

EFECTUL UNOR IONI METALICI ȘI AGENȚI CHIMICI ASUPRA ACTIVITĂȚII FOSFATAZEI ACIDE IN VITRO DIN RĂDĂCINILE PLANTELOR PISUM SATIVUM L.

Maria CAUȘ,

Universitatea de Stat din Moldova

Scopul acestui studiu a fost de a investiga efectele unor metale și agenți chimici [5 mM] *in vitro* asupra activității fosfatazei acide (FA) din rădăcinile plantelor de *Pisum sativum* L. Activitatea FA a fost determinată cu utilizarea p-nitrofenil fosfat ca substrat. S-a demonstrat că CoSO_4 , CoCl_2 , CaCl_2 , MgSO_4 și CdCl_2 n-au modificat semnificativ activitatea FA. $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ a prezentat o ușoară inhibiție de $\approx 13\%$, în timp ce FeSO_4 , KCl și NaCl au exercitat o inhibiție moderată de 28, 29 și respectiv 36% asupra activității FA. Însă CuSO_4 , MnSO_4 , ZnSO_4 și ZnCl_2 au demonstrat o inhibiție enzimatică mai pronunțată de 41, 48, 56 și respectiv 63%. O suprimare enzimatică mai pronunțată (42–52%) a fost observată și pentru unii ioni de fosfat. Testarea *in vitro* a inhibitorilor specifici ai FA a arătat că ortovanadatul de sodiu, molibdatul de sodiu și de amoniu inhibă aproape complet FA.

Cuvinte-cheie: fosfataza acidă, activitate, metale, agenți chimici, rădăcini de mazăre.

EFFECT OF SOME METAL IONS AND CHEMICAL AGENTS ON THE IN VITRO ACID PHOSPHATASE ACTIVITY FROM ROOTS OF PISUM SATIVUM L. PLANTS

The aim of this study was to investigate the effects of some metals and chemical agents *in vitro* [5 mM] on the activity of acid phosphatase (AF) from the roots of *Pisum sativum* L. plants. The AF activity was determined using p-nitrophenyl phosphate as a substrate. It was shown that CoSO_4 , CoCl_2 , CaCl_2 , MgSO_4 and CdCl_2 did not significantly modify the AF activity. $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ showed a slight inhibition of $\approx 13\%$, while FeSO_4 , KCl and NaCl exerted a moderate inhibition of 28, 29 and 36%, respectively, on the AF activity. However, CuSO_4 , MnSO_4 , ZnSO_4 and ZnCl_2 demonstrated a more pronounced enzymatic inhibition of 41, 48, 56 and 63%, respectively. A more pronounced enzymatic inhibition (42–52%) was also observed for some phosphate ions. *In vitro* testing of specific inhibitors of AF showed that sodium orthovanadate, sodium and ammonium molybdate almost completely inhibit FA.

Keywords: acid phosphatase, activity, metals, chemical agents, pea roots.

Introducere

Fosfatazele acide (FA), cunoscute și sub denumirea de fosfohidrolaze monoester ortofosforice (EC 3.1.3.2), sunt o clasă de enzime care catalizează hidroliza unui număr mare de fosfomonoesteri cu o gamă largă de variații structurale, cu specificități de substrat largi, și prezintă de obicei valori optime ale pH-ului sub 6,0 [1, 2]. Este bine cunoscut faptul că fosfatazele acide sunt esențiale pentru ciclul fosforului la plante, participând în asimilarea fosfatului anorganic (Pi), macronutrient esențial pentru organismele vii, și care joacă un rol fiziologic vital în metabolismul energetic, semnalizarea și reglarea metabolică celulară și este componentă constitutivă a multor molecule organice vitale, cum ar fi ADN-ul, ARN-ul, ATP-ul și fosfolipidele [2-4]. O gamă largă de plante și țesuturi vegetale prezintă activitate de fosfatază acidă cu diferențe substanțiale în ceea ce privește dimensiunea proteinelor, localizarea în țesuturi și reglarea expresiei la nivelul transcripției de către nivelul intra- și extracelular al fosfatului [5]. Activitatea fosfatazelor acide depinde, de asemenea, de proprietățile structurilor proteice a lor, de pH-ul optim, temperatura optimă, precum și de cerințele de ioni metalici [5]. Unele fosfataze acide pentru activitatea lor catalitică au nevoie nu doar de structurile proteice, ce și de componente active non-proteice (cofactori), care implică ioni de metale precum Na, Cu, Mg, Mn, Fe, Zn și K. În literatura de referință se aduc date despre rolul fosfatazelor acide în diferite condiții de stres, inclusiv cel cauzat de prezența excesului de metale grele [6-8]. În funcție de specia plantelor, tipul,

concentrația, modul și perioada de utilizare a ionilor metalici, activitatea enzimatică a fosfatazei acide poate fi indusă sau suprimată [9].

