اثر استرس شوری و خشکی در تغییر فعالیت اسید فسفاتاز در کالوس یونجه (*Medicago sativa L*)

• علی اکبر احسان پور و • فریبا امینی، اعضای هیات علمی دانشکده علوم ، گروه زیست شناسی، دانشگاه اصفهان

تاریخ دریافت: تیر ماه ۱۳۸۱ تاریخ پذیرش: مهر ماه ۱۳۸۱

چکیده

آنزیم اسـید فسـفاتاز به طور گسترده در بخش های مختلف گیاهان یافت می شود.این آنزیم به دو صورت داخل سلولی و خارج سـلولی فعالیت های متفاوتی در سـلول انجام می دهد. به عنوان مثال افزایش میزان فعالیت آن در اثر تنش شـوری و خشکی را می توان نام برد. در گیاه یونجه نیز می توان نسبت به ایجاد کالوس مقاوم به خشکی و شوری اقدام نمود. ابتدا کالوسهای یونجه توده یزدی تولید شده از کشت قطعات ساقه در محیط کشت MS حاوی۲,۴D کاینتین و عصاره مخمر تحت تیمار غلظتهای ۰، ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ درصد مانیتول و همچنین غلظتهای ۰، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۸ و ۱ درصد نمک (NaCl) در شرایط Invitro قرار گرفت. اندازه گیری فعالیت آنزیم نشـان دهنده افزایش فعالیت آنزیم اسـید فسـفاتاز بود. همچنین رقم همدانی نسبت به رقم یزدی در استرس شوری تغییرات کمتری نشـان داد.نظیر چنین نتایجی را اسـترس خشکی روی میزان فعالیت اسید فسفاتاز در توده همدانی نشان داد. این مطالعه در مجموع نشان داد که تغییر فعالیت اسید فسفاتاز در استرس شوری و خشکی وابسته به ژنوتیپ است .

کلمات کلیدی :استرس شوری ، استرس خشکی ، اسید فسفاتاز ، یونجه

Pajouhesh & Sazandegi, No 59 .pp:68-73

Effect of salt and drought stress on acid phosphatase activity in alfalfa (*Medicago sativa* L.) callus

by: A.A.Ehsanpour and F.Amini
University of Esfahan ,Dept.of Biology,Esfahan,Iran.

Acid phosphatase is widely found in plants.This enzyme has and extra cellular activity.For instance,salt and drought stress increase its activity.Alfalfa is a plant can be used for production of resistant callus to salt and water stress.When calli were cultured to the medium containing 0,2,4,6,8,10% mannitol and 0,0.2,0.4,0.6,0.8, 1 % NaCl,in both cultivars (Yazdi and Hamedani) the activity of acid phosphatase increased.Cultivar Hamedani showed low activity while cultivar Yazdi had high activity of enzyme.Results showed that activity of acid phosphatase is dependent on genotype.

Keywords:Salt stress,Drought stress,Acid phosphatase,Alfalfa.

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

اسید فسفاتاز (APase) از جمله آنزیم هایی است که به طور گسترده در گیاهان یافت می شود.آنزیم های فسفاتاز اصولاً به دو دسته اصلی آلکالین فسفاتاز و اسید فسفاتاز طبقه بندی می شوند. این طبقه بندی بر اساس pH مطلوب جهت فعالیت کاتالیتیک آنهاست که به ترتیب در بالاتر و پایین تر از pH =۷ صورت می گیرد (۱).علاوه بر این اسید فسفاتاز در گونه های مختلف گیاهی دارای تنوع می باشد و به همین دلیل نقش فیزیولوژیک دقیق و اساسی این آنزیم در گیاهان به طور کامل شناخته نشده است . اهمیت این آنزیم را می توان به تولید ، انتقال و بازیافت (Recycling) فسفر (Pi) نسبت داد(۱۰).در سالهای اخیر ایزوزیم های خاص این آنزیم در نوعی گیاه گوجه فرنگی مقاوم به تنش اتود به عنوان یک مارکر جهت شناسایی ژن Mi مورد توجه قرار گرفته است (۴). اکثر اسید فسفاتازها دارای طبیعت گلیکوزیله هستند و گاهی ژل الکتروفورز به روش non – denaturing چندین باند تشکیل می دهد که مربوط به اختلاف در طول زنجیره گلیکوزیله در مولکول اسید می باشد. البته این موضوع با ایزوزیم های مختلف اسید فسفاز متفاوت است اکثر اسید فسفاتازها به صورت گلیکوپروتئینهای مونومر یا دیمر با وزن مولکولی ۵۰ تا ۶۰ کیلو دالتون می باشند(۱۱).

