanian P, Satish L, Shamili S, Ramesh M, Kumar TS, et al. Hairy roots as a source for phytoremediation. *Strategies and Tools for Pollutant Mitigation: Avenues to a Cleaner Environment*. 2021;29-47.
8. Balarak D, Kord Mostafapour F, Mahdavi Y. A Survey on adsorption of phenol from aqueous solutions by sorghum and canola and determination of adsorption isotherms and kinetics. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*. 2016; 15(8): 793-806. (In Persian)
9. Saleem H, Arslan M, Rehman K, Tahseen R, Afzal M. *Phragmites australis*—a helophytic grass—can establish successful partnership with phenol-degrading bacteria in a floating treatment wetland. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2019; 26(6): 1179-1186.
10. Wang K, Cai J, Xie S, Feng J, Wang T. Phytoremediation of phenol using *Polygonum orientale* and its antioxidative response. *Archives of Environmental Protection*. 2015;41(3):39-46.
11. Laurent F, Canlet C, Debrauwer L, Pascal-Lorber S. Metabolic fate of [<sup>14</sup>C]-2, 4-dichlorophenol in tobacco cell suspension cultures. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*. 2007;26(11):2299-307.
12. Ibáñez SG, Alderete LGS, Medina MI, Agostini E. Phytoremediation of phenol using *Vicia sativa* L. plants and its antioxidative response. *Environmental Science and Pollution Research*. 2012;19:1555-62.
13. Chang G, Yue B, Gao T, Yan W, Pan G. Phytoremediation of phenol by *Hydrilla verticillata* (Lf) Royle and associated effects on physiological parameters. *Journal of Hazardous Materials*. 2020;388:121569.
14. Akhtar S, Husain Q. Potential applications of immobilized bitter melon (*Momordica charantia*) peroxidase in the removal of phenols from polluted water. *Chemosphere*. 2006;65(7):1228-35.
15. Singh N, Balomajumder C. Phytoremediation potential of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) for phenol and cyanide elimination from synthetic/simulated wastewater. *Applied Water Science*. 2021;11(8):144.
16. Radulović O, Stanković S, Uzelac B, Tadić V,

- Trifunović-Momčilov M, Lozo J, et al. Phenol Removal Capacity of the Common Duckweed (*Lemna minor* L.) and Six Phenol-Resistant Bacterial Strains from Its Rhizosphere: In Vitro Evaluation at High Phenol Concentrations. *Plants*. 2020;9(5):599.
17. Lee S-Y, Ahmad SA, Mustapha SR, Ong-Abdullah J. Ability of *Ipomoea aquatica* Forssk. to Remediate Phenol in Water and Effects of Phenol on the Plant's Growth. *Pertanika Journal of Science & Technology*. 2017;25 (2).
18. Vara Prasad MN, de Oliveira Freitas HM. Metal hyperaccumulation in plants: biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electronic Journal of Biotechnology*. 2003;6(3):285-321.
19. Doran P. Hairy root studies in phytoremediation and phytomining. *Handbook of Phytoremediation*: Nova Science Publishers. 2011; 591-612.
20. Torbati S, Esmailbegi Kermani S. Determining the concentration of Ag, Pb and Zn elements in some indigenous plant species grown in Zarshouran mining area, northwestern Iran. *Iranian Journal of Health and Environment*. 2022;15 (3):379-98. (In Persian)
21. Nedjimi B. Phytoremediation: a sustainable environmental technology for heavy metals decontamination. *SN Applied Sciences*. 2021;3(3):286.
22. Alkorta I, Becerril J, Garbisu C. Phytostabilization of metal contaminated soils. *Reviews on Environmental Health*. 2010;25(2):135-46.
23. Sikanna R, Sutriano D, Prismawiryanti P, editors. The Phytostabilization of Mercury (Hg) in *Ipomoea reptans* Poir Plants from Polluted Soil. 1st International Conference on Science and Technology, ICOST 2019, 2-3 May, Makassar, Indonesia; 2019.
24. Dhillon KS, Bañuelos GS. Overview and prospects of selenium phytoremediation approaches. *Selenium in Plants: Molecular, Physiological, Ecological and Evolutionary Aspects*. 2017;277-321.
25. Kafle A, Timilsina A, Gautam A, Adhikari K, Bhattarai A, Aryal N. Phytoremediation: Mechanisms, plant selection and enhancement by natural and synthetic agents. *Environmental Advances*. 2022;100203.
26. Van Aken B, Yoon JM, Schnoor JL. Biodegradation of nitro-substituted explosives 2-6, 4, trinitrotoluene, hexahydro-1, 3, 5-trinitro-1, 3, 5-triazine, and octahydro-1, 3, 5, 7-tetranitro-1, 3, 5-tetrazocine by a phytosymbiotic *Methylobacterium* sp. associated with poplar tissues (*Populus deltoides* × *nigra* DN34). *Applied and Environmental Microbiology*. 2004;70(1):508-17.
27. Eapen S, Suseelan K, Tivarekar S, Kotwal S, Mitra R. Potential for rhizofiltration of uranium using hairy root cultures of *Brassica juncea* and *Chenopodium amaranticolor*. *Environmental Research*. 2003;91(2):127-33.
28. Dhanwal P, Kumar A, Dudeja S, Chhokar V, Beniwal V. Recent advances in phytoremediation technology. *Advances in Environmental Biotechnology*. 2017;227-41.
29. Babaei A, Bahrami M, Maleki M, Tavafi H. Evaluation of two remediation techniques for the removal of silica from contaminated soil, Azandarian region, Iran. *Iranian Journal of Health and Environment*. 2021;13(4):693-704. (In Persian)
30. DalCorso G, Fasani E, Manara A, Visioli G, Furini A. Heavy metal pollutions: state of the art and innovation in phytoremediation. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(14):3412.
31. Wuana RA, Okieimen FE. Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. *International Scholarly Research Notices*. 2011; 2011.
32. Ahmadi Moghadam Y, Piri K, Bahramnejad B,