Se disting metalele esențiale, care sunt catalizatori, cofactori, în reacțiile biochimice, funcționează ca stabilizatori ai structurilor proteinelor și servesc la menținerea unui echilibru osmotic, precum și metale non esențiale, dar care sunt benefice în desfășurarea unor reacții enzimatică [10]. Necesarul de ioni metalici și toxicitatea acestora pentru activitatea fosfatazei acide variază în funcție de specia plantei, stadiul de dezvoltare, eterogenitatea izoenzimelor, tipul, concentrația, modul și perioada de utilizare a ionilor metalici. Activitatea enzimatică a fosfatazei acide poate fi indusă sau suprimată [9, 11]. Majoritatea datelor ample ce se aduc în literatura de referință privind efectele toxice ale ionilor metalici, inclusiv ale metalelor grele, asupra fosfatazelor acide, sunt obținute prin studii *in vivo*. Cu toate acestea, efectul ionilor metalici asupra fosfatazei acide din plante *in vitro* a fost studiat într-o măsură mai mică. Totuși, rezultatele științifice arată că proprietățile (legitățile) observate în studiile *in vivo* nu corespund întotdeauna proprietăților stabilite la studierea enzimelor *in vitro*.

Scopul acestui studiu a fost de a investiga efectul metalelor și al unor agenți chimici *in vitro* asupra activității fosfatazei acide din rădăcinile de mazăre *Pisum sativus* L.

Metode și materiale aplicate

Ca obiect de studiu au servit rădăcinile plantelor de *Pisum sativum* L. Semințele de mazăre, sterilizate la suprafață cu 10% H₂O₂ timp de 10 minute și apoi clătite de mai multe ori cu apă distilată, au fost germinate pe hârtie de filtru la întuneric timp de 10 zile la 25°C. Apoi, germinii au fost transferați și crescuți în chiuvete de plastic pe cultură hidroponică cu ½ soluție Hoagland la un pH ajustat la 6,0-6,3, într-o cameră de creștere cu o fotoperioadă de 16h/8h (lumină/întuneric) la 24°C și 18°C. O iradiere de 80 μmol m⁻²s⁻¹ a fost asigurată de tuburi fluorescente albe. La fiecare două zile, soluția Hoagland a fost reînnoită complet cu una proaspătă, menținându-se nivelul soluției nutritive și valoarea pH-ului de 6,0-6,3. Când plantele au atins vârsta de 24 de zile, au fost scoase din sistemul hidroponic, rădăcinile plantelor au fost spălate de soluția nutritivă cu apa distilată, ulterior separate și utilizate pentru obținerea fracțiilor proteice din citosolul celular, în care a fost analizată activitatea fosfatazei acide (FA).

Prepararea extractelor enzimatică. Rădăcinile de mazăre (5 g) au fost tăiate în bucăți mici și omogenizate cu pistil și mojar cu 10 ml de mediu de omogenizare constituit din 50 mM Tris/Mes, 2 mM EGTA, 0,5 mM PMSF, 2 mM DTT, 0,1% BSA, 0,125 M sorbitol, pH=7,4. După filtrarea prin șase straturi de pânză de muselină, omogenatul a fost centrifugat timp de 5 minute, la 800 g, la 4°C. Straturile superioare ale extractelor au fost centrifugate timp de 20 de minute la 12000 g. Supernatantele rezultate au fost desemnate ca fracții proteice citoplasmatică.

Determinarea cantitativă a activității fosfatazei acide (FA; EC 3.1.3.2). Un amestec de 15 μl extract enzimatic, 24 mM tampon acetat de sodiu (pH=4,7) și 5 mM p-nitrofenil fosfat (p-NP), ca substrat, a fost incubat timp de 20 de minute la 30°C. Fosfataza acidă hidrolizează p-nitrofenilul fosfat (p-NF) în p-nitrofenol, care a fost măsurat spectrofotometric la absorbția 400 nm față de martor. Modificările activităților enzimatică au fost exprimate ca procent față de martor.

