ژنتیک نوین
دوره پانزدهم، شماره ۱، بهار ۱۳۹۹
صفحه ۱۰-۱

تأثیر تخریب ژن دو آنزیم فسفاتاز AtPAP17 و AtPAP26 بر طول دوره رشد و گلدهی گیاهان *Arabidopsis thaliana*

Effect of Two Phosphatase AtPAP17 and AtPAP26 Gene Knock-out on Growth Period Duration and Flowering in *Arabidopsis thaliana*

سیامک فرهادی[۱]، محمدصادق ثابت*[۱]، احمد معینی[۱]، محمدعلی ملبوبی[۲]

۱- به‌ترتیب دانشجوی دکتری، استادیار، دانشیار، گروه ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۲- استاد، پژوهشکده زیست فناوری کشاورزی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران

Farhadi S[1], Sabet MS*[1], Moieni A[1], Malboobi MA[2]

1. PhD Student, Assistant Professor, Associate Professor, Department of Plant Genetics and Breeding, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2. Professor, Department of Agricultural Biotechnology, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: ms.sabet@modares.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۲/۲۶ - تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۷/۱۳)

چکیده

دسترسی گیاهان به عناصر غذایی از جمله فسفر علاوه بر افزایش عملکرد می‌تواند سبب افزایش سرعت رشد و در نتیجه کاهش طول دوره رشدی گیاهان شود. از این رو، شناسایی و افزایش بیان ژن‌هایی که در تحقق این امر مؤثرند گامی مهم در اصلاح گیاهان به‌منظور ایجاد تحمل به تنش‌های محیطی به‌ویژه تنش‌های آخر فصل خواهد بود. اسیدفسفاتازهای ارغوانی (PAP) یکی از مهم‌ترین خانواده اسیدفسفاتازها می‌باشند که در افزایش دسترسی گیاهان به فسفر نقش برجسته‌ای ایفا می‌کنند. در مطالعه حاضر، اثر تخریب و بیش‌بیان دو ژن *AtPAP17* و *AtPAP26* بر برخی صفات فیزیولوژیک و فنولوژیک آرابیدوپسیس در شرایط فسفات کافی (۱/۲۵ mM KH_2PO_4) و تنش بدون فسفات (۰ mM KH_2PO_4) مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور گیاهان جهش‌یافته منفرد و جهش‌یافته دوگانه دو ژن مذکور مورد مطالعه قرار گرفتند. هم‌چنین به‌منظور تأیید نتایج حاصل از بررسی نقش ژن‌های مذکور در گیاهان جهش‌یافته، گیاهان دارای مناطق رمزکننده دو ژن مذکور تحت پیش برنده CaMV-35S به‌عنوان گیاهان بیش‌بیان (OE) مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاصل بیانگر افزایش معنی‌دار بیوماس و محتوای فسفر گیاهان جهش‌یافته منفرد در مقایسه با جهش‌یافته دوگانه در شرایط فسفر کافی بود. برتری گیاهان جهش یافته منفرد در مقایسه با جهش‌یافته دوگانه سهم قابل‌توجه دو ژن *AtPAP17* و *AtPAP26* در شبکه جبرانی فسفاتازی گیاهان آرابیدوپسیس را به‌خوبی نشان داد. بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه بیان حداقل یکی از ژن‌های *AtPAP17* و *AtPAP26* به‌منظور دسترسی بیشتر به فسفر و رشد سریع گیاهان ضروری است. هم‌چنین نتایج حاکی از افزایش معنی‌دار محتوای فسفر، سرعت و درصد گلدهی و بیوماس گیاهان بیش بیان این دو ژن نسبت به گیاهان طبیعی بود. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که ژن‌های *AtPAP17* و *AtPAP26* می‌توانند کاندیداهای مهمی در راستای اصلاح گیاهان با توانایی بالا در جذب و تأمین سریع مواد غذایی به‌ویژه فسفر و در نتیجه کاهش طول دوره رشدی گیاهان باشند.

واژه‌های کلیدی

اسیدفسفاتازهای ارغوانی
فسفر
فعالیت فسفاتازی
گلدهی

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-28]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.1.7.8]

مقدمه

یکی از مهم‌ترین عوامل کاهش عملکرد در گیاهان، مواجه شدن فصل رشدی گیاه (دوره رشد زایشی) با تنش‌های محیطی آخر فصل می‌باشد که این تنش‌ها سالانه خسارات جبران‌ناپذیری به محصولات زراعی و باغی وارد می‌کنند. بی‌تردید دسترسی به گیاهانی که قادر به سپری نمودن سریع‌تر دوره رشدی با حفظ عملکرد باشند به‌عنوان استراتژی مهم در راستای کاهش اثرات این تنش‌ها ضرورت می‌یابد. فسفر به‌عنوان یکی از عناصر مؤثر در رشد گیاهان، نقش کلیدی در تسریع رشد زایشی گیاهان دارد (Petraglia et al. 2014)، از این رو افزایش قابلیت دسترسی به این عنصر، تکمیل سریع‌تر فاز زایشی و در نتیجه کاهش طول دوره رشدی گیاهان را به دنبال خواهد داشت. هم‌چنین با توجه به اینکه همه واکنش‌های حیاتی سلول زنده وابسته به تأمین فسفر است (Del Pozo et al. 1999; Vance et al. 2003; Tran et al. 2010)، اختلال در جذب و دسترسی به آن با اختلال در رشد گیاهان همراه می‌باشد. با وجود اهمیت بالای فسفر، دسترسی گیاه به آن در خاک‌ها با محدودیت مواجه است، چرا که علی‌رغم فراوان بودن میزان آن در پوسته زمین، این عنصر اغلب به شکل مواد معدنی غیر محلول بوده و گیاهان قادر به استفاده از آن‌ها نمی‌باشند (Schachtman et al. 1998; Richardson et al. 2009)، تا آنجا که عدم دسترسی گیاه به فسفر کافی یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده تولید محصولات کشاورزی می‌باشد (Shen et al. 2011). تأمین این عنصر با مصرف بی‌رویه نهاده‌های برون مزرعه‌ای از جمله کودهای شیمیایی در دراز مدت علاوه بر جنبه‌های اقتصادی و افزایش هزینه‌های تولید محصول، تخریب خاک و آلودگی‌های زیست محیطی را به‌همراه خواهد داشت (Malboobi et al. 2012, 2014). از دیگر راهکارها، شناسایی و یا ایجاد گیاهانی است که توانایی بالاتری در رهاسازی و تأمین فسفر از خاک و استفاده بهینه از فسفر جذب شده را داشته باشند. با توجه به محدودیت‌ها و مشکلات مطرح شده، اولین و مهم‌ترین گام در نیل به این اهداف شناسایی ژن‌های مؤثر و کارآمد در این راستا می‌باشد.

القای اسیدفسفاتازها (APase) پاسخ عمومی به تنش کمبود Pi در گیاهان است. اسیدفسفاتازها هیدرولیز فسفومنواسترها و انیدریدها را به فسفات در دامنه pH اسیدی تسریع می‌کنند. عملکرد اسیدفسفاتازها تولید، انتقال و بازیابی فسفات به‌عنوان یک درشت‌مغذی مهم برای متابولیسم سلولی و تولید انرژی زیستی سلول می‌باشد. از بین مجموعه اسید فسفاتازها، اسیدفسفاتازهای ارغوانی (PAP) به‌دلیل نقش بسزایی که در رهاسازی فسفات دارند (Plaxton 2004; Wang and Liu 2018) کاندیداهای مهمی در راستای اصلاح گیاهان با توانایی بالا در دسترسی و تأمین سریع‌تر فسفر می‌باشند.