- Ghiyasvand T. Dopamine production in hairy root cultures of *Portulaca oleracea* (Purslane) using *Agrobacterium rhizogenes*. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 2014;16(2):409-20.
33. Ghadermazi S, Tohidfar M, Miri S. The production of hairy roots from (*Datura innoxia* L.) by *Agrobacterium rhizogenes* and effects of salicylic acid and methyl jasmonate biological elicitors on atropine and scopolamine content. *Journal of Medicinal Plants*. 2017;16 (61 and S10):141-155. (In Persian)
34. Noori M, Gharanjik S, Safipour Afshar A, Saeid Nematpur F. The influence of different strains of *Agrobacterium* on hairy root induction and the content of total phenolics and polysaccharides in medicinal plant *Echinacea purpurea* (L.) moench. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*. 2017;33(1):90-102. (In Persian)
35. Gujarathi NP, Haney BJ, Park HJ, Wickramasinghe SR, Linden JC. Hairy roots of *Helianthus annuus*: a model system to study phytoremediation of tetracycline and oxytetracycline. *Biotechnology Progress*. 2005;21(3):775-80.
36. Agostini E, Talano MA, González PS, Oller ALW, Medina MI. Application of hairy roots for phytoremediation: what makes them an interesting tool for this purpose? *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2013; 97 (3):1017-30.
37. Kang S, Ajjappala H, Seo H-H, Sim J-S, Yoon S-H, Koo B-S, et al. Expression of the human tissue-plasminogen activator in hairy roots of oriental melon (*Cucumis melo*). *Plant Molecular Biology Reporter*. 2011;29:919-26.
38. Pirian K, Piri K. Influence of yeast extract as a biotic elicitor on noradrenaline production in hairy root culture of *Portulaca oleracea* L. *International Journal of Agronomy and Plant Production*. 2013;4(11):2960-64.
39. Shirazi Z, Aalami A, Tohidfar M, Sohani MM. Metabolic engineering of glycyrrhizin pathway by over-expression of beta-amyrin 11-oxidase in transgenic roots of *Glycyrrhiza glabra*. *Molecular Biotechnology*. 2018;60:412-19.
40. Majumdar S, Garai S, Jha S. Genetic transformation of *Bacopa monnieri* by wild type strains of *Agrobacterium rhizogenes* stimulates production of bacopa saponins in transformed calli and plants. *Plant Cell Reports*. 2011;30:941-54.
41. Tohidfar M, Hasan Pour M. Effective factors in cotton (*Gossypium spp*) transformation using *agrobacterium*. *Agricultural Biotechnology Journal*. 2010;2(1):1-24. (In Persian)
42. Niaziyan M, Sadat-Noori SA, Tohidfar M, Galuszka P, Mortazavian SMM. *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of ajowan (*Trachyspermum ammi* (L.) Sprague): an important industrial medicinal plant. *Industrial Crops and Products*. 2019;132:29-40.
43. Soleimani T, Keyhanfar M, Piri K, Hasanloo T. Hairy root induction in Burdock (*Arctium lappa* L.). *Journal of medicinal plants*. 2012;11(44).
44. Oller ALW, Agostini E, Talano MA, Capozucca C, Milrad SR, Tigier HA, et al. Overexpression of a basic peroxidase in transgenic tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Pera) hairy roots increases phytoremediation of phenol. *Plant Science*. 2005;169(6):1102-11.
45. Huang T-K, McDonald KA. Bioreactor systems for in vitro production of foreign proteins using plant cell cultures. *Biotechnology Advances*. 2012;30(2):398-409.
46. Guimaraes LA, Pereira BM, Araujo ACG, Guimaraes PM, Brasileiro ACM. Ex vitro hairy root induction in detached peanut leaves for plant–nematode interaction