Analiza statistică a datelor. Analiza statistică a datelor a fost efectuată cu utilizarea programelor „Statistica 7” pentru computer, folosind Basic Statistics. Valorile obținute la parametrii pentru plantulele lotului martor, au fost considerate ca valori de referință, la care au fost raportate rezultatele determinărilor efectuate la loturile experimentale. Fiecare experiment a fost repetat cel puțin de trei ori, fiind calculată media și devierea standard a mediei.

Rezultate obținute și discuții

Multe metale grele sunt esențiale ca situsuri active în multe proteine și enzime, iar alte metale de tranziție joacă roluri benefice în metabolismul plantelor, datorită rolurilor lor structurale și funcționale în diverse metaloenzime [12]. Necesarul de ioni metalici și toxicitatea acestora pentru activitățile enzimatică variază în funcție de specia plantei, stadiul de dezvoltare, condițiile experimentale [13]. Tratamentul cu metale poate afecta permeabilitatea membranei celulare, poate inhiba activitatea enzimatică, poate provoca modificări

conformaționale și mutații ireversibile în acizii nucleici [14]. Reacțiile enzimatice sunt inhibitate de metale, care pot forma un complex cu substratul, se pot combina cu grupările proteice active ale enzimelor, sau pot reacționa cu complexul enzimă-substrat [15].

În acest studiu s-a determinat efectele *in vitro* a diferitor ioni metalici asupra activității fosfatazei acide (FA), separate din fracția proteinelor citosolice ale rădăcinilor plantelor de mazăre, folosind p-nitrofenil fosfatul (p-NF) ca substrat (5mM) și introducerea *in vitro* în mediu de reacție a diferitor ioni metalici în concentrație de 5 mM. Rezultatele obținute (fig. 1) arată că atunci când Zn este introdus *in vitro* în reacția catalizată de FA, de exemplu ZnSO_4 și ZnCl_2 , activitatea FA este la cel mai scăzut nivel. Aplicarea ZnSO_4 și ZnCl_2 *in vitro* a diminuat activitatea fosfatazei acide din rădăcinile plantelor de mazăre cu ≈ 56 și respectiv $\approx 63\%$, comparativ cu martorul. Aceste rezultate sunt în corcodanță cu datele unor cercetători, care au raportat că Zn este un inhibitor al fosfatazei acide din plantulele de castraveți [16], semințele germinate de *Vigna mungo* L. [17], din pereții celulari ai rădăcinilor de trifoi alb [18], precum și din semințele de lupin galben [19]. De asemenea, o inhibiție puternică de către ionii de Zn a fost observată la FA din semințele de *Nelumbo nucifera* [20]. Studiarea activității specifice a FA din semințele de amarant, tratate cu ZnSO_4 (56 mg/L), a arătat că în a treia zi de expunere s-a observat o scădere semnificativă a activității specifice a enzimei față de martor, ceea ce indică toxicitatea înaltă a ZnSO_4 la această concentrație pentru germenii de amarant [21]. O posibilă cauză, care ar putea explica efectele inhibitoare ale zincului poate fi substituirea calciului și a magneziului din molecula fosfatazei acide, întrucât aceasta reprezintă o metaloenzimă [2, 22]. Pentru elementele neesențiale, inclusiv metalele de tranziție, precum cadmiul, menținerea unor concentrații citoplasmice scăzute este, de asemenea, esențială [23]. În cercetările noastre cadmiul, precum CdCl_2 a inhibat activitatea FA din rădăcini cu $\approx 7\%$, față de martor (fig. 1).