خانواده اسیدفسفاتازها در آرابیدوپسیس به‌عنوان شبکه پیچیده و هماهنگ ژنی، نقش اصلی در حفظ هومئوستازی فسفات درون سلولی گیاه را بر عهده دارد (Plaxton and Tran 2011). بر اساس مطالعات ژنومی و توالی‌یابی، ۵۸ اسیدفسفاتاز در آرابیدوپسیس شناسایی شده‌است که ۲۹ عدد از آن‌ها به خانواده ژنی اسیدفسفاتازهای ارغوانی (PAP) تعلق دارند (Li et al. 2002). در بررسی عملکرد برخی از این ژن‌ها با روش‌های مختلف صورت گرفته است (Lohrasebi et al. 2007; Zamani et al. 2012; Wang et al. 2014; Zamani et al. 2014; Ghahremani et al. 2018; Sabet et al. 2018). یکی از اسیدفسفاتازهای ارغوانی آرابیدوپسیس، *AtPAP17* (*AtACP5*) می‌باشد که بیشتر رونوشت‌های آن در ریشه‌ها و برگ‌های گیاهان رشد یافته در شرایط کمبود فسفر (Pi–) شناسایی شده است (Del Pozo et al. 1999). علاوه بر تنش کمبود فسفات، بیان ژن *AtPAP17* توسط آبسزیک اسید (تنش شوری) و تنش اکسیداتیو نیز القا می‌شود (Lu et al. 2008). فعالیت اسیدفسفاتازی و پراکسیدازی *AtPAP17* نشان‌دهنده‌ی این است که این آنزیم علاوه بر چرخش Pi در خلال تنش کمبود فسفات، در متابولیسم ROS[1] در خلال پیر شدن برگ‌ها نیز مشارکت دارد (Veljanovski et al. 2006). آنزیم AtPAP26 از جمله دیگر اسیدفسفاتازهای ارغوانی آرابیدوپسیس می‌باشد که با فعالیت در ریزوسفر و جاروب فسفات از مخازن فسفر خاک و همچنین بازیافت فسفر به گیاه کمک می‌کند (Robinson et al. 2012). علاوه بر این به‌عنوان اسیدفسفاتاز اصلی داخلی (واکوئلی)، در بازجذب فسفات درون سلولی در تنش کمبود فسفات و همچنین در تحرک مجدد

[1] Reactive Oxygen Species; ROS

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-28]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.1.7.8]

فسفات از منبع فسفات آلی در برگ‌های پیر دخالت دارد (Robinson et al. 2012). از سوی دیگر، آنزیم‌های AtPAP17 و AtPAP26 در ساختار و معماری ریشه نقش داشته و افزایش بیان این دو ژن، گسترش مناطق دسترسی گیاه به مواد مغذی را در پی دارد (Farhadi 2015). تشکیل ریشه‌های خوشه‌ای سبب ترشح مقادیر زیادی اسیدهای آلی به محیط ریشه شده که سبب اسیدی شدن خاک و کلاته شدن یون‌های فلزی اطراف ریشه می‌شوند و این عمل حرکت فسفر و برخی از ریزمغذی‌ها را به دنبال دارد (Schachtman et al. 1998). بنابراین گسترش و پراکندگی ریشه در خاک با افزایش قابلیت دسترسی گیاه به مواد و عناصر متعددی از جمله فسفر، علاوه بر افزایش عملکرد می‌تواند منجر به افزایش سرعت رشد و در نهایت کاهش طول دوره رشدی گیاهان شود. در تحقیق حاضر، نقش و عملکرد اسیدفسفاتاز ارغوانی *AtPAP17* و *AtPAP26* در تأمین فسفر و طول دوره رشدی گیاهان آرابیدوپسیس مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش از گیاهان طبیعی (WT) آرابیدوپسیس تالیانا اکوتایپ کلمبیا (Col-0) و لاین‌های جهش‌یافته منفرد دارای درج قطعه T-DNA در ژن‌های *AtPAP17* (SALK-097940) و *AtPAP26* (SALK-152821) استفاده شد. به‌منظور بررسی تأثیر تخریب همزمان دو ژن *AtPAP17* (AT3G17790) و *AtPAP26* (AT5G34850)، از گیاهان جهش‌یافته دوگانه (*atpap17/atpap26*) حاصل از تلاقی جهش‌یافته‌های منفرد استفاده شد (Farhadi 2015). شناسایی و تایید هموزیگوسیتی لاین‌های جهش‌یافته منفرد و همچنین دوگانه با انجام واکنش PCR با استفاده از DNA استخراجی از گیاهان مذکور و آغازگرهای اختصاصی ژن‌های *AtPAP17* و *AtPAP26* و همچنین آغازگر اختصاصی LBb1 مربوط به قطعه T-DNA درج شده در این ژن‌ها صورت گرفت. همچنین در این تحقیق جهت بررسی تأثیر افزایش بیان دو ژن *AtPAP17* و *AtPAP26*، گیاهان تراریخت دارای CDS دو ژن *AtPAP17* و *AtPAP26* تحت پیش برنده CaMV-35S به‌عنوان گیاهان بیش‌بیان (OE) ژن‌های مذکور مورد مطالعه قرار گرفتند (Sabet 2011; Jamali 2014). بذور گیاهان مورد بررسی پس از استریل سطحی و کشت روی محیط کشت MS، به‌منظور یکنواختی و همزمان‌سازی جوانه زنی به مدت ٤٨ h در دمای ٤ ºC و تاریکی قرار گرفتند. بعد از این مدت به اتاقک رشد با دمای ٢٥ ºC و هم‌چنین دوره نوری ١٦ h روشنایی و ٨ h تاریکی منتقل شدند. سپس گیاهچه‌های هفت روزه به مدت ١٤ روز به محیط‌های MS دارای فسفر کافی (mM ١/٢٥ KH_2PO_4) و بدون فسفر (٠ mM KH_2PO_4) انتقال داده شدند. در شرایط بدون فسفر، KH_2PO_4 با KCl با غلظت یکسان (١/٢٥ mM) جایگزین شد. گیاهچه‌های ٢١ روزه رشد یافته در شرایط فسفر کافی (Pi+) و بدون فسفر (Pi-) جهت مطالعات بعدی در فریزر ٨٠ ºC – نگهداری شدند.

