مقایسه پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی قطعات جداکشت دو واریته شیرین بیان به مولیبدن و اسید سالیسیلیک*

Comparison of physiological and biochemical responds between two varieties of *Glycyrrhiza glabra* to molybdenum and salicylic acid

فرانسواز برنارد، مونا نوری** **، زهرا مهرابی کوشکی و حسین شاکر بازارنو**

گروه زیست شناسی، دانشگاه شهید بهشتی

دریافت: ۱۳۸۶/۹/۲۷ پذیرش: ۱۳۸۷/۴/۱

چکیده

جهت مقایسه پاسخ دو واریته گیاه شیرین بیان در برابر تغییر شرایط محیطی، میزان آنتوسیانین، اکسید نیتریک و گلیسیریزیک اسید و همچنین فعالیت پراکسیداز در کشت کالوس *Glycyrrhiza glabra* var. *glabra* و *G. glabra* var. *glandulifera* مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور کالوس‌های به دست آمده از قطعات ریشه‌ای به مدت دو هفته تحت تیمارهای مولیبدن ($mg.l^{-1}$ ۶۰)، اسید سالیسیلیک (۵ µM) و تیمار توام مولیبدن و اسید سالیسیلیک قرار گرفت. طبق نتایج به دست آمده واریته *glabra* در هر سه تیمار افزایش و واریته *glandulifera* کاهش آنتوسیانین را نشان دادند. میزان اکسید نیتریک در هر دو واریته تحت هر سه تیمار افزایش داشت. میزان اسید گلیسریزیک نیز در دو واریته تنها در تیمارهای حاوی اسید سالیسیلیک افزایش نشان داد و نهایتا فعالیت پراکسیداز نیز در دو تیمار مذکور در واریته *glabra* افزایش و در *glandulifera* کاهش نشان داد. از آنجا که دو واریته از نظر مقادیر

---

* بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد به راهنمایی خانم دکتر فرانسواز برنارد ارایه شده به دانشگاه شهید بهشتی

** مسئول مکاتبه (E-mail: m_1981_n@yahoo.com)

Archive of SID

www.SID.ir

اولیه پارامترهای اندازه‌گیری شده و پاسخ این دو در رویارویی با تغییرات محیط متفاوت است، لذا به نظر می‌رسد که توان دفاعی در دو واریته یکسان نمی‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین، اکسید نیتریک، پراکسیداز

مقدمه

گیاه شیرین بیان با نام علمی *Glycyrrhiza glabra* L. متعلق به تیره نخودیان می‌باشد (Campbell & Kellogg 1999) و در کشورهایی نظیر ایران، فرانسه، اسپانیا، روسیه، ترکیه، سوریه و چین گسترش دارد (Casulli & Ippolito 1995). دو واریته مهم این گیاه عبارتند از: *G. glabra* var. *glabra* و *G. glabra* var. *glandulifera* تفاوت دو واریته در رنگ گل، کرکدار بودن نیام و ضخامت ریزوم است از نظر نوع متابولیت‌های ثانویه این دو واریته کمابیش شبیه هم هستند. طبق بررسی *برنارد* و همکاران (Bernard *et al*. 2002) میزان اسید گلیسریزیک که یکی از متابولیت‌های مهم در این گیاه می‌باشد در نمونه‌های جمع‌آوری شده از طبیعت در دو واریته تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد ولی در کشت کالوس میزان این ترکیب بین دو واریته متفاوت می‌باشد. بنابراین، به دست آوردن اطلاعات بیشتر در زمینه تفاوت دو واریته در سطوح بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی دارای اهمیت می‌باشد و برای این منظور باید شرایط کاملا کنترل شده باشد در نتیجه می‌توان از تکنیک کشت بافت در شیشه استفاده نمود.