از آنجایی که احتمالا جذب فسفات به صورت فسفر آلی (Po) از محیط خاک توسط ریشه گیاه بسیار کم می باشد بنابراین برای جذب فسفر بایستی این عنصر از شکل آلی (Po) به فرم فسفر معدنی (Pi) تبدیل شود.این کار توسط آنزیم های فسفاتاز از جمله اسید فسفاتاز صورت می گیرد(۵). از طرف دیگر اسید فسفاتاز در سلولهای گیاهی از نظر محل تجمع به دو دسته تقسیم می شوند:

۱) اسید فسفاتاز داخل سلولی: این نوع اسید فسفاتاز که در سلولهای بذرهای در حال خواب و در حال رویش ، غدد ذخیره ای ،میوه و سلولهای کشت شده در شرایط Invitro یافت می‌شود، اساساً درون واکوئل سلول تجمع می یابد(۵) ولی برخی از پژوهشگران از جمله Sacher و Deleo(۳) معتقدند این نوع اسید فسفاتاز منحصر به واکوئل نبوده بلکه در سیتوپلاسم ، پلاستید و غشاء سلولهای گرهک ریشه سویا نیز یافت می شود.

۲) اسید فسفاتاز خارج سلولی : این نوع اسید فسفاتاز ممکن است در داخل دیواره سلولی تجمع یابد و یا ممکن است توسط ریشه و یا سوسپانسیون سلول به محیط اطراف ریزوسفر ریشه ویا محیط کشت ترشح شود(۵).مطالعات و گزارشاتی که در زمینه نقش اسید فسفاتاز در گیاه در شرایط Invitro منتشر شده است نشان می دهد که اسید فسفاتاز موجود در سلولهای مریستمی ریشه در هیدرولیز و انتقال فسفر آلی خاک به گیاه نقش دارد(۷).همچنین بنظر می رسد اسید فسفاتاز موجود در دیواره سلولهای سوسپانسیون سلولی در تبدیل فسفر استری شده (esterified–p) به فسفر معدنی (Pi) نقش دارد(۸).تنظیم بیان ژن اسید فسفاتاز مانند بسیاری از پروتئینهای دیگر در گیاه توسط عوامل متنوع رشد و نموی و همچنین عوامل محیطی صورت می گیرد. به عنوان مثال جوانه زنی بذر یکی از بهترین موارد رشد و نموی است که به طور مشخص القاء تولید اسید فسفاتاز و آنزیم فیتاز (phytase) را باعث می گردد(۱۱).

گیاه یونجه (*Medicago sativa*) از نظر مرتعی و زراعی بسیار با ارزش است و به شوری محیط خاک نسبتاً مقاوم است .اگرچه برخی از گزارشات بیانگر افزایش میزان فعالیت اسید فسفاتاز در ریشه گیاه *M. polymorpha* تحت شرایط کمبود فسفر می باشد (۶).– Barrrett Lennard و همکاران (۱)معتقدند علاوه بر استرس خشکی ، استرس شوری نیز باعث افزایش فعالیت اسید فسفاتاز می شود.این افزایش فعالیت در دیواره سلولی ، کمپلکس گلژی و واکوئل در گیاه *Pisum sativum* گزارش شده است (۹). در این مطالعه اثر غلظتهای مختلف نمک NaCl (استرس شوری) و مانیتول (استرس خشکی) در تغییر میزان فعالیت اسید فسفاتاز کالوس یونجه در شرایط کشت Invitro بررسی گردید.