به‌منظور بررسی بیان ژن‌های مورد مطالعه، RNA کل از گیاهان تحت تیمار فسفات با استفاده از کیت RNXTM (-plus) شرکت سیناژن استخراج شد. پس از بررسی کمیت و کیفیت RNA توسط نانودراپ و الکتروفورز ژل آگارز، جهت حذف آلودگی احتمالی RNA استخراجی با DNA ژنومی، تیمار DNase نمونه‌های RNA با DNase عاری از RNase (Roche biochemical) طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. در نهایت ساخت cDNA با استفاده از آنزیم نسخه بردار معکوس شرکت Fermentas (M-MLV reverse transcriptase) و بررسی بیان ژن‌های مورد مطالعه به روش semi-qRT-PCR و با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ژن‌های *AtPAP17* و *AtPAP26* (جدول ١) بر اساس مطالعات قبلی (Zamani et al. 2014; Sabet et al. 2018) صورت گرفت. همچنین از ژن آلفا توبولین (At4g14960) به‌عنوان ژن کنترل داخلی با توالی آغازگرهای ذکر شده در جدول ١ استفاده شد. اندازه‌گیری فسفر کل گیاهان مورد مطالعه به روش (1966) Ames با کمی تغییرات صورت گرفت (Ames 1966). بدین منظور mg ٥٠ بافت تازه در لوله‌های آزمایش با محلول ١٠٪ نیترات منیزیم (در اتانول ٩٥٪) مخلوط و به حجم نهایی ml ١/٥ رسانده شد. سپس لوله‌های آزمایش روی شعله تا خاکستر شدن مواد گیاهی داخل آن و ناپدید شدن کف‌های قهوه‌ای رنگ قرار گرفت.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-28]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.1.7.8]

جدول ۱- آغازگرهای مورد استفاده برای بررسی بیان ژن‌های *AtPAP17* و *AtPAP26* در گیاهان مورد مطالعه

نام ژن	نام آغازگر	توالی آغازگر (3′–5′)	طول قطعه تکثیری (bp)
α-tubulin	Tub F	GCTTTCAACACCTTCTTCAG	883
	Tub R	GAATAGTTCGCTTGGTCTT	
PAP17	AP29 F	CGAGTCTGAGTTTGCTGTTGT	544
	AP29 R	ACATAAGAGTTGCGAGATGGAAC	
PAP26	UniPAP26 F	ATAGGCGATATGGGTCAGACATTC	319
	UniPAP26 R	CAGCGTACCAAAGAGGACTGCTAC	

پس از سرد شدن لوله‌های آزمایش، مقدار µl ۵۰۰ پرکلریک اسید ($HClO_4$) به آن‌ها اضافه شد و به مدت h ٢٤ در دمای اتاق انکوبه شدند. به‌منظور هیدرولیز شدن پیروفسفات‌های موجود در خاکستر تولید شده، لوله‌های آزمایش به مدت min ٦٠ در حمام آب در حال جوش قرار داده شدند و سپس با آب دو بار تقطیر به حجم نهایی ml ۲ رسانده شد. مقدار µl ۵۰ از مخلوط حاصل با µl ۲۵۰ آب دو بار تقطیر و µl ۷۰۰ از معرف سنجش فسفات (یک حجم اسید آسکوربیک ۱۲٪ و شش حجم آمونیوم هپتامولیبدات ۰/٤۲٪ در اسید سولفوریک یک نرمال) مخلوط و به مدت min ۲۰ در دمای ^{o}C ٤٥ انکوبه شد. میزان فسفر نمونه‌ها در طول موج nm ۸۲۰ و بر اساس منحنی استاندارد فسفر (KH_2PO_4) اندازه‌گیری و به‌صورت micromoles of Pi/g fresh weight (FW) گزارش شد.

به‌منظور اندازه‌گیری درصد گلدهی در گیاهان مورد مطالعه، تعداد کل گل‌های تشکیل شده گیاهان مربوط به هر ژنوتیپ در روز ۲۱ شمارش شد. هم‌چنین زمان ظهور اولین گل تشکیل شده به‌عنوان روز گلدهی ژنوتیپ‌ها ثبت شد. اندازه‌گیری بیوماس تر اندام هوایی گیاهان ۲۱ روزه رشد یافته در شرایط فسفر کافی و بدون فسفر انجام گرفت.

به‌منظور اندازه‌گیری محتوای کلروفیل کل مقدار mg ۱۰۰ از بافت تر برگ با استفاده از نیتروژن مایع پودر شد. سپس مقدار ml ۵ استون ۸۰٪ به هر نمونه اضافه و با دور g ۲۰۰۰ به مدت min ۱۵ سانتریفیوژ شدند. جذب مایع روشناور در طول موج‌های nm ٦٦٣ و nm ٦٤٥ توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. در نهایت محتوای کلروفیل کل بر حسب $mg\ g^{-1}$ وزن‌تر (FW) نمونه محاسبه شد (Lichthentaler 1987).

محتوای آنتوسیانین برگ به روش Nakata and Ohme-Takagi (2014) با کمی تغییرات انجام شد. مقدار ml ۲ از بافر استخراج (متانول حاوی ۱٪ استیک اسید) به mg ۵۰ بافت پودر شده اضافه و سپس به مدت min ۵ در دور g ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شد. محلول رویی به ویال جدید منتقل و به مدت min ۵ در دور g ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شد. در نهایت جذب محلول رویی در طول موج‌های ۵۳۰ و nm ٦٥٧ اندازه‌گیری شد و مطابق فرمول زیر محتوای آنتوسیانین محاسبه و به‌صورت A530/g FW گزارش شد (Nakata and Ohme-Takagi 2014).

$$[OD530 - (0.25 \times OD657)] \times V \times 1/\text{freah weight of tissue sample (g)} = A530$$

V: حجم بافر استخراج مورد استفاده برای هر نمونه

در مطالعه حاضر به‌منظور اندازه‌گیری محتوای فسفر کل، محتوای آنتوسیانین و محتوای کلروفیل از هر ژنوتیپ تعداد ٦٠ عدد بذر در هر تکرار زیستی و برای اندازه‌گیری بیوماس، درصد گلدهی و مطالعات بیانی ژن‌ها تعداد ۳۰ عدد بذر در هر تکرار زیستی کشت شد.

برای انجام آنالیزهای آماری ابتدا فرض نرمال بودن باقی‌مانده داده‌ها مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز داده‌های بیانی ژن در سه تکرار و با آزمون t-test انجام شد. سایر آزمایش‌ها در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار زیستی انجام و محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزارهای SAS V9.0 و SPSS V20 صورت گرفت. هم‌چنین از آزمون دانکن جهت مقایسه میانگین داده‌ها در سطح احتمال معنی‌داری $P < 0.05$ استفاده شد.

نتایج و بحث

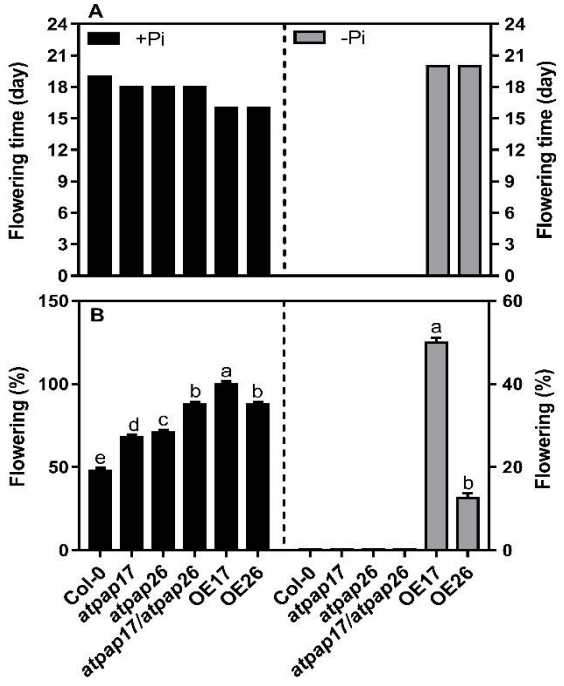
فسفر به‌عنوان یکی از اجزای اصلی مولکول‌های زیستی در انجام واکنش‌های حیاتی گیاهان از جمله فتوسنتز و تنفس نقش کلیدی ایفا می‌کند (Plaxton 2004; Tran et al. 2010). عدم دسترسی گیاه به فسفر کافی سبب کاهش قابل توجه تولید محصولات