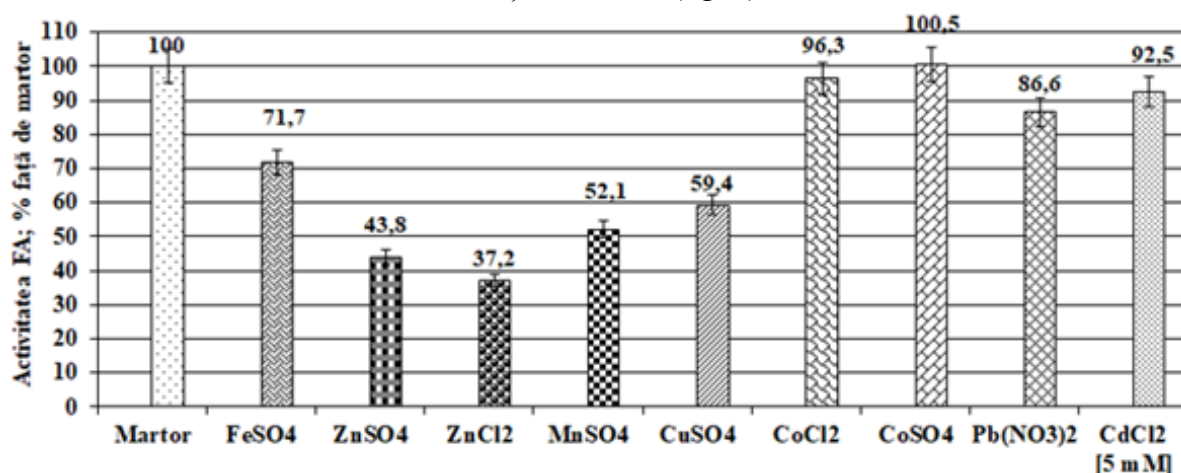


Figura 1. Efectul *in vitro* al ionelor de metale (5mM) asupra activității fosfatazei acide (FA) din citosolul celulelor radiculare ale plantelor de *Pisum sativus* L.

Rezultatele anterioare [6] au demonstrat că CdCl_2 administrat *in vivo* în mediul de cultivare, inhibă semnificativ activitatea izoformelor fosfatazei acide din citosolul și pereții celulari ai celulelor radiculare de mazăre. De asemenea, s-a raportat că metalele grele se pot acumula în plante sub forme chimice inactive, cum ar fi pirofosfatul de plumb sau ortofosfatul de plumb [16], ceea ce poate explica faptul că aceste metale grele nu afectează activitatea FA la castravete. Utilizarea plumbului *in vitro* în reacția catalizată de FA (fig. 1) a demonstrat, că $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ a prezentat o inhibare ușoară (de $\approx 13\%$) a FA din rădăcinile de mazăre, comparativ cu martorul. O inhibiție puternică a FA nespecifică, a fost demonstrată pentru FA din frunzele și noduzitățile radiculare ale plantelor de fasole [24]. Spre deosebire de aceste rezultate, cercetările efectuate cu plantulele de castraveți au demonstrat că plumbul nu a modificat activitatea FA [16]. În experiențele noastre, plumbul, ca $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ a diminuat activitatea FA din rădăcinile de mazăre cu $\approx 14\%$, comparativ cu martorul. A fost demonstrat, că la cultivarea sfeclei de zahăr, concomitent cu creșterea concentrației de plumb introdusă în soluția nutritivă de la 10^{-5} la 10^{-3} M, conținutul acestui element în rădăcini a crescut semnificativ, ceea ce a dus la o scădere semnificativă a activității nitratreductazei și glutamin sintetazei

în organele corespunzătoare [25]. Autorii, presupun că plumbul a influențat asupra grupelor S-H și conexiunilor S-S din moleculele acestor enzime. Aplicarea *in vitro* a micronutrienților esențiali precum cuprul (CuSO_4), manganul (MnSO_4) și fierul (FeSO_4), la concentrația de 5mM, în reacția catalizată de FA a cauzat suprimarea activității enzimatice a enzimei respective din rădăcinile de mazăre cu ≈ 41 , ≈ 48 și respectiv $\approx 28\%$, față de martor (fig. 1). Un efect inhibitor al cuprului asupra activității FA a fost observat și la semințele germinate de *Vigna radiata* [26], plantulele de arabidopsis [27] și bulbi de ceapă (*Allium cepa* L.) [28]. Cu toate acestea, s-a demonstrat că ionii de cupru au un efect inhibitor slab asupra FA din semințele de *Nelumbo nucifera* [12] sau, dimpotrivă, activează FA din răsăturile de *Vigna mungo* L. [17].

Tabelul 1. Efectul *in vitro* al diferitor cationi asupra activității fosfatazei acide (FA) din citosolul celulelor radiculare ale plantelor *Pisum sativum* L.

Diferiți compuși cationici [5 mM]	Activitatea FA (% față de martor)
CaCl_2	98,89
MgSO_4	96,06
MgCl_2	85,34
KCL	71,18
NaCl	63,92
K_2HPO_4	57,76
KH_2PO_4	55,91
KNO_3	55,54
NH_4HPO_4	48,15

Cobaltul (Co) este considerat un element benefic pentru unele plante, dar esențialitatea sa pentru plante rămâne obscură, deși unii cercetători [29] consideră că și cobaltul este un micronutrient potențial esențial pentru plante. Influența cobaltului, cum ar fi CoCl_2 și CoSO_4 , asupra activității FA *in vitro* n-a fost semnificativă, nivelul activității FA în variantele experimentale fiind practic la nivelul martorului, cu tendința ușoară de activare a activității enzimatice (fig. 1).