مواد و روشها

ابتدا بذرهای یونجه زراعی توده یزدی و رقم همدانی تهیه شده از مرکز تحقیقات منابع طبیعی و امور دام استان اصفهان با استفاده از محلول ۲۰ درصد حجمی هیپوکلریت سدیم به مدت ۲۰–۱۵ دقیقه ضد عفونی سطحی شدند .سپس بذرها با آب مقطر استریل تحت شرایط استریل حداقل ۳ مرتبه شستشو داده شدند و به محیط کشت پایه MS منتقل گردیدند.پس از چهار هفته ، قطعات (۱۰–۸ میلی متر) ساقه گیاه از گیاهچه های جوان رشد یافته تحت شرایط استریل به محیط کشت مولد کالوس منتقل گردیدند

((MS + (Kin (۲mg/lit) + ۲،۴–D (۲mg/lit + NAa(۲mg/lit))

. پس از ۴ هفته کالوسهای ایجاد شده مجدداً در محیط کشت تازه با همان ترکیب هورمونی واکشت گردیدند. پس از مولد کالوس محتوی ۰، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و ۱ درصد نمک NaCl و نیز محیط کشت های حاوی ۰، ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ درصد مانیتول منتقل گردیدند.

برای محاسبه تغییرات میزان فعالیت اسید فسفاتاز در کالوسهای تحت تیمار استرس خشکی و شوری به ترتیب در روزهای ۱ و ۲ هفته بطور تصادفی از هر شیشه و به تعداد ۳ تکرار مقدار ۱ گرم کالوس تازه وزن گردید و در هاون بر روی آن یک میلی لیتر بافر عصاره گیری

(۱۰ درصد) PvP + و(۵ درصد وزن به حجم) و pH =۶/۸)

(Tris–Hcl (۰/۰۲ مولار)+ Triton (۰/۱ درصد) + گلیسرول

اضافه گردید. پس از خردکردن و سائیدن کامل کالوس در دمای ۴ درجه سانتیگراد عصاره ها به لوله سانتریفوژ منتقل و با ۱۰۰۰۰rpm به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتریفوژ گردید .سپس از هر لوله مقدار ۱۰۰ میکرولیتر محلول سطحی جدا و براساس روش معرفی شده توسط زیست شیمی به شماره کاتالوگ ۵۰۱–۱۵ فعالیت اسید فسفاتاز کل اندازه گیری شد. در این روش اسید فسفاتاز با P-NPP (P-nitrophenyl phosphate واکنش $P\text{-}NPP + H_2O \rightarrow Nitrophenol + Pi$ را کاتالیز می کند. این واکنش

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱: نتایج مقایسه میانگین میزان فعالیت اسید فسفاتاز (واحد بر گرم وزن تر کالوس)رقم یزدی به روش آزمون دانکن.

مانیتول درصد	هفته اول Apase	هفته دوم Apase	نمک درصد	هفته اول Apase	هفته دوم Apase
۰	۳۵/۳۴۳B	۱۴/۱۳A	۰	B ۳۵/۳۴۳	A ۱۴/۱۳
۲	۸۹/۰۷۵D	۸۶/۵۷۵D	۰ /۲	D ۸۷/۳۷۳	D۸۷/۰۵
۴	[illegible]	۸۷/۲۳D	۰ /۴	C ۷۱/۷۱۵	D ۸۷/۷۴۵
۶	[illegible]۷۳D	۸۶/۲۳D	۰ / ۶	D۸۸/۲۶۳	D ۸۷/۴۴۵
۸	۶۶/۴[illegible]C	۸۵/۲۴۵Bd	۰ /۸	D۸۸/۸۷۳	D ۸۷/۷۳۵
۱۰	[illegible]۷/۵۸۰D	۸۶/۱۴[illegible]d	۱	D۸۸/۶۲۳	D ۸۷/۲۰

* حروف غیر مشابه بیانگر معنی دار بودن است (۰/۰۵ > p) .

جدول ۲-نتایج مقایسه میانگین فعالیت اسید فسفاتاز (واحد بر گرم وزن تر کالوس) رقم همدانی به روش زمـ[illegible]کن.

مانی‌تول (درصد)	هفته اول	هفته دوم	نمک درصد	هفته اول	هفته دوم
۰	۳۵/۳۴۳b	۸۷/۹۱bd	۰	۸۶/۴۳b	۸۷/۹۱a
۲	۸۹/۰۷۵d	۸۶/۵۹۳bd	۰/۲	۷۸/[illegible]۱۵a	۸۶/۰۸۷a
۴	۸۵/۹۰۷d	۸۵/۳۰bd	۰/۴	[illegible]۰/۴۷c	۸۵/۳۶۳b
۶	۸۷/۷۷۳d	۸۴/۲۹c	۰/۶	۸۱/۰۸۷c	۸۶/۶۸۳b
۸	۶۶/۴۶۳c	۸۴/۵۱c	۰/۸	۸۴/۷۶c	۸۶/۳۶۰b
۱۰	۸۷/۵۸۰d	۸۶/۶۸۵bd	۱	۸۷/۲۴۷a	۸۵/۵۰۷b

× حروف مشابه بیانگر معنی دار بودن است (P <۰/۰۵) .