در این بررسی نیز هدف مطالعه پاسخ در برابر فلز مولیبدن (یکی از فلزات محیطی که به عنوان کوفاکتور برخی از آنزیم‌ها عمل می‌کند و البته در غلظت‌های بالا می‌تواند به عنوان یک استرس عمل نماید) و اسید سالیسیلیک (از ترکیبات مهم دفاعی گیاه) و مقایسه پاسخ‌ها در بافت‌های این دو واریته می‌باشد (این ترکیبات به تنهایی و به صورت توام جهت بررسی تاثیر اسید سالیسیلیک در شرایط تنش استفاده گردید). بدین منظور می‌توان به بررسی ترکیباتی نظیر متابولیت‌های ثانویه یا سیستم اکسایش- احیا که نشان دهنده پاسخ گیاهان در برابر تغییر شرایط محیطی می‌باشد پرداخت. در این تحقیق میزان آنتوسیانین، پراکسیداز، اکسید نیتریک (NO) و اسید گلیسریزیک (GA) به عنوان پارامترهای دفاعی گیاه مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

۱- کشت بذر

در این تحقیق از بذرهای جمع‌آوری شده در سال ۱۳۷۹ از منطقه آباده (استان فارس) استفاده گردید. جهت غلبه بر مشکل جوانه‌زنی، بذرها ۳۰ دقیقه در اسید سولفوریک ۹۸ درصد

Archive of SID

www.SID.ir

قرار داده شد و به منظور ضدعفونی کردن نیز بذرها ابتدا مدت یک دقیقه در الکل ۷۰ درصد و سپس ۲۰ دقیقه در هیپوکلریت سدیم یک درصد قرار گرفتند و نهایتا با آب مقطر استریل شستشو انجام گردید و بذرها به محیط MS (Murashige & Skoog 1962) بدون هورمون با pH =۵/۸ منتقل و در شرایط ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی و دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد و شدت نوری ۲۲۰۰ لوکس نگهداری شدند.

۲- کشت کالوس

از قطعات یک سانتی‌متری ریشه‌های ۱۰ روزه و بدون راس به عنوان قطعه جداکشت استفاده شد و این قطعات به محیط القای کالوس (محیط MS حاوی هورمون‌های 2,4-D و $mg.L^{-1}$ IAA ۰/۵ و $mg.L^{-1}$ BAP ۰/۱) منتقل گردید و در شرایطی مشابه شرایط جوانه‌زنی بذر نگهداری شد. واکشت کالوس‌ها نیز هر سه هفته یکبار انجام گردید.

۳- تیمارهای اعمال شده

کالوس‌ها پس از چهار ماه واکشت تحت تیمارهای مولیبدن به غلظت $mg.L^{-1}$ ۶۰، اسید سالیسیلیک ۵ µM و تیمار توام مولیبدن و اسید سالیسیلیک قرار گرفتند (جهت تهیه محیط تیمار از محیط القای کالوس استفاده گردید) و به مدت ۱۴ روز در اتاق کشت با شرایط ذکر شده در بند ۱ نگهداری شد.

۴- اندازه‌گیری آنتوسیانین

اندازه‌گیری آنتوسیانین به روش Do & Cormier (1990) انجام گرفت. پس از توزین ۰/۵ گرم از بافت‌ها و ساییدن نمونه‌ها جهت استخراج آنتوسیانین با حلال اتانول- اسید کلریدریک یک درصد (۸۵ : ۱۵)، عصاره حاصل به مدت یک شب در دمای چهار درجه نگهداری و پس از آن به مدت ۳۰ دقیقه در rpm ۵۰۰۰ سانتریفوژ شد و روشناور جهت تعیین چگالی نوری در ۵۳۵ نانومتر مورد استفاده قرار گرفت. تراکم آنتوسیانین با ضریب $mol.cm^{-1}$ ۹۸/۲ به ازای هر گرم وزن تر کالوس از رابطه زیر محاسبه شد:

Abs = extinction cofficient * (تراکم)

۵- اندازه‌گیری میزان اکسید نیتریک

اندازه‌گیری به روش Murphy (1994) انجام شد. به این منظور ۰/۵ گرم از کالوس‌های تیمار شده توزین و با یک میلی‌لیتر محلول عصاره گیری (استات سدیم M ۰/۱، کلرید سدیم M ۰/۱ و اسید آسکوربیک یک درصد W/V و pH= ۶) به مدت سه دقیقه در دمای صفر هموژن گردید. عصاره حاصل ۲۰ دقیقه در rpm ۱۰۰۰۰ در دمای چهار درجه سانتریفوژ و روشناور حاصل جداسازی شد و سپس تغییرات جذبی اکسی هموگلوبین و مت هموگلوبین در