În tab. 2 sunt prezentate rezultatele studierii efectului *in vitro* al diferitor cationi la concentrația de 5 mM p-NF asupra activității FA din citosolul celulelor radiculare ale plantelor de mazăre. Efectul *in vitro* al cationilor de calciu și magneziu, precum CaCl_2 și MgSO_4 asupra activității FA a prezentat tendința ușoară de diminuare a activității enzimatice. Iar cationii de magneziu, potasiu și sodiu, precum MgCl_2 , KCl și respectiv NaCl au demonstrat un efect *in vitro* moderat de inhibare ($\approx 14,6$; $28,8$ și respectiv 36%) a activității FA din rădăcinile de mazăre (tab.1). Deși magneziul divalent (MgCl_2) nu a avut niciun efect asupra activității FA în timpul germinării semințelor de *Vigna sinensis* [30]. Cationii de potasiu, ca K_2HPO_4 , KH_2PO_4 și KNO_3 , s-au dovedit a fi inhibitori mai puternici ai activității FA, reprezentând $\approx 42-44\%$, față de martor. Anterior [30], a fost raportat ca fosfatul anorganic, produsul final al reacției mediate de fosfatază, a inhibat competitiv fosfatazele acide multiple din germenii de *Vigna sinensis*. Însă, cationii NH_4^+ au demonstrat cel mai mare efect inhibitor *in vitro* asupra activității FA ($51,85\%$) din rădăcinile de mazăre (tab.1). Deși, activitatea FA din boabele de *Vigna umbellata* Thunb. [31] și *Macrotyloma uniflorum* [32] nu a fost afectată de cationii de sodiu, potasiu și amoniu. S-a demonstrat că adăugarea KH_2PO_4 în reacția catalizată de FA a diminuat hidroliza p-NF, în timp ce adăugarea de NaH_2PO_4 la mixtura de reacție n-a influențat hidroliza p-NF din cotiledoanele de *Psoralea corylifolia* L. [33]. Pentru FA din boabele de (*Vigna umbellata* Thunb.) fosfatul s-a dovedit a fi cel mai important inhibitor anionic [31]. Autorii menționează, de asemenea, că FA din boabele de mazăre (*Vigna umbellata* Thunb.) nu este afectată de prezența cationilor de calciu, magneziu, mangan și cobalt în amestecul de reacție, ceea ce le-a permis să presupună că pentru activitatea catalitică a FA nu sunt necesari cationii de valenți [31].

O gamă largă de compuși modulatori chimici au fost testați pentru efectele lor asupra fosfatazei din celulele animale și vegetale [34]. Rezultatele studierii efectului *in vitro* a unor compuși-inhibitori specifici

ai fosfataze acide asupra activității FA din citosolul celulelor radiculare a plantelor de mazăre sunt prezentate în fig. 2. Inhibitorii enzimatici sunt compuși care modifică cataliza enzimatică, reducând sau întrerupând reacțiile. Rezultatele au demonstrat (fig. 2) că activitatea FA cu 5 mM p-NF ca substrat din rădăcinile plantelor de mazăre a fost puternic inhibată, cu ≈ 97 -98%, de sodiu ortovanadat și molibdatul de sodiu. Pe când molibdatul de amoniu, după cum se observă din fig. 2, a exercitat o inhibiție completă asupra activității FA din rădăcinile plantelor de mazăre. Prezența 1-naftil fosfat disodic (5 mM), după cum se vede [fig. 2], a inhibat activitatea totală a FA cu 72%. Adăugarea *in vitro* a cianurii de potasiu și azidei de sodiu în mediu de reacție a cauzat o inhibiție moderată, de 28 și respectiv 13%, asupra FA din rădăcinile de mazăre. Rezultatele acestea sunt în concordanță cu datele obținute în timpul germinării embrionilor semințelor de porumb [34].