Archive of SID

www.SID.ir

پس از ۳۰ دقیقه با محلول ۰/۲۵ مولار NaOH متوقف و فعالیت اسید فسفاتاز توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۰۵ نانومتر اندازه گیری شد و پس از محاسبه براساس واحد(Unit) آنزیم در گرم وزن تر کالوس گزارش گردید.

نتایج

بررسی و اندازه گیری میزان فعالیت اسید فسفاتاز در کالوسهای تحت تنش شوری و خشکی تغییرات قابل توجهی نشان داد. این تغییرات در رقم یزدی بسیار محسوس تر از رقم همدانی بود. در رقم یزدی کالوسهای تحت استرس شوری و خشکی نسبت به شاهد (بدون شوری و خشکی)میزان فعالیت اسید فسفاتاز افزایش یافت (شکل ۱ و جداول ۱و۲) .

در رقم یزدی تحت تأثیر استرس شوری میزان فعالیت اسید فسفاتاز بطور کلی با افزایش غلظت نمک بطور نسبی افزایش یافت و اختلاف آن با شاهد معنی دار بود.افزایش فعالیت اسید فسفاتاز پس از یک هفته تیمار با نمک نسبت به دو هفته تنش نمکی تغییر محسوسی نشان نداد آنها در غلظت ۰/۴ درصد نمک کاهش و سپس در غلظتهای بالاتر نمک افزایش یافت. در رقم همدانی فعالیت اسید فسفاتاز نسبت به شاهد در هفته اول تغییرات کمی نشان داد. با افزایش غلظت نمک از ۰/۴ تا ۰/۶ درصد اسید فسفاتاز کاهش ،ولی با افزایش غلظت از ۰/۶ درصد به۱ درصد میزان فعالیت اسید فسفاتاز افزایش یافت .پس از هفته دوم تنش میزان تغییرات فعالیت اسید فسفاتاز کم و نامحسوس بود و از نظر آماری نیز معنی دار نبود (شکل b – ۱)

بررسی اثر خشکی روی میزان فعالیت اسید فسفاتاز نیز کم و بیش مشابه نتایج اثر شوری مشاهده گردید.رقم یزدی پس از یک و دو هفته تنش شوری نسبت به شاهد فعالیت اسید فسفاتاز بطور معنی داری افزایش یافت(شکل c–۱).این در حالی است که در هفته اول در غلظت ۸ درصد مانیتول کاهش فعالیت اسید فسفاتاز مشاهده گردید، سپس در ۱۰ درصد مانیتول فعالیت این آنزیم مجددا افزایش یافت ،ولی در هفته دوم تغییرات زیادی نشان نداد. در مقابل ،در رقم همدانی سطح اولیه اسید فسفاتاز در محیط فاقد مانیتول و همچنین محیط فاقد نمک نسبت به رقم یزدی بالاتر بود(حدود۹۰ واحد بر گرم وزن تر کالوس).در رقم همدانی با افزایش غلظت مانیتول محیط کشت در هفته اول فعالیت اسید فسفاتاز کمی افزایش یافت ولی در هفته دوم کم و بیش میزان فعالیت این آنزیم کاهش مختصری پیدا کرد به طوریکه در غلظت ۱۰ درصد مانیتول اختلاف معنی داری نسبت به سایر غلظتها در فعالیت آنزیم مشاهده گردید.

