

بررسی تاثیر آهن بر محتوای اسانس گیاه ریحان (*L. asilicumb Ocimum*)

الهام رجب بیگی^۱، فائزه قناتی^{۱*}، فاطمه سفیدکن^۲

^۱ گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

^۲ موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، تهران، ایران

* مسئول مکاتبات- آدرس الکترونیکی: ghangia@modares.ac.ir

(دریافت: ۸۵/۱۱/۱۶؛ پذیرش: ۸۶/۳/۱۳)

چکیده

آهن از عناصر ضروری ولی کم مصرف گیاهان می باشد که فعالیت بسیاری از آنزیمهای گیاه را تحت تاثیر قرار می دهد. در این بررسی، گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*) در مرحله رویشی به مدت ۶ روز با ۲۱ ppm آهن تیمار شد. در این مدت رشد گیاه اندازه گیری شد و پس از جمع آوری اندام هوایی، اسانس آن مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشان داد که رشد گیاهان تیمار شده با آهن در مقایسه با گروه شاهد به شدت کاهش یافت. ترکیب غالب در گروه شاهد به ترتیب متیل کاپیکل، ژرانیول و نرول بود، در حالی که پس از تیمار با آهن درصد نسبی متیل کاپیکل کاهش یافته و تقریباً برابر با درصد نسبی ژرانیول و نرول شد. کاربوفیلین اکسید و نئو الواسیمین ترکیباتی هستند که درصد نسبی آنها بطور قابل ملاحظه ای در گروه تیمار شده با آهن افزایش یافت.

واژه های کلیدی: اسانس، آهن، پلی فنل اکسیداز، ریحان (*Ocimum basilicum*)، فنیل آلانین آمونیاپاز.

مقدمه

بیشترین فراوانی را دارد (Javanmardi et al. 2002). ترکیبات فنلی این گیاه از خاصیت آنتی اکسیدانی بالایی برخوردارند (Javanmardi et al. 2003). هدف این تحقیق، بررسی تاثیر آهن بر رشد و محتوای اسانس گیاه ریحان کاشته شده در شرایط گلخانه ای می باشد.

مواد و روش ها

کشت گیاه

بذرهای اصلاح شده گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L) از شرکت خدمات کشاورزی ایران تهیه شده و در گلدان های حاوی مخلوط شن- ماسه و هوموس به نسبت ۲:۱ در محیط گلخانه ای (دمای حدود $27 \pm 2^{\circ}C$ و دانسیته نوری معادل $58 \mu mol m^{-2} s^{-1}$) پرورش یافتند. گیاهان هر روز با آب معمولی آبیاری شدند (رجب بیگی و همکاران ۱۳۸۵). خاک بستر گیاه برای تجزیه به آزمایشگاه موسسه تحقیقات آب و خاک فرستاده شد و ویژگیهای شیمیایی و فیزیکی آن تعیین گردید که نتایج آن در جدول ۱ آورده شده است. پس از یک ماه گیاهان به گروه تیمار و شاهد تقسیم شدند که هر گروه شامل حداقل سه گلدان بود که در هر کدام از گلدانها حدود ۱۵ گیاه وجود داشت. گروه اول گروه شاهد بوده که هیچگونه تیماری دریافت نکرد. گروه دوم به مدت ۶ روز و هر روز با ۳/۵ ppm آهن تیمار شد. پس از پایان دوره تیماردهی گیاهان گروههای شاهد و تیمار به منظور اسانس گیری جمع آوری شدند و پس از شستشو با آب در دمای اتاق خشک گردیدند.