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-28]

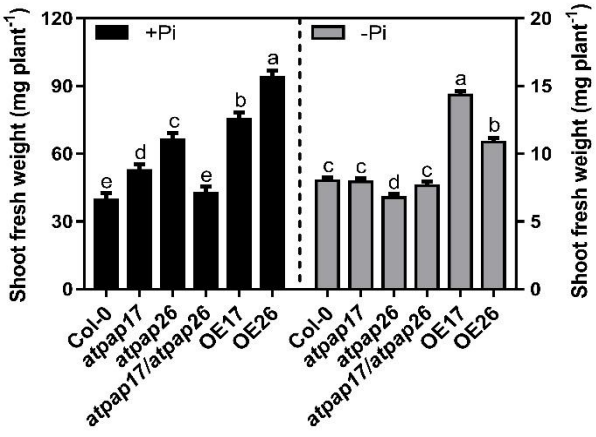
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.1.7.8]

گیاهی می‌شود (Shen et al. 2011). قابلیت دسترسی به مواد و عناصر متعددی از جمله فسفر، علاوه بر افزایش عملکرد می‌تواند منجر به افزایش سرعت رشد و در نهایت کاهش طول دوره رشدی گیاهان شود. بنابراین شناسایی و بررسی نقش ژن‌هایی که در این راستا فعالیت دارند می‌تواند در تولید گیاهان زودرس با عملکرد بالا مؤثر باشد. در مطالعه حاضر تأثیر میزان بیان دو ژن فسفاتاز *AtPAP17* و *AtPAP26* روی برخی صفات فیزیولوژیک و فنولوژیک آرابیدوپسیس مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بررسی درصد گلدهی گیاهان در محیط واجد فسفات کافی (+Pi) نشان‌دهنده‌ی افزایش معنی‌دار درصد گلدهی و هم‌چنین کاهش زمان گلدهی در اثر تخریب ژن‌های *AtPAP17* و *AtPAP26* در گیاهان جهش‌یافته نسبت به گیاهان طبیعی بود (شکل ۱A و ۱B)، به طوری که تخریب این ژن‌ها با افزایش معنی‌دار ۱/۴۵، ۱/۵۸ و ۱/۹۰ برابری درصد گلدهی به‌ترتیب در گیاهان جهش‌یافته منفرد *atpap17*، *atpap26* و جهش‌یافته دوگانه *atpap17/atpap26* نسبت به گیاهان طبیعی در شرایط واجد فسفات کافی همراه بود. با توجه به عملکرد اسیدفسفاتازها در گیاهان، افزایش سرعت و درصد گلدهی مشاهده شده در اثر تخریب دو ژن *AtPAP17* و *AtPAP26* در گیاهان جهش‌یافته دور از انتظار بود. از آنجا که گیاهان نمی‌توانند از شرایط نامساعد محیطی فرار کنند، ورود سریع‌تر و تولید نسل بعد، از جمله سازوکارهای گیاهان در حفظ بقا در مواجهه با شرایط نامساعد محیطی محسوب می‌شود (Buchanan Wollaston et al. 2003). از اینرو به‌منظور اثبات و یا رد اینکه گلدهی صورت گرفته در گیاهان جهش‌یافته، ناشی از عدم تأمین فسفر به‌دلیل تخریب ژن‌های *AtPAP17* و *AtPAP26* بوده و یا به‌دلیل تأمین سریع‌تر مواد مورد نیاز این گیاهان و افزایش سرعت رشد آن‌ها بوده است، بیوماس و محتوای فسفر گیاهان جهش‌یافته و طبیعی مورد بررسی قرار گرفت. نتیجه قابل توجه، افزایش معنی‌دار بیوماس و محتوای فسفر اندام هوایی گیاهان جهش‌یافته منفرد *atpap17* و *atpap26* در مقایسه با گیاهان طبیعی بود (شکل ۲ و ۳).

این نتایج به روشنی نشان داد که افزایش درصد گلدهی در گیاهان جهش‌یافته منفرد *atpap17* و *atpap26* نسبت به گیاهان طبیعی (شکل ۱B) ناشی از افزایش دسترسی و جذب فسفر توسط گیاهان جهش‌یافته می‌باشد (شکل ۳).

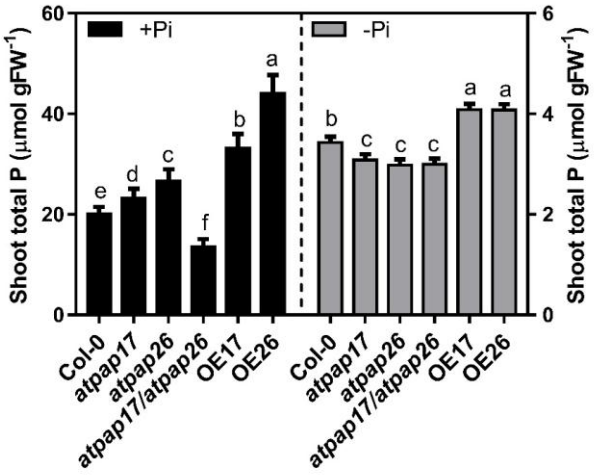


شکل ۱- زمان گلدهی (A) و درصد گلدهی (B) گیاهان آرابیدوپسیس ۲۱ روزه در شرایط فسفر کافی (+Pi) و فاقد فسفر (-Pi). Col-0) گیاهان طبیعی، *atpap17*) جهش‌یافته منفرد ژن *AtPAP17*، *atpap26*) جهش‌یافته منفرد ژن *AtPAP26*، *atpap17/atpap26*) جهش‌یافته دوگانه ژن‌های *AtPAP17* و *AtPAP26*، OE17) گیاهان بیش‌بیان *AtPAP17* و OE26) گیاهان بیش‌بیان *AtPAP26*. داده‌ها میانگین سه تکرار زیستی می‌باشد. اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها ($P < 0.05$) توسط حروف مختلف نشان داده شده است.