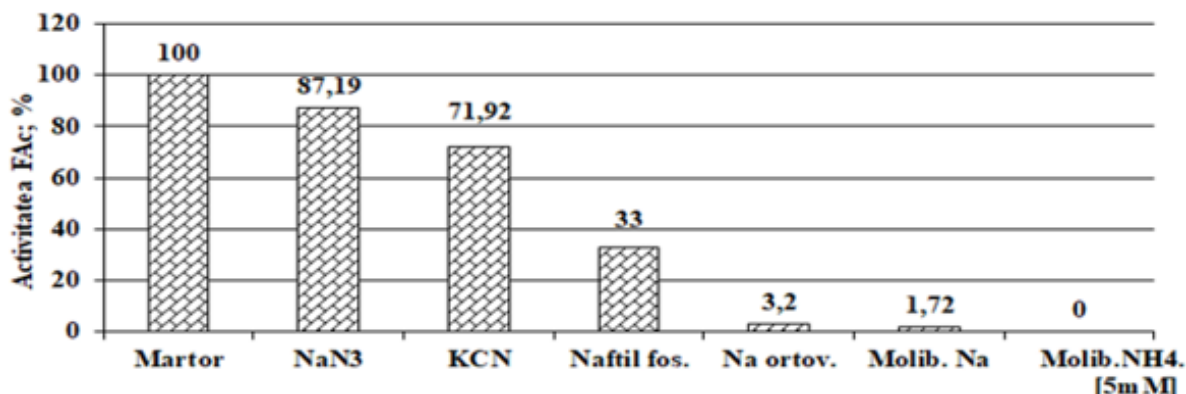


Figura 2. Efectul aplicării *in vitro* al inhibitorilor specifici ai fosfatazei ca: azida de sodiu - NaN_3 , cianura de potasiu - KCN, 1-naftil fosfat disodic - $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{Na}_2\text{O}_5\text{P}$, sodiul ortovanadat - Na_3VO_4 , molibdatul de sodiu- Na_2MoO_4 molibdatul de amoniu - $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$, asupra activității FA din rădăcinile *Pisum sativus* L.

Concluzii

În acest studiu, au fost investigate efectele ionilor metalici și ale altor ioni (5 mM) asupra fosfatazei acide (PA) din rădăcinile de mazăre (*Pisum sativum* L.). Toți efectorii au exercitat grade diferite de efect inhibitor asupra enzimei. S-a demonstrat că enzima solubilă nu a fost modificată semnificativ *in vitro* sub influența CoSO_4 , CoCl_2 , CaCl_2 , MgSO_4 și CdCl_2 , o ușoară inhibiție de $\approx 13\%$ a fost demonstrată de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, iar FeSO_4 , KCl și NaCl au exercitat o inhibiție moderată de 28%, 29% și respectiv 36%. CuSO_4 , MnSO_4 , ZnSO_4 și ZnCl_2 au prezentat o inhibiție enzimatică mai pronunțată de 41%, 48%, 56% și respectiv 63%. O inhibiție enzimatică mai pronunțată (42-52%) a fost observată și pentru unii ioni de fosfat. Printre ionii metalici, ionii de molibdat și ortovanadat au fost cei mai puternici inhibitori ai activității FA.

Bibliografie:

1. PRAZERES, J., FERREIRA, C. V., AOYAMA, H. Acid phosphatase activities during the metabolism. In: *Physiology Plantarum*, 1994, vol. 90, no 4, p. 791–800. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1994.tb02539.x>
2. CAUȘ, M. Changes in acid phosphatase activity and isoform patterns in root cytoplasmic and membrane bound protein fractions of *Pisum sativum* L. seedlings exposed to cadmium application. In: *Lucrări științifice. Seria Horticultură*, 2016, vol. 59, nr.1, p. 49-55. ISSN 1454-7376.
3. PLAXTON, W.C., CARSWELL, M.C. Metabolic aspects of the phosphate starvation response in plants. In: *Lerner H.R, eds. Plant responses to environmental stresses: from phytohormones to genome reorganization*. New York, Marcel Dekker, 1999, 349p. Doi:10.1201/9780203743157-16
4. YENIGUN, B., GUVENILIR, Y. Partial purification and kinetic characterization of acid phosphatase from garlic seedlings. In: *Applied Biochem. Biotech.*, 2003, vol. 107, p. 677-687. <https://doi.org/10.1385/ABAB:107:1-3:677>.
5. SURCHANDRA, T.H., ROY S. S., RAKESH N SINGH N., et al. Partial purification and biochemical characterization of acid phosphatase from germinated mung bean (*Vigna radiata*) seeds. *African J. Biotech.*, 2012, vol. 11(103), p. 16777-16782. Doi: 10.5897/AJB12.2552.