Archive of SID

www.SID.ir

حضور اکسید نیتریک در ۴۲۱ و ۴۰۱ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت و میزان نیتریک اکسید از این رابطه محاسبه گردید:

$$NO = 77\ mM^{-1}.cm^{-1}[A_{401}(metHb) - A_{421}(HbO_2)]$$

۶- اندازه‌گیری میزان اسید گلیسیریزیک (GA)

به منظور استخراج از روش (Fu *et al.* 2005) استفاده شد ۰/۲ گرم از پودر کالوس‌ها (کالوس‌ها طی مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک شدند) با چهار میلی لیتر محلول اتانول- آب (۳۰:۷۰) مخلوط شد و سپس با استفاده از دستگاه evaporator حجم آن به دو میلی‌لیتر تقلیل یافت. و از عصاره حاصل برای تزریق در دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) استفاده گردید. سیستم HPLC به کار رفته در این پژوهش مدل Well chrom از شرکت Knauer آلمان با پمپ مدل K-1001 و آشکار ساز UV مدل K-2800 تنظیم شده در ۲۵۴ نانومتر و ستون C-18 می‌باشد. فاز متحرک شامل آب، استونیتریل و اسیدتری‌فلورواستیک می‌باشد. مقدار نمونه تزریق شده ۲۰ میکرولیتر بود و میزان اسید گلیسریزیک با استفاده از معادله زیر به دست آمد که y مساحت زیر نمودار و **x** غلظت GA می‌باشد:

$$y = 25740x-115523 \quad (R^2=0.9974)$$

۷- بررسی فعالیت پراکسیداز

جهت بررسی کمی و کیفی آنزیم پراکسیداز ابتدا ۰/۱ گرم بافت توسط محلول عصاره گیری (تریس mM HCl ۸، اسید آسکوربیک mM ۱۰، بوراکس mM ۱۰، کلرید سدیم mM ۱۰ و $EDTA\text{-}Na_2$ mM ۵ و پلی‌اتیلن گلیکول ۴۰۰ و pH= ۷) در دمای صفر درجه هموژنیزه گردید و عصاره‌های حاصل به مدت ۲۴ ساعت در دمای چهار درجه نگهداری و نهایتا مدت ۳۰ دقیقه در rpm ۴۰۰۰ سانتریفوژ شد و روشناور جهت اندازه‌گیری جدا گردید (Korori 1989). مطالعات کمی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر و با افزودن ۲۱/۷ میکرولیتر از سوپرناتانت به دو میلی‌لیتر معرف (بافر استات M ۰/۲ و pH=۴/۸، آب اکسیژنه ۳ درصد، بنزیدین M ۰/۰۱) و بررسی منحنی تغییرات جذب در طول موج nm ۵۳۰ به مدت ۲۴۰ ثانیه، انجام گرفت و فعالیت آنزیم بر حسب $Abs.min^{-1}.gr^{-1}FW$ محاسبه شد.

فعالیت کیفی نیز با استفاده از الکتروفورز ژل پلی‌اکریل آمید در سیستم بافری ناپیوسته شامل دو نوع ژل رویی و ژل زیری و با شدت جریان mA ۳۵ به مدت چهار ساعت اندازه‌گیری شد و جهت ظهور پراکسیداز روی ژل نیز از معرف رنگی بنزیدین در محیط بافری با pH=۴/۸ استفاده گردید.

Archive of SID

www.SID.ir

۸ - آنالیزهای آماری

آزمایش‌ها در قالب طرح‌های کاملا تصادفی CRD در سه سری و هر سری با چهار تکرار انجام شد. جهت مقایسه کلی نتایج از آنالیز واریانس ANOVA و برای مقایسه بین تیمارها از آزمون LSD استفاده گردید. آنالیزهای آماری به کمک نرم‌افزار SPSS9 و در سطح ۰/۰۵ صورت گرفت.

نتیجه و بحث

کلیه پارامترهای مورد بررسی در این تحقیق در نمونه شاهد واریته *glandulifera* نسبت به واریته *glabra* مقدار بالاتری را نشان داد که می‌تواند بیانگر بالاتر بودن توان دفاعی واریته *glandulifera* باشد.