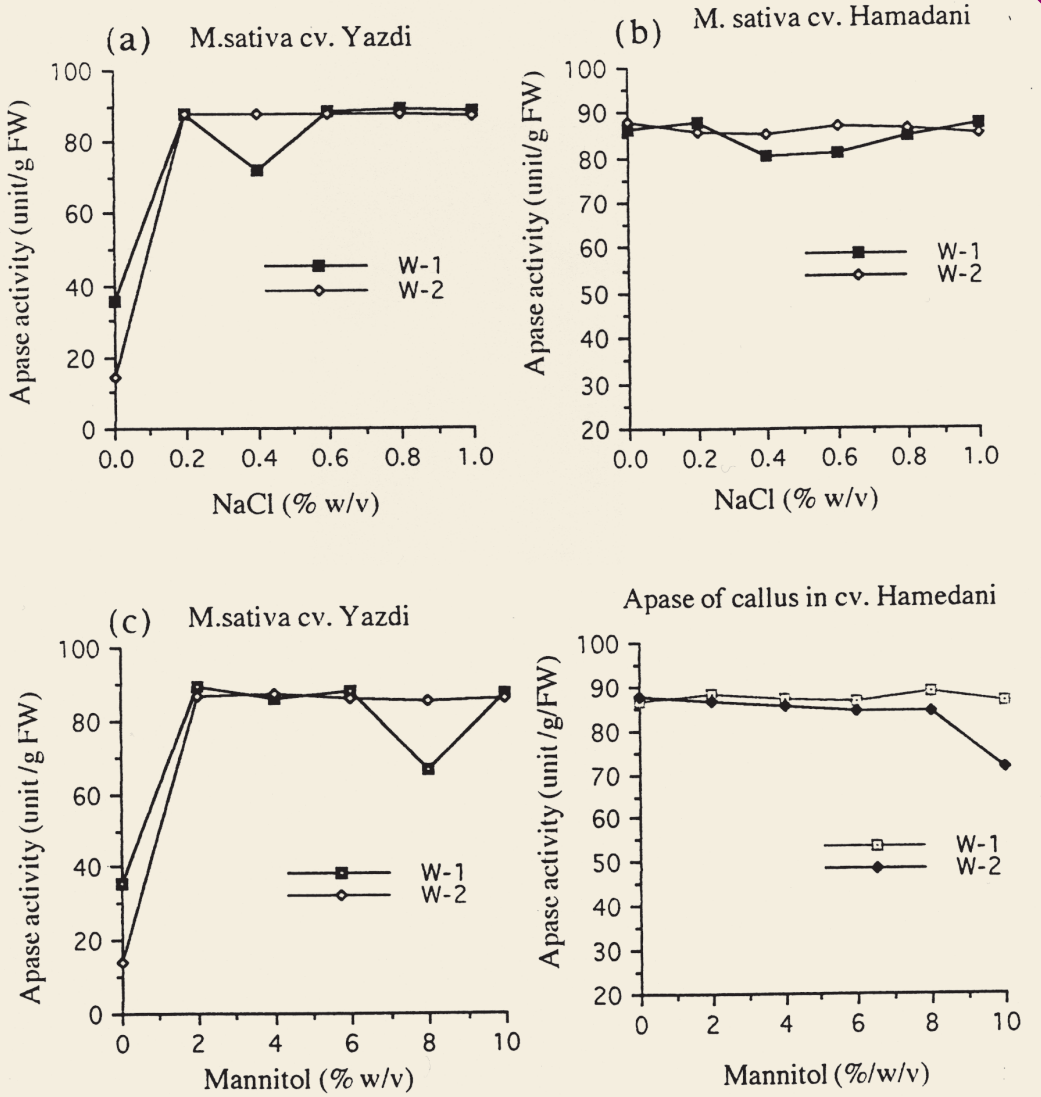
بحث

اصولا قرارگرفتن سلول های گیاهی در معرض خشکی و شوری در شرایط Invitroو Invivo و سازگاری سلول با این تنش ها روی فیزیولوژی و بیوشیمی سلول در سطوح مختلف اثر می گذارد. اثر اسید فسفاتاز برروی سلولهای کشت شده تحت استرس شوری توسط برخی از پژوهشگران گزارش شده ولی به هر حال نقش این آنزیم در سلولهای گیاهی بطور کامل شناخته نشده است .اصولا اسید فسفاتاز در شرایط تنش شوری وظیفه حفظ سطح Pi را بعهده دارد که این کار با تبدیل فسفر استری شده به Pi صورت می گیرد و مجددا Pi به آسانی جذب سلولهای کالوس می شود(۶). برخی گزارشات حاکی از کاهش میزان جذب فسفات در شرایط تنش شوری در کالوس برخی از رقم های گندم می باشد(۱۲). در نتایج بدست آمده از این تحقیق ، در کالوسهای رقم یزدی در غلظتهای ۰/۲ تا ۱ درصد نمک (NaCl) نسبت به محیط کشت بدون نمک فعالیت اسید فسفاتاز به طور معنی داری افزایش یافت . اگرچه میزان اسید فسفاتاز این کالوسها کاهش مختصری در ۰/۴درصد نمک نشان داد ولی در مجموع برآیند میزان فعالیت اسید فسفاتاز در استرس شوری سیر صعودی طی نمود . این نتایج مشابه نتایج حاصل از تنش شوری در سلولهای برگ گیاه برنج است که در ۰/۴ مولار نمک افزایش چشمگیر میزان فعالیت اسید فسفاتاز نسبت به شرایط بدون شوری گزارش شده است (۲). در رقم همدانی سطح اسید فسفاتاز در کالوس های شاهد و کالوس های تحت تنش هر دو نسبت به رقم یزدی بالاتر بوده و از نظر فعالیت اسید فسفاتاز این رقم تغییر محسوسی را نشان نداد.مقایسه میزان فعالیت اسید فسفاتاز بعد از یک هفته تنش ، گویای این موضوع است که با تأثیر تنش شوری رقم یزدی افزایش میزان فعالیت اسید فسفاتاز را تا حدود ۸۵ واحد بر گرم وزن تر نشان می دهد و این میزان طی دو هفته در سطح بالایی باقی می ماند و از فعالیت آنزیم کاسته نمی شود. این پدیده در رقم همدانی نیز مشاهده می شود با این تفاوت که استرس شوری تأثیر چندانی روی میزان فعالیت اسید فسفاتاز نداشته و میزان فعالیت این