- studies. *Plant Methods*. 2017;13:1-10.
47. Beizae S, Safipour A, Nematpour F. Production of phenolic compounds in hairy roots culture of Radish (*Raphanus sativus* L.). *Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology)*. 2015; 28(3):327-335. (In Persian)
48. Gabr AM, Sytar O, Ghareeb H, Brestic M. Accumulation of amino acids and flavonoids in hairy root cultures of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*). *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 2019;25:787-97.
49. De Araujo BS, Dec J, Bollag JM, Pletsch M. Uptake and transformation of phenol and chlorophenols by hairy root cultures of *Daucus carota*, *Ipomoea batatas* and *Solanum aviculare*. *Chemosphere*. 2006;63(4):642-51.
50. González PS, Capozucca CE, Tigier HA, Milrad SR, Agostini E. Phytoremediation of phenol from wastewater, by peroxidases of tomato hairy root cultures. *Enzyme and Microbial Technology*. 2006;39(4):647-53.
51. Angelini VA, Orejas J, Medina MI, Agostini E. Scale up of 2, 4-dichlorophenol removal from aqueous solutions using *Brassica napus* hairy roots. *Journal of Hazardous Materials*. 2011;185(1):269-74.
52. Agostini E, Coniglio MS, Milrad SR, Tigier HA, Giulietti AM. Phytoremediation of 2, 4-dichlorophenol by *Brassica napus* hairy root cultures. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 2003;37(2):139-44.
53. Alderete LGS, Talano MA, Ibáñez SG, Purro S, Agostini E, Milrad SR, et al. Establishment of transgenic tobacco hairy roots expressing basic peroxidases and its application for phenol removal. *Journal of Biotechnology*. 2009;139 (4):273-79.
54. Talano MA, Frontera S, González P, Medina MI, Agostini E. Removal of 2, 4-dichlorophenol from aqueous solutions using tobacco hairy root cultures. *Journal of Hazardous Materials*. 2010;176(1-3):784-91.
55. Singh S, Melo J, Eapen S, D'souza S. Phenol removal using *Brassica juncea* hairy roots: role of inherent peroxidase and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Journal of Biotechnology*. 2006;123(1):43-49.
56. Jha P, Jobby R, Kudale S, Modi N, Dhaneshwar A, Desai N. Biodegradation of phenol using hairy roots of *Helianthus annuus* L. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2013;77:106-13.
57. Coniglio MS, Busto VD, González PS, Medina MI, Milrad S, Agostini E. Application of *Brassica napus* hairy root cultures for phenol removal from aqueous solutions. *Chemosphere*. 2008; 72(7):1035-42.
58. Mazaheri H, Piri K. Removal of phenol by *A. belladonna* L. hairy root. *International Journal of Phytoremediation*. 2015;17(12):1212-19.
59. Paisio CE, González PS, Gerbaudo A, Bertuzzi ML, Agostini E. Toxicity of phenol solutions treated with rapeseed and tomato hairy roots. *Desalination*. 2010;263(1-3):23-28.
60. Agostini E, Talano MA, González PS, Oller ALW, Medina MI. Application of hairy roots for phytoremediation: what makes them an interesting tool for this purpose? *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2013;97:1017-30.
61. Nepovim A, Podlipná R, Soudek P, Schröder P, Vaněk T. Effects of heavy metals and nitroaromatic compounds on horseradish glutathione S-transferase and peroxidase. *Chemosphere*. 2004;57(8):1007-15.
62. Ebrahimi T. Refinement study of some important municipal and industrial wastewater pollutants using phytoremediation and Hairy Root. Tehran. 2023. (In Persian)
63. Georgiev MI, Agostini E, Ludwig-Müller J, Xu J. Genetically transformed roots: from plant disease to