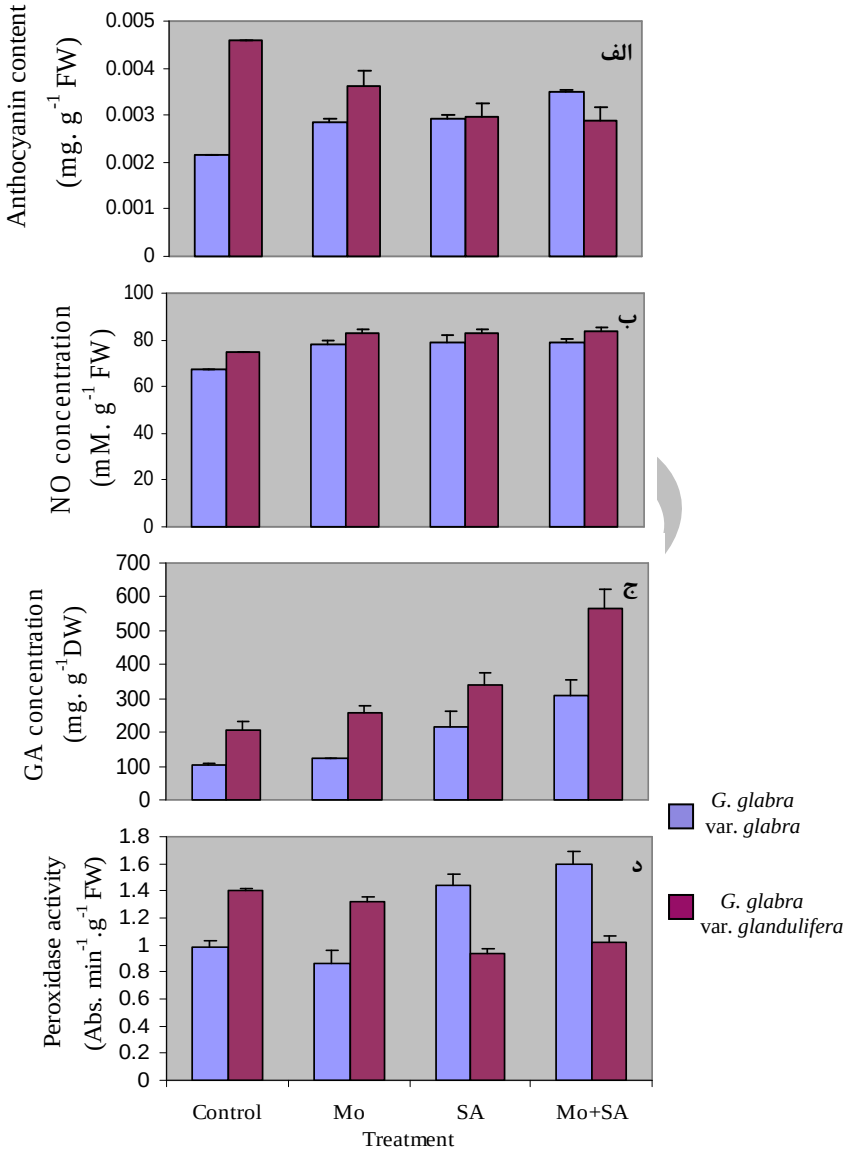
نتایج اندازه‌گیری آنتوسیانین در هر سه تیمار مولیبدن ($۶۰ mg.L^{-1}$)، اسید سالیسیلیک (۵ µM) و تیمار توام مولیبدن و سالیسیلیک اسید در دو واریته عکس یکدیگر بود به نحوی که در واریته *glabra* افزایش آنتوسیانین و در واریته *glandulifera* کاهش آنتوسیانین نسبت به شاهد حاصل گردید (شکل ۱- الف). مولیبدن از فلزات معدنی می‌باشد که در ساختار بسیاری از آنزیم‌ها به عنوان کوفاکتور عمل می‌کند ولی در غلظت‌های بالاسبب ایجاد سمیت در گیاه می‌شود. اغلب بافت‌های گیاهی مکانیسم‌های متفاوتی جهت کاهش اثرات سمی مولیبدن دارند که مهمترین آن‌ها کلاته کردن فلز به وسیله پپتیدها و اسیدهای آلی درون واکوئل می‌باشد. برای اولین بار *هیل* و همکاران (Hale *et al.* 2001) آنتوسیانین را به عنوان کلاته کننده دیگر مولیبدن گزارش کردند. واریته *glabra* می‌تواند از آنتوسیانین به عنوان کلاته کننده مولیبدن استفاده کند و به این منظور سنتز این ماده را افزایش داده است و در واریته *glandulifera* نیز امکان دارد از پپتیدها به عنوان کلاته کننده مولیبدن استفاده شده باشد.