آنزیم در هر دو حالت تنش و بدون تنش بالامی باشد. مشاهده این پدیده به خوبی گویای این موضوع است که عکس العمل سلولهای گیاهی به شرایط کشت بافت ،تنش شوری و میزان مقاومت ، پایداری و حساسیت آنها به شرایط محیطی کاملا وابسته به نوع گیاه ، جنس گونه و اصولا ژنوتیپ است.چه بخشی از فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز مربوط به اسید فسفاتاز خارج سلولی (Extra cellular) است بنابراین ممکن است میزان این نوع فسفاتاز در رقم همدانی کمتر و در رقم یزدی بیشتر بوده باشد و به دلیل وابستگی ساختار دیواره سلولی به ژنوتیپ گیاه طبیعتاً ساختار دیواره آنها نیز متفاوت است .بنابراین امکان چنین تغییراتی را میسر ساخته است . به هر حال قبل از اینکه بطور دقیق اختلاف ساختمان دیواره سلولهای این دو نوع کالوس از نظر بیوشیمیایی مشخص گردد نمی توان در این باره اظهار نظر قطعی نمود و این موضوعی است که در آینده بایستی بیشتر مورد آزمایش قرار گیرد.

همانطور که قبلاً ذکر گردید علاوه بر تنش شوری ، تنش خشکی نیز در افزایش فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز موثر است و در اثر تنش خشکی فعالیت آن افزوده می شود.در صورتی که نتایج ارائه شده در شکل ۱ مربوط به اثر شوری و خشکی روی فعالیت اسید فسفاتاز مقایسه شوند، مشاهده می گردد که تقریباً استرس شوری و خشکی اثرات کم و بیش مشابهی در فعالیت اسید فسفاتاز داشته است یعنی افزایش مانیتول به عنوان عامل استرس اسموتیک موجب افزایش معنی دار اسید فسفاتاز در رقم یزدی شده ولی در رقم همدانی تغییر محسوسی ایجاد نکرده است . این یافته خود تأکیدی است بر اینکه پاسخهای گیاهان به استرس در شرایط Invitro مستقل از ژنوتیپ نیست.برخی از پژوهشگران اختلاف فعالیت اسید فسفاتاز را به جذب

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱ : اثر استرس شوری و خشکی روی میزان تغییرات فعالیت اسید فسفاتاز در کالوس یونجه رقم همدانی و یزدی در شرایط کشت این ویترو. علائم به ترتیب عبارتند از:

(W-1): پایان هفتهٔ اوّل

(W-2): پایان هفتهٔ دوم

(a) : اثر استرس شوری در کالوس رقم یزدی

(b) : اثر استرس شوری در کالوس رقم همدانی

(c) : اثر استرس خشکی در کالوس رقم یزدی

(d) : اثر استرس خشکی در کالوس رقم همدانی

www.SID.ir

فسـفر نسبت می‌دهند. ممکن است واقعاً این موضوع در نتایج بدست آمده در آزمایشـات ما نیز موثر بوده باشـد(طبیعتاً در آینده بایستی دقیق بررسی شـود). ولی برخی از مـدارک علمی دلالت بر عدم دخالـت نقل و انتقال و مصرف فسفر و فعالیت اسید فسفاتاز دارد.به عنوان مثال مشاهده شده وقتی ماده متیل جاسـمونات (MJ) به محیط کشـت برگ گیـاه برنج اضافه می گردد بدون تغییر در میزان فسفر فعالیت اسید فسفاتاز افزایش می یابد(۱۲). همچنین در گزارش دیگری Barrett–Lennard و همکاران (۱)به وضوح مشـاهده نمودند اسـترس خشـکی و شـوری موجب افزایش فعالیت اسید فسفاتاز می شود ولی این افزایش فعالیت آنزیم همراه با کاهش میزان فسفر محیط خارج و یا داخل سلول نیست .به هر حال در مجموع می توان گفت افزایش فعالیت اسـید فسفاتاز در ژنوتیپ های مختلف یکسان نیست و ثانیاً در سلولهای کالوس یونجه در رقم مورد مطالعه در این پژوهش احتمالاً پس از یک هفته و با افزایش غلظت شـوری و خشـکی به یک حد آستانه پایدار رسـیده که از آن به بعد به مدت دو هفته آنزیـم تقریبا فعالیت خود را حفظ می کند.

قدردانی

این مقاله بخشـی از طرح پژوهشـی به شـماره ۸۰۰۳۰۴ می باشد که بدینوسـیله از معاونت محترم پژوهشی دانشـگاه اصفهان قدردانی و تشکر می گردد.

منابع مورد استفاده

1-Barret-Lennard,E.G. ,A.D.Robson and H. Greenway, 1982. Effect of phsophorus deficiency and water deficition phosphatase activites from wheat leaves.J.Exp.Bot.33,682-693.

2- Chiung- Yueh ,S.and K.Ching-Hvei, 1998. Induction of acid phosphatase in detached rice leaves under stress conditions.Bot .Bull.Head.Sin.39,29-32.

3- De,Leo ,P.and J.A. Sacher, 1970.Control of ribonuclease and phosphatase by auxin and abscisic acid during senescence of Rhoeo leaf sections.plant physiol 46,806-811.

4- Ehsanpour,A.A.and M . G. k. jones, 1996; Glucuronidase expression in transgenic tobacco roots with a parasponia promoter on infection with *Meloidogyne Javanica*.Journal of Nematology,28,407-413.

5- Julie ,E.H.,R.J.Simpson and A.E.Richardson, 2000; The growth and phsphorus utilisation of plants in sterile media when supplied with inositol hexaphosphate glucose- 1-phosphate or inorganic phosphate.Plant and soil 220,165-174.

6- Juhie,E.H.,A .E. Richardson and R.J.Simpson, 1999; phytase ans acid phosphatase activites in extracts from roots of temperate pasture grass and legume seedlings.Aus.Plant. Physiol.26,801-809.

7- Lee,R .B. 1988; Phosphate influx and extracellular phsophatase activity in barely roots and rose cells.New Phytol 109,141-148.

8- Lefebvre,D.D.,S.M.G.Duff,C,Fife,C.Julien-Inalsingh and W. C.Plaxton,1990; Response to phosphate deprivation in Brassica nigra suspension cells.Enhancement of intracellular,cell surface and secreted phosphatase activities compared to increase in Pi-absorption rate.Plant Physiol.93,504-511.

9-Olmose,E.and E.Hellin, 1997; Cytochemical localization of ATPase plasma membrane and acid phosophatase by cerium based method in a salt-adapted cell line of *Pisum sativum*.J.Exp.Bot.48,1529-1535.

10- Randall,D. d. and N.E., Tolbert, 1971.3-phosphoglycerate phosphatase in plants .I Isolation and characterization from sugercane leaves.J.Biol.Chem.246,5510-5517.

11- Stephen,M. G. S. M. G. Duff and W. C. Plaxton. 1994; The role of acid phosphatases in plant phsophorous metabolism.Physiol.Planta.90,800-971.

12- Szabo- Nagy,A. G. Galiba and L. Erdei, 1992; Induction of soluble phosophatases under ionic and non ionic osmotic stress in wheat.Journal of plant physiol.140,629-633.

Archive of SID

www.SID.ir