شکل ۲- بیوماس تر اندام هوایی گیاهان آرابیدوپسیس با بیان متفاوت دو ژن *AtPAP17* و *AtPAP26* در شرایط فسفر کافی (+Pi) و فاقد فسفر (-Pi). اسامی ژنوتیپ‌ها مطابق شکل ۱ می‌باشد. داده‌ها میانگین سه تکرار زیستی می‌باشد. اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها ($P < 0.05$) توسط حروف مختلف نشان داده شده است.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-28]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.1.7.8]



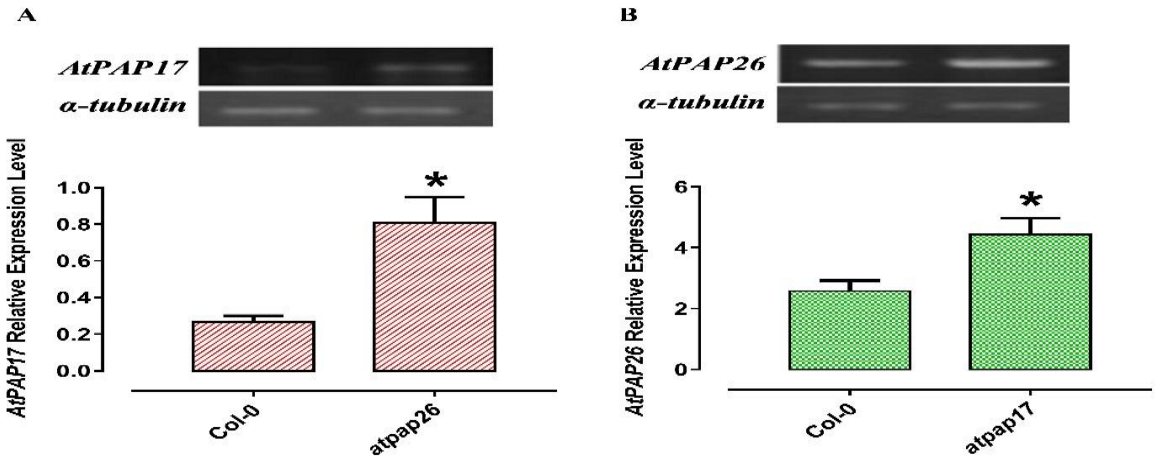
شکل ۳- محتوای فسفر کل اندام هوایی گیاهان آرابیدوپسیس با بیان متفاوت دو ژن *AtPAP17* و *AtPAP26* در شرایط فسفر کافی (+Pi) و فاقد فسفر (-Pi). اسامی ژنوتیپ‌ها مطابق شکل ۱ می‌باشد. داده‌ها میانگین سه تکرار زیستی می‌باشد. اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها ($P < 0.05$) توسط حروف مختلف نشان داده شده است.

این در حالی بود که تخریب هم‌زمان دو ژن مذکور سبب کاهش معنی‌دار ۱/٤۱ برابری محتوای فسفر اندام هوایی گیاهان جهش‌یافته دوگانه *atpap17/atpap26* در مقایسه با گیاهان طبیعی شد. باتوجه به نتایج حاصل، افزایش گلدهی گیاهان جهش‌یافته دوگانه *atpap17/atpap26* را می‌توان برخلاف جهش‌یافته‌های منفرد، واکنش گیاه برای فرار از تنش وارد شده ناشی از عدم فعالیت هر دو ژن رمزکننده AtPAP17 و AtPAP26 و در نتیجه کاهش توانایی این گیاهان در جذب فسفر کافی دانست.

به‌منظور درک چرایی برتری گیاهان جهش‌یافته منفرد در تأمین فسفر بیشتر نسبت به گیاهان جهش‌یافته دوگانه، میزان بیان دو ژن *AtPAP17* و *AtPAP26* در این گیاهان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بررسی بیان ژن‌های مورد مطالعه نشان داد که با تخریب ژن *AtPAP17* در گیاهان جهش‌یافته *atpap17*، میزان بیان ژن *AtPAP26* در این گیاهان افزایش پیدا کرد (شکل ٤B). با توجه به افزایش معنی‌دار ۱/۷۲ برابری میزان بیان ژن *AtPAP26* در گیاهان جهش‌یافته *atpap17* در مقایسه با گیاهان طبیعی، به نظر می‌رسد که این افزایش با هدف جبران فعالیت از دست رفته AtPAP17 در گیاهان جهش‌یافته *atpap17* باشد. جالب توجه اینکه تخریب ژن *AtPAP26* در گیاهان جهش‌یافته *atpap26* نیز با افزایش معنی‌دار ۳/۰٤ برابری بیان ژن *AtPAP17* در این گیاهان همراه بود (شکل ٤A). با توجه به نتایج حاصل از محتوای فسفر و بررسی بیان ژن‌های مورد مطالعه در گیاهان جهش‌یافته و طبیعی، مشخص شد که اختلال در تأمین فسفر ناشی از عدم فعالیت هریک از این آنزیم‌ها در جهش‌یافته‌های منفرد، توسط دیگری جبران شده و ارتباط جبرانی بین دو ژن *AtPAP17* و *AtPAP26* (Farhadi 2015) منجر به افزایش تأمین و محتوای فسفر کل و در نتیجه افزایش درصد گلدهی جهش‌یافته‌های منفرد شده است (شکل ۲ و ۳). در حالی‌که تخریب هم‌زمان این دو ژن در گیاهان جهش‌یافته دوگانه *atpap17/atpap26* با واکنش گیاه برای فرار از عدم تأمین فسفر کافی ناشی از تخریب همزمان این ژن‌ها و رسیدن به نسل بعد همراه بوده است. این مطلب بیانگر نقش قابل توجه دو آنزیم AtPAP17 و AtPAP26 در حفظ هومئوستازی فسفر سلول در مقایسه با سایر اسیدفسفاتازها می‌باشد چرا که عدم فعالیت همزمان این دو آنزیم در تأمین فسفر سلولی توسط سایر اسیدفسفاتازها جبران نشد. کاهش ٤۰٪ در محتوای فسفر کل اندام هوایی گیاهان جهش‌یافته دوگانه *atpap17/atpap26* نسبت به گیاهان طبیعی در شرایط واجد فسفات کافی، مبین و مؤید این مطلب می‌باشد (شکل ۳). با توجه به اهمیت فسفر به‌عنوان مهم‌ترین عنصر ضروری در گلدهی و تشکیل بذر در گیاهان (Petraglia et al. 2014)، میزان گلدهی و محتوای فسفر کل گیاهان می‌تواند برآوردی از شدت تنش وارده به گیاهان جهش‌یافته ارائه نماید. با این وجود افزایش درصد گلدهی بدون افزایش محتوای فسفر در گیاهان جهش‌یافته دوگانه از علائم مشهود تنش وارد شده به این گیاهان می‌باشد (Zhang et al. 2004). نتایج حاصل از بررسی گیاهان جهش‌یافته نشان داد فعالیت حداقل یکی از دو آنزیم AtPAP17 و AtPAP26 در افزایش سرعت و درصد گلدهی همراه با بیوماس بالا ضروری است.

به‌منظور تأیید نتایج حاصل، افزایش بیان ژن‌های *AtPAP17* و *AtPAP26* در گیاهان بیش‌بیان OE17 و OE26 به‌عنوان یکی دیگر از رویکردهای ژنتیک معکوس جهت بررسی عملکرد دو ژن *AtPAP17* و *AtPAP26* استفاده شد.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-28]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.1.7.8]



شکل ٤- میزان بیان دو ژن *AtPAP17* (A) و *AtPAP26* (B) در گیاهان مختلف آرابیدوپسیس در شرایط فسفر کافی (Pi+) با استفاده از روش semi-qRT-PCR. اسامی ژنوتیپ‌ها مطابق شکل ۱ می‌باشد. داده‌ها میانگین سه تکرار زیستی و سه تکرار تکنیکی می‌باشد. علامت (*) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌های دو گروه در سطح احتمال معنی‌داری $P < 0.05$ می‌باشد.