اسید سالیسیلیک نیز از ترکیبات فنلی است که باعث فعال سازی آنزیم‌هایی نظیر PAL و شالکون سنتاز (CHS) می‌شود (Campos *et al.* 2003). امکان دارد اسید سالیسیلیک در واریته *glabra* با فعال سازی PAL و CHS که آنزیم‌های کلیدی در مسیر بیوسنتز آنتوسیانین هستند منجر به افزایش آنتوسیانین گردیده است. در واریته *glandulifera* که کاهش آنتوسیانین را نشان داد احتمالا فعال شدن PAL و CHS به سمت سنتز سایر متابولیت‌ها تغیر مسیر داده است. مشابه این نتیجه را *برنارد* و همکاران (Bernard *et al.* 2003) در گیاه چای به دست آوردند.

میزان اکسید نیتریک (NO) در هر دو واریته افزایش معنی‌داری را تحت هر سه تیمار نسبت به شاهد نشان داد (شکل ۱- ب). از آنجا که سنتز اکسید نیتریک در گیاهان عمدتا تحت اثر آنزیم نیترات ردوکتاز انجام می‌گیرد و مولیبدن نیز به عنوان کوفاکتور این آنزیم عمل

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- مقایسه میزان آنتوسیانین (الف)، نیتریک اکسید (ب)، اسید گلیسیریزیک (ج) و پراکسیداز (د) درکالوس‌های دو واریته *Glycyrrhiza glabra* var. *glabra* (رنگ روشن) و *G. glabra* var. *glandulifera* (رنگ تیره) تحت تیمارهای مولیبدن ($۶۰mg.l^{-1}$)، اسید سالیسیلیک (۵ µM) و تیمار توام Mo+SA پس از دو هفته.

Fig. 1. Comparative study of anthocyanin, nitric oxide, glycyrrhizic acid and peroxidase activity in *Glycyrrhiza glabra* var. *glabra* (light colour) and *G. glabra* var. *glandulifera* (dark colour) in response to 60 mg. l^{-1} molybdenum (Mo), 5µM salycylic acid (SA) and Mo+SA treatments after two weeks.

www.SID.ir

می‌کند، افزایش اکسید نیتریک تحت تیمار مولیبدن در هر دو واریته انتظار می‌رود. از طرف دیگر، تاکنون گزارش‌هایی مبنی بر افزایش NO تحت تاثیر ترکیبات فنلی ارایه شده است (Paul 2004). در این پژوهش نیز اسید سالیسیلیک به عنوان یک ترکیب فنلی باعث افزایش تولید NO گردیده است که در حقیقت مسیر علامت دهی NO و اسید سالیسیلیک بر یکدیگر برهم کنش دارند.

میزان اسید گلیسریزیک در دو واریته تحت تاثیر مولیبدن تغییر معنی‌داری نداشت. در حالی که تیمارهای حاوی اسید سالیسیلیک باعث افزایش این ترکیب در هر دو واریته گردیده است (شکل ۱- ج). اسید سالیسیلیک یکی از ترکیبات موثر و مناسب در سنتز متابولیت‌های ثانویه از جمله اسید گلیسریزیک می‌باشد به نحوی که در هر دو واریته میزان این ترکیب در حضور اسید سالیسیلیک تقریبا دو برابر شاهد گردیده است. جالب است که در واریته *glandulifera* علی رقم اینکه مولیبدن بر میزان اسید گلیسریزیک تاثیر نداشته است ولی با همکاری اسید سالیسیلیک باعث تفاوت در میزان این ترکیب گردیده که نسبت به تیمار اسید سالیسیلیک معنی‌دار بوده است.

