

P-TB06: RESEARCH ON ENHANCING TOLERANCE AND ACCUMULATION OF HEAVY METALS IN XOAN TREE (*MELIA AZEDARACH* L.) VIA GENETIC TRANSFORMATION

Bui Phuong Thao, Pham Bich Ngoc, Le Van Son, Do Tien Phat, Chu Hoang Ha*

Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology

SUMMARY

Recently, much attention has been paid to the possibility of using plants for environmental remediation as a special environmental technology named phytoremediation. However, most of plant species which have been recorded with absorption and removal of As, Ni in contaminated soil and water are shrubs with limited biomass, slow growth, thus limiting the ability to handle heavy metals. To overcome this problem, it requires to develop genetically modified plants in the direction of both increasing the capacity to accumulate heavy metals and producing large biomass. The timbers with suitable characters such as fast-growing, large biomass, wide and deep root system, easy to harvest are considered as potential subjects. In this study, we used *Melia azedarach* L. as a subject to create transgenic plants with increased accumulation of As or Ni by ectopic expression of *ScGSH1* or *PtiIREG2* gene. *GSH1* is the key enzyme in regulating the biosynthesis pathway of glutathione (GSH), one of the main binding peptides involved in chelating heavy metal ions in plants and other living organisms. Otherwise *IREG2* (Iron Regulated Gene) is an important gene directly related to the transportation process of Ni in the root. Two binary transformation vectors pBI121-*ScGSH1* and pUBi83-*PtiIREG2* were constructed and transformed into *Melia azedarach* L. using *Agrobacterium*-mediated method. On the selection medium, 30 lines transformed by pBI121-*ScGSH1* and 44 ones transformed by pUBi83-*PtiIREG2* were generated. These transgenic lines were planted under greenhouse conditions and the presence of the transgenes was confirmed by PCR using specific primers. Of which, 15 lines were positive-PCR for *ScGSH1* gene and that for *PtiIREG2* gene were 12 lines, respectively. Two lines were randomly chosen from each construct and used for *in vitro* As and Ni tolerant tests. As compared to wild-type plant, all selected transgenic lines exhibited significantly better tolerance to As and Ni indicating by longer roots, especially at high concentration treatments. These initial results indicates the important prerequisite for developing timber plants with fast-growth and large biomass for use in phytoremediation efforts.

Keywords: Accumulation, arsenic, *Melia azedarach* L., nickel, tolerance, transformation.

NGHIÊN CỨU TĂNG CƯỜNG KHẢ NĂNG CHỐNG CHỊU VÀ TÍCH LŨY KIM LOẠI NẶNG Ở CÂY XOAN (*MELIA AZEDARACH* L.) THÔNG QUА CHUYỂN GEN

Bùi Phương Thảo, Phạm Bích Ngọc, Lê Văn Sơn, Đỗ Tiến Phát, Chu Hoàng Hà*

Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và công nghệ Việt Nam

TÓM TẮT

Gần đây, việc sử dụng thực vật để xử lý các vấn đề môi trường (phytoremediation) bắt đầu được chú ý. Tuy nhiên, hầu hết các loài thực vật này là các cây bụi, có sinh khối nhỏ, sinh trưởng chậm, vì vậy hạn chế khả năng xử lý kim loại nặng. Để khắc phục điều này đòi hỏi phải phát triển thực vật biến đổi gen theo hướng vừa có khả năng hấp thụ, vừa tạo ra sinh khối lớn. Các loại cây gỗ với khả năng sinh trưởng nhanh, khối lượng lớn, có hệ rễ phát triển sâu và rộng được xem như các đối tượng tiềm năng. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng cây Xoan ta (*Melia azedarach* L.) làm nguyên liệu chuyển gen *ScGSH1* hoặc *PtiIREG2* nhằm tăng khả năng tích lũy As hoặc Ni. *GSH1* là enzyme quan trọng điều hòa sinh tổng hợp glutathione (GSH), một trong những peptide liên kết chính liên quan đến quá trình chelate hóa các ion kim loại nặng. *IREG2* (Iron Regulated Gene) là một gen quan trọng liên quan trực tiếp đến quá trình vận chuyển Ni trong rễ. Hai vector chuyển gen pBI121-*ScGSH1* và pUBi83-*PtiIREG2* đã được thiết kế và chuyển vào cây Xoan ta thông qua vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens*. Qua quá trình chọn lọc bằng kháng sinh, đã thu được 30 dòng cây chuyển cấu trúc pBI121-*ScGSH1* và 44 dòng chuyển cấu trúc pUBi83-*PtiIREG2*. Các dòng này được trồng trong nhà lưới và kiểm tra sự có mặt của gen chuyển bằng PCR. Kết quả cho thấy 15/30 và 12/44 dòng dương tính với gen *ScGSH1* và *PtiIREG2*, tương ứng. Chúng tôi chọn hai dòng cây của mỗi cấu trúc chuyển gen để thử nghiệm khả năng chống chịu As và Ni trong điều kiện *in vitro*. So với WT, tất cả các dòng chuyển gen đều có khả năng chống chịu As(III) và Ni cao hơn với bộ rễ dài hơn, đặc biệt khi xử lý ở nồng độ cao. Những kết quả ban đầu này là tiền đề quan trọng để phát triển các loại cây lấy gỗ có tốc độ sinh trưởng nhanh và sinh khối lớn trong xử lý các vấn đề môi trường.

Từ khóa: Tích lũy, asen, *Melia azedarach* L., niken, chống chịu, chuyển gen.

* Author for correspondence: Tel: +84-2437562790; Email: chuhoangha@ibt.ac.vn