- biotechnological resource. *Trends in Biotechnology*. 2012;30(10):528-37.
64. Jha P, Sen R, Jobby R, Sachar S, Bhatkalkar S, Desai N. Biotransformation of xenobiotics by hairy roots. *Phytochemistry*. 2020;176:112421.
65. Nakamoto S, Machida N. Phenol removal from aqueous solutions by peroxidase-catalyzed reaction using additives. *Water Research*. 1992;26(1):49-54.
66. Angelini VA, Agostini E, Medina MI, González PS. Use of hairy roots extracts for 2, 4-DCP removal and toxicity evaluation by *Lactuca sativa* test. *Environmental Science and Pollution Research*. 2014;21:2531-39.
67. Doty SL. Enhancing phytoremediation through the use of transgenics and endophytes. *New Phytologist*. 2008;179(2):318-33.
68. Singh J, Singh V, Vineeth T, Kumar P, Kumar N, Sharma PC. Differential response of Indian mustard (*Brassica juncea* L., Czern and Coss) under salinity: photosynthetic traits and gene expression. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 2019;25:71-83.
69. Valderrama B, Ayala M, Vazquez-Duhalt R. Suicide inactivation of peroxidases and the challenge of engineering more robust enzymes. *Chemistry & Biology*. 2002;9(5):555-65.
70. Ibáñez SG, Medina MI, Agostini E. Phenol tolerance, changes of antioxidative enzymes and cellular damage in transgenic tobacco hairy roots colonized by arbuscular mycorrhizal fungi. *Chemosphere*. 2011;83(5):700-05.
71. Banerjee S, Shang TQ, Wilson AM, Moore AL, Strand SE, Gordon MP, et al. Expression of functional mammalian P450 2E1 in hairy root cultures. *Biotechnology and Bioengineering*. 2002; 77(4):462-66.



Available online: <https://ijhe.tums.ac.ir>  
Systematic Review Article



## A review on the application of hairy roots in removing phenolic compounds from aqueous solutions

Tahereh Ebrahimi<sup>1</sup>, Khosro Piri<sup>1\*</sup>, Asghar Abdoli<sup>1</sup>, Masoud Tohidfar<sup>2</sup>

1- Department of Biodiversity and Ecosystem Management, Environmental Sciences Research Institute, Shahid Beheshti University (SBU), Tehran, Iran

2- Department of Cell & Molecular Biology, Faculty of Life Sciences & Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

### ARTICLE INFORMATION:

**Received:** 25 February 2023

**Revised:** 13 May 2023

**Accepted:** 17 May 2023

**Published:** 19 June 2023

**Keywords:** Hairy root, Phenol compounds, Phytoremediation

### ABSTRACT

**Background and Objective:** The presence of toxic compounds, including phenol, due to industrial development, poses a threat to the environment. Utilizing hairy roots has emerged as a potential method to remove these toxins. This review aims to explore the efficacy of hairy roots in absorbing phenol pollutants and the influencing parameters.

**Materials and Methods:** This study was conducted using a descriptive-review method based on existing literature gathered from databases such as Science Direct, PubMed, and Google Scholar. The focus of the study was on the purification of phenol using hairy roots. Keywords such as Phytoremediation, Hairy root, Phenol, and Transgenic roots were used for data collection.

**Results:** Results show successful phenol removal by hairy roots, potentially attributed to abundant production of peroxidase enzymes. Various factors, such as hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), incubation time, pH, plant species, and pollutant concentration, impact phenol removal efficiency. Notably, plants like *Brassica napus*, rich in peroxidase enzymes, exhibit high efficiency in removing phenol pollution up to 500 mg/L, with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and within a pH range of 4-9.

**Conclusion:** In conclusion, hairy roots possess significant adsorption capacity for phenol. However, phenol concentration, contact time, pH, and temperature influence their performance. Therefore, further research is required to explore optimal conditions for phenol removal.

**\*Corresponding Author:**

p\_khosro@sbu.ac.ir

Please cite this article as: Ebrahimi T, Piri Kh, Abdoli A, Tohidfar M. A review on the application of hairy roots in removing phenolic compounds from aqueous solutions. *Iranian Journal of Health and Environment*. 2023;16(1):175-94.