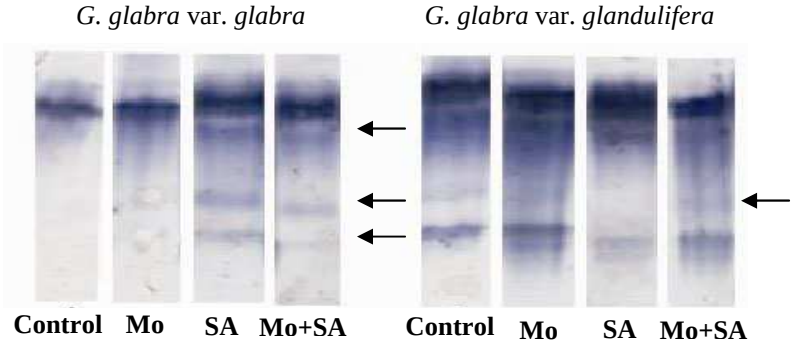
جالب توجه است که دو واریته در سطح پراکسیداز با هم متفاوت بودند، مولیبدن تاثیری بر فعالیت کمی پراکسیداز در دو واریته نداشته است، ولی تیمار اسید سالیسیلیک باعث تغییر در فعالیت پراکسیداز گردید. البته دو واریته پاسخ‌های متفاوتی را نشان دادند به طوری‌که در واریته *glabra* تحت تیمارهای SA و Mo+SA افزایش پراکسیداز و در واریته *glandulifera* کاهش فعالیت آنزیم مشاهده گردید (شکل ۱- د). در بررسی‌های کیفی نیز تفاوت ایزوزیم‌ها آشکار است به طوری‌که در واریته *glabra* تحت تاثیر اسید سالیسیلیک سه باند جدید نسبت به شاهد ایجاد شد و در واریته *glandulifera* یک باند نسبت به شاهد حذف شده و یک باند جدید ظاهر گردیده است (شکل ۲).

اسید سالیسیلیک می‌تواند موجب القای بیان پروتئین‌های PR گردد (Ferrari *et al.* 2003) پراکسیدازها نیز متعلق به گروه PR-9 هستند (Lagrimini *et al.* 1987) به نظر می‌رسد که فعال شدن پراکسیداز تحت تیمار اسید سالیسیلیک در واریته *glabra* بر این اساس رخ داده باشد. از طرفی اسید سالیسیلیک می‌تواند باعث تولید ترکیبات ROS گردد و این عمل را با فعال سازی آنزیم‌های دخیل در تولید این ترکیبات و مهار آنزیم‌های تجزیه کننده آن‌ها از جمله پراکسیداز انجام می‌دهد و در واریته *glandulifera* نیز اسید سالیسیلیک چنین نقشی را ایفا کرده است.

با توجه به پاسخ‌های متفاوت این دو واریته و متفاوت بودن مقادیر اولیه به نظر می‌رسد که واریته *glandulifera* مقاوم‌تر از واریته *glabra* می‌باشد. از آنجا که اسید سالیسیلیک یک ترکیب موثر در سیستم دفاعی گیاهان محسوب می‌شود، ممکن است متفاوت بودن میزان اسید

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۲- مقایسه کیفی آنزیم پراکسیداز تحت تیمارهای مولیبدن ($mg.L^{-1}$ ۶۰)، اسید سالیسیلیک (۵ µM) و تیمار توام Mo+SA پس از دو هفته. فلش‌ها در واریته *glabra* نشان دهنده باندهای جدید نسبت به شاهد می‌باشد که در تیمار SA و Mo+SA ایجاد شده است و فلش در واریته *glandulifera* بیانگر باند حذف شده در این دو تیمار نسبت به شاهد می‌باشد.

Fig. 2. Comparison of peroxidase activity between *G. glabra* var. *glabra* and var. *glandulifera* treated by 60 $mg.l^{-1}$ molybdenum (Mo), 5µM salycylic acid (SA) and Mo+SA after two weeks. Some new isozyme was appeared in var. *glabra* and one band has been omitted in var. *glandulifera* in treatments containing SA.