بررسی درصد گلدهی گیاهان بیش‌بیان ۲۱ روزه در محیط واجد فسفات کافی (Pi+) حاکی از افزایش معنی‌دار ۲/۱۸ و ۱/۹۱ برابری درصد گلدهی به‌ترتیب در گیاهان *OE17* و *OE26* نسبت به گیاهان طبیعی بود (شکل 1A). هم‌چنین گیاهان OE17 و OE26 زودتر از سایر گیاهان به مرحله گلدهی رسیدند (شکل B ۱). افزایش معنی‌دار ۲/۱۲ و ۲/۳۱ برابری بیوماس به‌ترتیب در گیاهان OE17 و OE26 نسبت به گیاهان طبیعی از یک‌سو و افزایش سرعت و درصد گلدهی از سوی دیگر بیانگر افزایش سرعت رشد حاصل از تأمین سریع‌تر مواد مورد نیاز گیاهان بیش‌بیان بود (شکل ۲). این میزان افزایش بیوماس گیاهان مذکور نسبت به گیاهان طبیعی دلیلی بر تکمیل شدن سریع‌تر فاز رشدی گیاهان بیش‌بیان و مؤثر بودن این ژن‌ها در تسریع گلدهی می‌باشد. مسلماً افزایش بیان این دو ژن با نقشی که در تأمین فسفر از منابع داخل و خارج سلولی دارند (Del Pozo et al. 1999; Hurley et al. 2010)، به افزایش سرعت رشد گیاهان بیش‌بیان کمک کرده است. از طرف دیگر افزایش بیان دو ژن *AtPAP17* و *AtPAP26* با افزایش میزان توسعه و گسترش ریشه (Farhadi 2015)، ناحیه دسترسی گیاه به مواد غذایی به‌ویژه فسفر محیط را افزایش می‌دهند که این امر افزایش سرعت رشد گیاهان را سبب شده است. افزایش معنی‌دار ۲/۰۹ و ۲/۸۷ برابری محتوای فسفر کل اندام هوایی به‌ترتیب در گیاهان OE26 و OE17 در مقایسه با گیاهان طبیعی در شرایطی فسفر کافی به روشنی نتایج بالا را تأیید می‌کند (شکل ۳).

نکته جالب توجه اینکه با حذف فسفر از محیط کشت (Pi-)، طی مدت رشد ۲۱ روزه فقط گیاهان بیش‌بیان OE26 و OE17 موفق به گلدهی شدند و سایر گیاهان از جمله جهش‌یافته‌ها به مرحله گلدهی نرسیدند (شکل 1A). گیاهان بیش‌بیان به دلیل فعالیت بالای آنزیم‌های AtPAP17 و AtPAP26 در هفت روز اول رشدی خود در شرایط واجد فسفات، فسفر بیشتری از محیط جذب و ذخیره نموده و با ورود به مرحله تنش ١٤ روزه، قادر به سپری نمودن مرحله رویشی (البته با کاهش عملکرد نسبت به شرایط واجد فسفات) بودند. از اینرو در شرایط فقدان فسفر، گلدهی این گیاهان صرفاً به‌منظور بذردهی و ایجاد نسل بعد انجام خواهد شد. نتایج بررسی گیاهان جهش‌یافته و بیش‌بیان دو ژن *AtPAP17* و *AtPAP26* در تحقیق حاضر حاکی از نقش دو آنزیم فسفاتاز ارغوانی AtPAP17 و AtPAP26 در تسریع رشد و افزایش عملکرد گیاهان آرابیدوپسیس بود.

بر اساس اطلاعات پایگاه داده TAIR (https://www.arabidopsis.org) ژن‌های *AtPAP17* و *AtPAP26* در قسمت‌های مختلف گل به‌ویژه دانه گرده و همچنین طی بلوغ و جوانه زنی دانه گرده بیان می‌شوند، که بیانگر اهمیت ژن‌های مذکور در گلدهی آرابیدوپسیس و مؤید

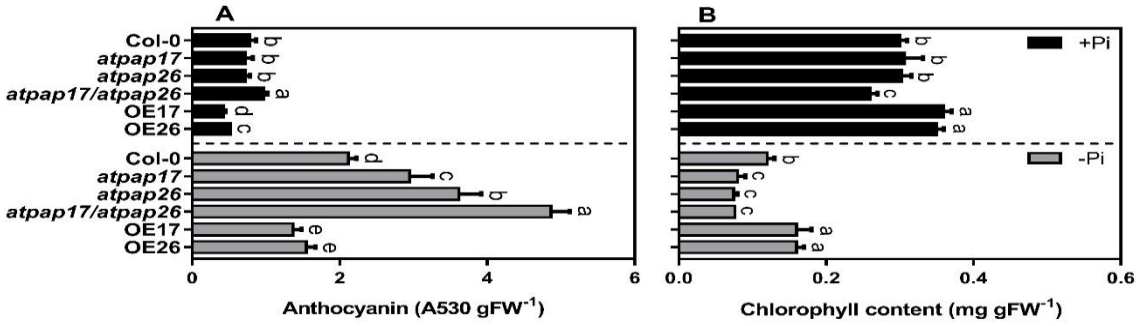
[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-28]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.1.7.8]

نتایج تحقیق حاضر می‌باشد. مطالعه ژن *BnPAP17* گیاه کلزا نشان می‌دهد که این ژن بیشتر در اندام زایشی، خصوصا در غنچه، گل کامل و همچنین در بذور بیان می‌شود و در تکامل اندام زایشی و بذر دخیل می‌باشد (Lu et al. 2008). بنابراین بیان این قبیل ژن‌ها در محصولاتی مانند کلزا که دومین محصول روغنی در جهان است و به شدت به کمبود فسفر به‌عنوان اصلی‌ترین عامل کاهش عملکرد برای این محصول، حساس است می‌تواند مفید واقع شود (Lu et al. 2008).