آهن یکی از عناصر ضروری اما کم مصرف در اکثر گیاهان می باشد. نقش این عنصر در تثبیت ازت و فعالیت برخی آنزیمها نظیر کاتالاز، پراکسیداز و سیتوکروم اکسیداز بخوبی مورد بررسی قرار گرفته است (Blakrishman 2000, Ruiz et al. 2000, Welch et al. 1991). با این وجود، افزایش مقدار این عنصر می تواند به ایجاد اکسیژن فعال و در نتیجه استرس اکسیداتیو منجر شود (Suh et al. 2002). استرس آهن خود به عواملی نظیر مکانیسمهای متابولیسم، جذب آهن، غلظت بالای HCO_3^- در خاک و برهمکنش با سایر عناصر مربوط می شود (Longnecker 1995, Nikolic & Kastori 2000, Korkak 1987). مطالعات انجام شده بر روی *Origanum vulgare* جنس دیگری از خانواده لامیاسه نشان داده است که افزایش غلظت آهن در محیط سبب کاهش بیوماس و همچنین کاهش کل محتوای اسانس در این گیاه گردید. با این وجود هنوز اطلاعات اندکی در رابطه با نقش آهن در تولید متابولیت های ثانویه وجود دارد (Yeritsyan & Economakis 2002). ریحان گیاهی علفی از تیره نعنائیان است که بین ۵۰ تا ۱۵۰ گونه برای آن معرفی شده است. اسانسهای ریحان در صنایع مختلف غذایی، دارویی و بهداشتی مورد استفاده قرار می گیرد. مقدار و نوع اسانس تحت تاثیر شرایط مختلف محیطی می تواند متفاوت باشد (Bowes & Zheljzakov 2004). تحقیقات جوانمردی و همکاران بر روی ارقام محلی گیاه ریحان در ایران نشان داده است که این گیاه دارای ترکیبات فنلی بسیار متنوعی می باشد که در بین آنها رزمارینیک اسید

اندازه‌گیری رشد طولی ساقه

طول ساقه هر یک از گیاهان شاهد و تیمار قبل از آزمایش و پس از آن اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری از فاصله جوانه رأسی تا محل اولین دو برگ گیاه انجام شد.

اسانس‌گیری

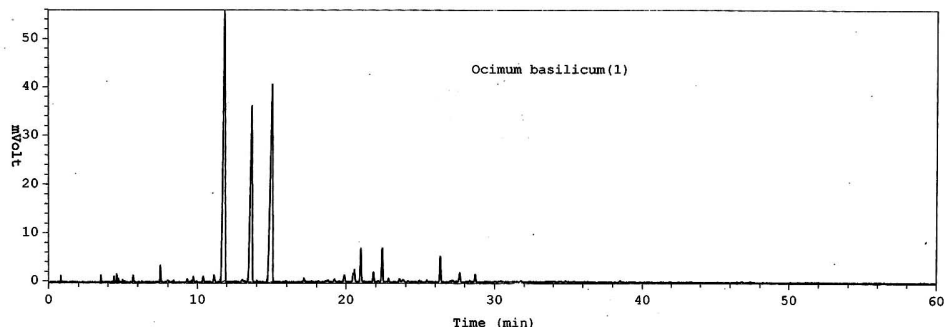
حدود ۵۰ g گیاه خشک از نمونه‌های شاهد و تیمار شده با آهن پس از خرد شدن به روش تقطیر با آب با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۳-۴ ساعت اسانس‌گیری شدند و اسانسهای جمع‌آوری شده پس از توزین با دستگاه کروماتوگراف گازی بررسی گردید (شکل ۱) (Mechkovski & Akerele 1992).

شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس

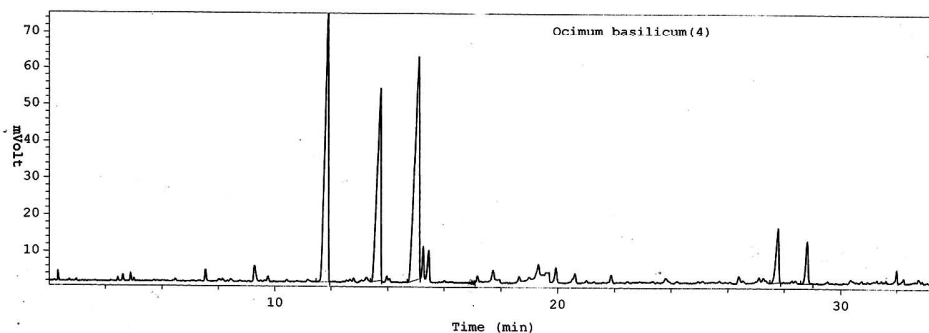
جدول ۱- آنالیز فیزیکی و شیمیایی خاکی که گیاهان ریحان در آن کشت شدند.