سالیسیلیک درونی این دو واریته عامل این اختلافات محسوب گردد و این امر می‌تواند مبنای تحقیقات بعدی قرار گیرد و اما پیشنهادی قابل طرح است که با توجه به تفاوت‌های مورفولوژیکی و پاسخ‌های متفاوت فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی این دو واریته می‌توان آن‌ها را به عنوان زیر گونه یا دو گونه مجزا از هم در نظر گرفت البته در صورتی که بررسی‌های سیتوژنتیکی تایید کننده این مطلب باشد.

منابع

جهت ملاحظه منابع به متن انگلیسی مراجعه شود.

نشانی نگارندگان: دکتر فرانسواز برنارد، مونا نوری، زهرا مهرابی کوشکی و دکتر حسین شاکر بازارنو، گروه زیست شناسی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران.

Archive of SID

www.SID.ir

To observe the figures, refer to the Persian text.

References

BERNARD, F., SOLEYMANI, S.H., REZAEI, M.B. and JAYMAND,K. 2002. Study of glycyrrhizic acid in roots and calluses of different populations of *Glycyrrhiza glabra* L. J. Sci. Teacher Training University 2: 88-96 (In Persian).

BERNARD, F., KARGAR, Z., SHAKER-BAZARNOV, H. and DAVARANI, S.S.H. 2003. Antagonistis effects of mannitol and SA on (+) - catechin accumulation in *Camellia sinensis* L. calluses. Iranian Journal of Science & Technology. 27: 169-174.

CAMPBELL, J. and KELLOGG. 1999. Plant systematics. Aphylogenetic Aporoach.

CAMPOS, A.D., FERRIERA, A.G., HAMPE, M.M.V., ANTUNES, I.F., BRACAO, N., SILVERIA, E.P., ANTUNES, I.F., BRACAO, N., SILVERIA, E.P. and OSORIO, V.A. 2003. Induction of chalcone synthase and phenylalanine ammonia-lyase by salicylic acid and *Colletrichum lindemuthianum* in common bean. Braz. J. Plant Physiol. 15(3): 129-134.

CASULLI, F. and IPPOLITO, A. 1995. Observations on liquorices rust in southern Italy. Informatore Fitopatologico 45: 27-30.

DO, C.B. and CORMIER, F. 1990. Accumulation of anthocyanins enhanced by a higher osmotic potential in grape (*Vitis virifera* L.) cell suspensions. Plant Cell Rep. 9: 143-146.

FERRARI, S., POLTNIKOVA, J.M., DE LORENZO, G. and AUSUBEL, F.M. 2003. Arabidopsis local resistance to Botrytis cinerea involves salicylic acid and camalexin and requires EDS4 and PAD2, but not SID2, EDS5 or PAD4. Plant Journal 35: 193-205.

FU, B., LIU, J., LI, H., LEE, F.S.C., WANG, X. 2005. The application of macroporous resins in the separation of licorice flavonoids and glycyrrhizic acid. Journal of Chromatography A.

HALE, K.L., MCGRATH, S.P., LOMBI, E., STACK, S.M., TERRY, N., PICKERING, I.J., GEORGE, G.N. and PILON-SMITS, E.A.H. 2001.

Archive of SID

www.SID.ir

Molybdenum sequestration in Brassica species. A role for anthocyanins?. Plant Physiology 126: 1391-1402.

KORORI, S.A.A. 1989. Gel elektrophorestische and spektralphotomet rishe unteruchugen zum einslussder temperature ivs struktur and okapivitat der amylase und peroxidase isoenzyme verschicdener bsvmarten. PhD Thesis, University sur Boden Kultur, Wien.

LAGRIMINI, L.M., BURKHART, W., MOYER, M. and ROTHSTEIN, S. 1987. Molecular cloning of complementary DNA encoding the lignin-forming peroxidase from tobacco: molecular analysis and tissue-specific expression. Proc. Natl. Acad. Sci., USA. 84: 7542-7546.

PAUL, C.B., MURRAY, R.B. and RUSSELL, L.J. 2004. Apoplastic synthesis of nitric oxide by plant tissues. Plant Cell 16(2): 332-341.

Address of the authors: Dr. F. BERNARD, M. NOORI, Z. MEHRABI KUSHKI and Dr. H. SHAKER BAZARNOV, Science Branch, Department of Biology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

Archive of SID

www.SID.ir