تجمع متابولیت‌های ثانویه نظیرآنتوسیانین به‌عنوان یکی از سازوکارهای گیاهان در مواجهه با شرایط تنش (Rubio et al. 2001) از بارزترین نشانه‌های کمبود فسفات در ساقه‌ها و اندام هوایی گیاهان گزارش شده است. آنتوسیانین با حفاظت از کلروپلاست‌ها به گیاه در برابر بازدارنده‌های نوری، همچنین پاکسازی و جاروب رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن تحت شرایط تنش کمک می‌کند (Vance et al. 2003). نتایج تحقیق حاضر حاکی از افزایش معنی‌دار محتوای آنتوسیانین در گیاهان جهش‌یافته دوگانه در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها در شرایط فسفات کافی (Pi+) بود (شکل ۵A). این در حالی بود که اختلاف معنی‌داری بین محتوای آنتوسیانین گیاهان جهش‌یافته منفرد، بیش‌بیان و گیاهان طبیعی مشاهده نشد (شکل ۵A). این نتایج کاهش توانایی گیاهان جهش‌یافته دوگانه در دسترسی و جذب فسفر و در نتیجه درک تنش حاصله و پاسخ توسط جهش‌یافته‌های دوگانه را به‌خوبی نشان داد. افزایش معنی‌دار تولید آنتوسیانین در گیاهان جهش‌یافته دوگانه، نشان داد که عدم تأمین فسفر ناشی از تخریب هم‌زمان دو ژن *AtPAP17* و *AtPAP26* در این گیاهان، با وجود فسفر کافی در محیط قابل جبران نبوده است. این نتایج با میزان فسفر اندازه‌گیری شده در این گیاهان مطابقت داشت و گلدهی سریع‌تر گیاهان جهش‌یافته دوگانه به‌عنوان پاسخ گیاه برای فرار از شرایط عدم تأمین فسفر ناشی از تخریب هم‌زمان دو ژن مذکور بار دیگر مشهود بود. در شرایط تنش کمبود فسفر (Pi-) محتوای آنتوسیانین با افزایش معنی‌دار ۱/۱۷، ۱/۷۵ و ۲/۲۲ برابری به‌ترتیب در گیاهان جهش‌یافته منفرد *atpap17*، *atpap26* و جهش‌یافته دوگانه *atpap17/atpap26* در مقایسه با گیاهان طبیعی مواجه شد (شکل ۵A). کاهش معنی‌دار ۴۰٪ و ۳۵٪ محتوای آنتوسیانین گیاهان بیش‌بیان OE17 و OE26 نسبت به گیاهان طبیعی در شرایط تنش کمبود فسفر (Pi-) (شکل ۵A) نیز حاکی از برتری این گیاهان به‌دلیل فعالیت آنزیم‌های AtPAP17 و AtPAP26 و افزایش دسترسی و جذب فسفر در این گیاهان بود (شکل ۳). در نتیجه، شدت تنش ناشی از کمبود فسفر محیط در گیاهان بیش‌بیان کمتر درک شده و تجمع ترکیبات دفاعی نظیر آنتوسیانین در این گیاهان کمتر از سایر گیاهان مشاهده شد. این نتایج با عملکردی که برای ژن‌های *AtPAP17* و *AtPAP26* در تنش اکسیداتیو و پیری گزارش شده است (Del Pozo et al. 1999; Robinson et al. 2012) مطابقت داشت. بررسی رنگیزه‌های فتوسنتزی نیز حاکی از مؤثر بودن بیان دو ژن *AtPAP17* و *AtPAP26* در آرابیدوپسیس بود. بیشترین محتوای کلروفیل گیاهان مورد مطالعه در هر دو شرایط Pi+ و Pi– در گیاهان بیش‌بیان مشاهده شد (شکل ۵B). بیوسنتز رنگیزه‌های کلروفیل وابسته به جذب فسفر کافی می‌باشد (Dayal et al. 2004) به‌طوری که کمبود فسفر کاهش محتوای کلروفیل و پروتئین‌ها را به‌همراه دارد (Liang et al. 2005). افزایش دسترسی و جذب فسفر در گیاهان بیش‌بیان به‌دلیل نقش کلیدی ژن‌های *AtPAP17* و *AtPAP26* در این راستا منجر به افزایش تولید این رنگیزه‌ها و محتوای کلروفیل این گیاهان شد. مقایسه محتوای کلروفیل گیاهان جهش‌یافته منفرد با گیاهان طبیعی در شرایط فسفر کافی حاکی از عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین این گیاهان بود، این در حالی بود که تخریب همزمان دو ژن *AtPAP17* و *AtPAP26* سبب کاهش ۱/۱٤ برابری محتوای کلروفیل گیاهان جهش‌یافته دوگانه نسبت به گیاهان طبیعی در شرایط مشابه شد (شکل ۵B). برتری گیاهان بیش‌بیان در محتوای کلروفیل در شرایط فقدان فسفر نیز مشاهده شد. کاهش معنی‌دار ۱/۳۲، ۱/٤۱ و ۱/۳۹ برابری محتوای کلروفیل به‌ترتیب در گیاهان جهش‌یافته منفرد *atpap17*، *atpap26* و جهش‌یافته دوگانه *atpap17/atpap26* نسبت به گیاهان طبیعی در شرایط Pi- مشاهده شد (شکل ۵B). عدم وجود فسفر در محیط رشدی گیاهان، مانع از بروز پتانسیل عملکرد ژن‌های جبرانی در گیاهان جهش‌یافته منفرد شد.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-28]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.1.7.8]



شکل ۵- محتوای آنتوسیانین (A) و محتوای کلروفیل کل (B) اندام هوایی گیاهان آرابیدوپسیس با بیان متفاوت دو ژن *AtPAP17* و *AtPAP26* در شرایط فسفر کافی (Pi+) و فاقد فسفر (Pi-). اسامی ژنوتیپ‌ها مطابق شکل ۱ می‌باشد. داده‌ها میانگین سه تکرار زیستی می‌باشد. اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها ($P < 0.05$) توسط حروف مختلف نشان داده شده است.

بررسی میزان فسفر در شرایط کمبود فسفر (Pi-) تایید کننده این مطلب بود. با توجه به این نتایج به‌نظر می‌رسد با کاهش محتوای فسفر و در نتیجه کاهش رشد اندام هوایی که جایگاه اصلی فتوسنتزی گیاه می‌باشد، میزان تولید مواد فتوسنتزی و متعاقب آن وزن گیاه کاهش می‌یابد.

نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد با توجه به اینکه تخریب ژن‌های *AtPAP17* و *AtPAP26* در گیاهان جهش‌یافته می‌تواند تأمین فسفر و در نتیجه رشد گیاهان را با مشکل مواجه سازد، در نتیجه عوامل متعددی در تسریع ورود به مرحله گلدهی جهت ایجاد نسل بعد مؤثر خواهند بود. بنابراین بررسی اختصاصی نقش این ژن‌ها در افزایش سرعت رشد و گلدهی، با مطالعه گیاهان بیش‌بیان امکان‌پذیر است. با توجه به نقش این ژن‌ها در آزادسازی و افزایش دسترسی گیاهان به فسفر، همچنین نقش کلیدی که فسفر در گلدهی، پر شدن دانه و تسریع رشد زایشی گیاهان دارد، جذب و دسترسی بالای گیاهان بیش‌بیان به فسفر منجر به افزایش سرعت و درصد گلدهی و عملکرد در این گیاهان می‌شود. بنابراین ژن‌های *AtPAP17* و *AtPAP26* می‌توانند کاندیداهای مناسبی برای تولید گیاهانی با رشد سریع‌تر همراه با عملکرد بالا جهت عدم مواجه با تنش‌های آخر فصل باشند. با افزایش بیان هترولوگ این ژن‌ها در گیاهان دیگر، می‌توان ضمن توانمندسازی گیاهان در دسترسی و جذب بهتر فسفر، روند رشدی گیاهان را با عملکردی بالا، بهبود بخشید.

منابع

Ames BN (1966) Assay of inorganic phosphate, total phosphate and phosphatases. In: Neufeld, E and Ginsburg, V (Eds.) Methods in Enzymology, Academic Press, Cambridge 115-118.

Buchanan_Wollaston V, Earl S, Harrison E, Mathas E, Navabpour S, Page T, Pink D (2003) The molecular analysis of leaf senescence-a genomics approach. Plant Biotechnology Journal 1: 3-22.

Dayal J, Goswami C, Munjal R (2004) Influence of phosphorus application on water relations, biochemical parameters and gum content in cluster bean under water deficit. Biologia Plantarum 48: 445-448.

Del Pozo JC, Allona I, Rubio V, Leyva A, De La Peña A, Aragoncillo C, Paz-Ares J (1999) A type 5 acid phosphatase gene from *Arabidopsis thaliana* is induced by phosphate starvation and by some other types of phosphate mobilising/oxidative stress conditions. The Plant Journal 19: 579-589.

Farhadi S (2015) Producing of homozygote double mutant lines in *Arabidopsis thaliana PAP17* and *PAP26* genes. Dissertation, University of Tarbiat Modares, Iran. (In Farsi).