6. RAHMAN, Z., SINGH, V.P. The relative impact of toxic heavy metals (THMs) (Arsenic (As), Cadmium (Cd), Chromium (Cr) (VI), Mercury (Hg), and Lead (Pb)) on the total environment: An overview. In: *Environmental Monitoring and Assessment*, 2019, vol. 191, no. 419, 1-21. [https://doi: 10.1007/s10661-019-7528-7](https://doi.org/10.1007/s10661-019-7528-7)
7. PANARA, F., PASQUALINI, S., ANTONIELLI, M. Multiple forms of barley root acid phosphatase: purification and some characteristics of the major cytoplasmic isoenzyme. In: *Biochem. Biophys. Acta*, 1990, vol. 1073, p. 73–80. [https://doi: 10.1016/0167-4838\(90\)90103-m](https://doi.org/10.1016/0167-4838(90)90103-m)
8. KÜPPER, H., KRONECK, P.M.H. Heavy metal uptake by plants and cyanobacteria. In: *Metal ions in biological systems*, 2005, vol. 43, chapter 13 (Eds.: Sigel A, Sigel H, Sigel RKO). Marcel Dekker, Inc., New York, 2005, p. 97-144. PMID: 15971666.
9. PATRA, M., BHOWMIK, N., BANDOPADHYAY, B., SHARMA, A. Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. In: *Environmental Experimental Botany*, 2004, vol. 52, p.199–223. [https://doi: 10.1016/j.envexpbot.2004.02.009](https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2004.02.009)
10. SHARMA, A., TALUKDER, G. Metals as clastogens—some aspects of study. In: *Sharma, A.K., Sharma, A. (Eds.), Advances in cell and chromosome research*. Oxford & IBH Publ., New Delhi, 1989, p. 197–213.
11. HINOJOSA, M.B., CARREIRA, J.A. et al. Soil moisture pre-treatment effects on enzyme activities as indicators of heavy metal-contaminated and reclaimed soils. In: *Soil Biol. Biochem.*, 2004, vol. 36, p. 1559–1568. [https://doi: 10.1016/j.soilbio.2004.07.003](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.07.003)
12. TABALDI, L.A., RUPPENTHALR, R., CARGNELUTTI, D., et al. Effects of metal elements on acid phosphatase activity in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings. In: *Environ. Exp. Botany*, 2007, vol. 59, p. 43–48. [https://doi: 10.1016/j.envexpbot.2005.10.009](https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.10.009)
13. ASADUZZAMAN, A.K.M., HABIBUR, R.M., TANZIMA, Y. Purification and characterization of acid phosphatase from a germinating black gram (*Vigna mungo* L.) seedling. In: *Arch. Biol. Sci.*, Belgrade, 2011, vol. 63 (3), 747-756. [https://doi:10.2298/ABS1103747A](https://doi.org/10.2298/ABS1103747A)
14. ZHANG, C., MCMANUS, M.T. Identification and characterization of two distinct acid phosphatase in walls of roots of white clover. In: *Plant Physiol. Biochem.*, 2000, vol. 38 (4), p. 259–270. [https://doi: 10.1016/S0981-9428\(00\)00751-8](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(00)00751-8)
15. OLCZAK, M., WATOREK, W., MORAWIECKA, B. Purification and characterization of acid phosphatase from yellow lupin (*Lupinus luteus*) seeds. In: *Biochem. Biophys. Acta*, 1997, vol. 1341, p. 259–270. [https://doi: 10.1016/s0167-4838\(97\)00055-1](https://doi.org/10.1016/s0167-4838(97)00055-1)
16. KHAN, S., KHAN, S., BATOOL, S., AHMED, M. Purification and biochemical characterization of acid phosphatase – I from seeds of *Nelumbo nucifera*. In: *Natural Product Research*, 2016, vol. 30, p. 570-573. [https://doi: 10.1080/14786419.2015.1033625](https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1033625)
17. IVACHENKO, L.E., TROFIMTSOVA, I.A., CHERNYSHUK, D.K. Influence of conditions of cultivation on the activity of acid phosphatase amaranth. In: *Intern. Res. J.*, 2016, № 11-2 (53), p. 127–130. [https://doi: 10.18454/IRJ.2016.53.227](https://doi.org/10.18454/IRJ.2016.53.227)
18. DEL POZO, J.C., ALLONA, I., RUBIO, V. et al. 1999. A type 5 acid phosphatase gene from *Arabidopsis thaliana* is induced by phosphate starvation and by some other types of phosphate starvation and by some other types of phosphate mobilizing/ oxidative stress conditions. In: *Plant J.* 19, 579–589. [https://doi: 10.1046/j.1365-3113x.1999.00562.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-3113x.1999.00562.x)
19. MEHARG, A. A. Mechanisms of plant resistance to metal and metalloid ions and potential biotechnological applications. In: *Plant and Soil*, 2005, vol. 274, p. 163–174. [https://doi: 10.1007/s11104-004-0262-z](https://doi.org/10.1007/s11104-004-0262-z)
20. TEJERA GARCIA, N.A., OLIVERA, M., IRIBARNE, C., LLUCH, C. Partial purification of a non-specific acid phosphatase in leaves and root nodules of *Phaseolus vulgaris*. In: *Plant Physiol. Biochem.*, 2004, vol. 42, p. 585–591. [Doi: 10.1016/j.plaphy.2004.04.004](https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2004.04.004)
21. LISNIC, S., TOMA, S., LUPAN, A. et al. Conținutul de Fe, Cu, Mn, Zn, Pb și activitatea nitratoreductazei în plante în dependență de poluarea solului cu Pb și Cu. Aplicarea sulfatilor. În: *J. Intellectus*, Comunicări științifice, 2/2014, p. 101-107.
22. NADIR, S., SAEED, A., NAZ, R., et al. Isolation, purification and characterization of acid phosphatase from germinating *Vigna radiata* seeds. In: *J. Chem. Soc. Pakistan.*, 2012, vol. 34(3), p. 717–727.