Ghahremani M, Tran H, Biglou SG, O'Gallagher B, She YM, Plaxton WC (2018) A glycoform of the secreted purple acid phosphatase *AtPAP26* co-purifies with a mannose-binding lectin (*AtGAL1*) upregulated by phosphate-starved Arabidopsis. Plant, Cell and Environment 42: 1139-1157.

Hurley BA, Tran HT, Marty NJ, Park J, Snedden WA, Mullen RT, Plaxton WC (2010) The dual-targeted purple acid phosphatase isozyme *AtPAP26* is essential for efficient acclimation of Arabidopsis to nutritional phosphate deprivation. Plant Physiology 153: 1112-1122.

Jamali A (2014) Functional analysis of *AtPAP17* gene encoding a purple acid phosphatase in *Arabidopsis*

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-28]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.1.7.8]

thaliana plants. Dissertation, University of Tarbiat Modares, Iran. (In Farsi).
Li, D., Zhu, H., Liu, K., Liu, X., Leggewie, G., Udvardi, M (2002) Purple acid phosphatases of Arabidopsis thaliana comparative analysis and differential regulation by phosphate deprivation. Journal of Biological Chemistry 277: 27772-27781.
Liang X.L, Lin Y.C, Nian H, XIE L.X (2005) The effect of low phosphorus stress on main physiological traits of different maize genotypes. Acta Agronomica Sinica, 31: 667-669.
Lichthentaler H (1987) Chlorophyll and carotenoids-pigments of photosynthetic biomembranes,-In: Colowick, SP., Kaplan, NO (ed): Methods in Enzymology, Vol, 148. *In*. Academic Press, Sandiego-New York-Berkcley-Boston–London–Sydney–Tokyo–Toronto.
Lohrasebi T, Malboobi MA, Samaeian A, Sanei V (2007) Differential expression of *Arabidopsis thaliana* acid phosphatases in response to abiotic stresses. Iranian Journal of Biotechnology 5: 130-139.
Lu K, Chai YR, Zhang K, Wang R, Chen L, Lei B, Lu J, Xu XF, Li JN (2008) Cloning and characterization of phosphorus starvation inducible *Brassica napus* purple acid phsphatase gene family, and imprinting of a recently evolved MITE-minisatellite twin structure. Theoretical and Applied Genetics 117: 963-975.
Lu K, Li JN, Zhong WR, Zhang K, Fu FY, Chai YR (2008) Isolation, characterization and phosphate-starvation inducible expression of potential *Brassica napus* purple acid phsphatase 17 (*BnPAP17*) gene family. Botanical Studies 49: 199-213.
Malboobi MA, Samaeian A, Sabet MS, and Lohrasebi, T (2012). Plant phosphate nutrition and environmental challenges. Plant Science Book. Edited by Nabin Kumar Dhal, InTech Press. Croatia, 1-33.
Malboobi MA, Zamani K, Lohrasebi T, Sarikhani MR, Samaian A, Sabet MS (2014) Phosphate: the silent challenge. Progress in Biological Sciences 4: 1-32.
Nakata M, Ohme-Takagi M (2014) Quantification of anthocyanin content. Bio-Protocol 4: e1098.
Petraglia A, Tomaselli M, Mondoni A, Brancaleoni L, Carbognani M (2014) Effects of nitrogen and phosphorus supply on growth and flowering phenology of the snowbed forb *Gnaphalium supinum* L. Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants 209: 271-278.
Plaxton WC, and Tran HT (2011) Metabolic adaptations of phosphate-starved plants. Plant Physiology 156: 1006-1015.
Plaxton WC (2004) Plant response to stress: biochemical adaptations to phosphate deficiency. Encyclopedia of plant and crop science. Marcel Dekker, New York: 976-980.
Richardson AE, Barea JM, McNeill AM, Prigent-Combaret C (2009) Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. Plant and Soil 321: 305-339.
Robinson WD, Carson I, Ying S, Ellis K, Plaxton WC (2012) Eliminating the purple acid phosphatase *AtPAP26* in *Arabidopsis thaliana* delays leaf senescence and impairs phosphorus remobilization. New Phytologist 196: 1024-1029.
Robinson WD, Park J, Tran HT, Del Vecchio HA, Ying S, Zins JL, Patel K, McKnight TD, Plaxton WC (2012) The secreted purple acid phosphatase isozymes *AtPAP12* and *AtPAP26* play a pivotal role in extracellular phosphate-scavenging by *Arabidopsis thaliana*. Journal of Experimental Botany 63: 6531-6542.
Rubio V, Linhares F, Solano R, Martín AC, Iglesias J, Leyva A, Paz-Ares J (2001) A conserved MYB transcription factor involved in phosphate starvation signaling both in vascular plants and in unicellular algae. Genes and Development 15: 2122-2133.
Sabet MS (2011) Functional analysis of *AtPAP26* gene encoding a purple acid phosphatase in *Arabidopsis thaliana* and gene transfer and expression analysis in tobaco. Dissertation, University of Tabriz, Iran. (In Farsi).
Sabet MS, Zamani K, Lohrasebi T, Malboobi MA, and Valizadeh M (2018). Functional assessment of an overexpressed Arabidopsis purple acid phosphatase gene (*AtPAP26*) in tobacco plants. Iranian Journal of Biotechnology 16(1): 31-41.
Schachtman DP, Reid RJ, Ayling SM (1998) Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. Plant Physiology 116: 447-453.
Shen J, Yuan L, Zhang J, Li H, Bai Z, Chen X, Zhang W, Zhang F (2011) Phosphorus dynamics: from soil to plant. Plant Physiology 156: 997-1005.
Tran HT, Hurley BA, Plaxton WC (2010) Feeding hungry plants: the role of purple acid phosphatases in phosphate nutrition. Plant Science 179: 14-27.
Vance CP, Uhde-Stone C, Allan DL (2003) Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. New Phytologist 157: 423-447.
Veljanovski V, Vanderbeld B, Knowles VL, Snedden WA, Plaxton WC (2006) Biochemical and molecular characterization of *AtPAP26*, a vacuolar purple acid phosphatase up-regulated in phosphate-deprived Arabidopsis suspension cells and seedlings. Plant Physiology 142: 1282-1293.
Wang L, Liu D (2018) Functions and regulation of phosphate starvation-induced secreted acid phosphatases in higher plants. Plant Science 271: 108-116.
Wang L, Lu S, Zhang Y, Li Z, Du X, Liu D (2014) Comparative genetic analysis of Arabidopsis purple acid phosphatases *AtPAP10*, *AtPAP12*, and *AtPAP26* provides new insights into their roles in plant adaptation to phosphate deprivation. Journal of Integrative Plant Biology 56: 299-314.
Zamani K, Lohrasebi T, Sabet MS, Malboobi MA, and Mousavi A (2014). Expression pattern and subcellular localization of Arabidopsis purple acid phosphatase *AtPAP9*. Gene Expression Patterns, 14: 9-18.
Zamani K, Sabet MS, Lohrasebi T, Mousavi A, Malboobi MA (2012) Improved phosphate metabolism and biomass production by overexpression of *AtPAP18* in tobacco. Biologia 67: 713-720.
Zhang D, Moran RE, Stack LB (2004) Effect of phosphorus fertilization on growth and flowering of *Scaevola aemula* R. Br.New Wonder. HortScience 39: 1728-1731.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-28]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.1.7.8]