23. VELJANOVSKI, V., VANDERBELD, B. et al. Biochemical and molecular characterization of AtPAP26, a vacuolar purple acid phosphatase up-regulated in phosphate-deprived Arabidopsis suspension cells and seedlings. In: *Plant Physiol.*, 2006, vol. 142(3), p.1282–1293. [https://doi: 10.1104/pp.106.087171](https://doi.org/10.1104/pp.106.087171)
24. GUO, J., PESACRETA, T.C. Purification and characterization of an acid phosphatase from the bulb of *Allium Cepa* L. var. Sweet Spanish. In: *J. Plant Physiol.*, 1997, vol.151(5), p. 520–527. [https://doi: 10.1016/S0176-1617\(97\)80225-8](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(97)80225-8)
25. HU X., WEI, X., LING, J., CHEN, J. Cobalt: An essential micronutrient for plant growth? In: *Front Plant Sci.*, 2021, vol. 6:12:768523. [https://doi: 10.3389/fpls.2021.768523](https://doi.org/10.3389/fpls.2021.768523)
26. BISWAS, T.K., CUNDIFF, C. Multiple forms of acid phosphatase in germinating seeds of *Vigna sinensis*. In: *Phytochemistry*, 1991, vol. 30, no.7, p. 2119-2125. [https://doi: 10.1016/0031-9422\(91\)83598-F](https://doi.org/10.1016/0031-9422(91)83598-F)
27. NONGPIUR, S.R., AMBASHT, P.K. Rice bean (*Vigna umbellata* Thunb.) acid phosphatase: Effect of metal ions and metabolites. In: *J. Sci. Res. of The Banaras Hindu University*, 2022, vol. 66(3), p. 79-85. [https://doi: 10.37398/JSR.2022.660311](https://doi.org/10.37398/JSR.2022.660311)
28. TAGAD, C.K., & SABHARWAL, S.G. Purification and characterization of acid phosphatase from *Macrotylo-ma uniflorum* seeds. In: *J. Food Sci. Technology*, 2018, vol. 55, p. 2941-2949. [https://doi: 10.1007/s13197-017-2941-9](https://doi.org/10.1007/s13197-017-2941-9)
29. SINGH, S., & LUTHRA, P.M. Identification, characterization and partial purification of acid phosphatase from cotyledons of *Psoralea corylifolia* L. In: *American J. Plant Physiol.*, 2011, vol. 6, 228-241. [https://doi: 10.3923/ajpp.2011.228.241](https://doi.org/10.3923/ajpp.2011.228.241)
30. SENNA, R., SIMONINA, V., SILVA-NETO, M.A.C., FIALHOA, E. Induction of acid phosphatase activity during germination of maize (*Zea mays*) seeds. In: *Plant Physiology and Biochemistry*, 2006, vol. 44 (7-9), p. 467–473. [https://doi: 10.1016/j.plaphy.2006.03.008](https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2006.03.008)

N. B.: Cercetările au fost realizate în cadrul subprogramului 011101 „Abordări genetice și biotehnologice de management al agroecosistemelor în condițiile schimbărilor climatice”.

Date despre autor:

Maria CAUȘ, doctor în științe biologice, cercetător științific coordonator, Laboratorul Biochimia Plantelor, Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, Universitatea de Stat din Moldova.

ORCID: 0000-0001-7914-3482

E-mail: mcaus2021@yahoo.com

Prezentat: 29.09.2025