Soil parameters ^a									
pH	EC(dsm ⁻¹)	%O.C	%Total N	P(ppm)	K(ppm)	Mn(mg/kg)	Fe(mg/kg)	Cu(mg/kg)	Zn(mg/kg)
۷/۶	۴/۸۵	۱/۷۹	۰/۱۵۳	۵۲/۴	۶۷۰	۱۳	۱۲/۴	۰/۹۴	۳

Operator: Mohammad Mahdi Barzandeh, M.Sc.
 Base: Sef-Oc1
 DOS path: e:\sef-oc1.bw
 Object name: Sef-Oc1, Second Analysis_Chn1 - Created: 13/08/2005, 11:16
 Object type: Curve
 Path: >Sef-Oc1



Operator: Mohammad Mahdi Barzandeh, M.Sc.
 Base: Sef-Oc4
 DOS path: e:\sef-oc4.bw
 Object name: Sef-Oc4, Chromatogram_Chn1 - Created: 17/08/2005, 10:56
 Object type: Curve
 Path: >Sef-Oc4



شکل ۱- کروماتوگرامهای اسانس گیاه ریحان. گروه شاهد (بالا) گروه تیمار شده با آهن (پایین).

کروماتوگراف گازی

کروماتوگراف گازی Shimadzu مدل ۹A مجهز به ستون DB5 به طول ۳۰ متر و قطر درونی ۰/۲۵ میلی‌متر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر می‌باشد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از دمای اولیه ۶۰ درجه سانتیگراد شروع شده، بتدریج با سرعت ۳ درجه سانتیگراد در دقیقه افزایش یافته تا به ۲۱۰ درجه سانتیگراد رسید. دمای محفظه تزریق و آشکارساز به ترتیب ۲۸۰ و ۳۰۰ درجه سانتیگراد تنظیم شده بود. آشکارساز مورد استفاده در دستگاه از نوع FID بوده و از گاز هلیوم با خلوص ۹۹/۹۹٪ بعنوان گاز حامل با فشار ورودی فشار ورودی آن به ستون، برابر ۳ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع استفاده شد.

بررسی اسانس ریحان با کروماتوگراف گازی مجهز به طیف‌سنج

جرمی

از کروماتوگراف گازی واریان ۳۴۰۰ مجهز به طیف‌سنج جرمی (Varian, آمریکا) از نوع تله یونی استفاده شده است که ستون آن DB5 به طول ۳۰ متر و قطر درونی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن آن ۰/۲۵ میکرومتر بوده است. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از دمای اولیه ۶۰ درجه سانتیگراد شروع شده، بتدریج با سرعت ۳ درجه سانتیگراد در دقیقه افزایش یافته تا به ۲۵۰ درجه سانتیگراد رسید. دمای محفظه تزریق و آشکارساز به ترتیب ۲۸۰ و ۳۰۰ درجه سانتیگراد تنظیم شده بود. دمای محفظه تزریق ۱۰ درجه سانتیگراد بالاتر از دمای نهایی ستون (۲۶۰ درجه سانتیگراد) تنظیم شده است. گاز حامل هلیوم با خلوص ۹۹/۹۹٪ بوده که با سرعت ۳۱/۵ سانتی‌متر بر ثانیه در طول ستون حرکت کرده است. زمان اسکن برابر یک ثانیه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و ناحیه جرمی از ۴۰ تا ۳۴۰ بوده است (Mechkovski & Akerele 1992).

تعیین درصد رطوبت نسبی

مقادیر مشخصی از بخش هوایی نمونه های شاهد و تیمار شده با آهن به مدت حداقل ۲۴ ساعت در آن با حرارت ۶۰ درجه سانتیگراد خشک شدند و با تعیین تفاوت وزن اولیه و ثانویه، مقدار رطوبت و درصد آن در نمونه های گیاهی محاسبه شد. با در نظر گرفتن درصد رطوبت، بازده اسانس بر حسب وزن خشک به دست آمد (حسنی ۱۳۸۲).

روشهای آماری

آنالیزهای بیوشیمیایی با بیش از ۳ تکرار مستقل و هر یک حداقل با ۳ نمونه صورت گرفت. برای تمام داده‌ها میانگین و انحراف معیار (SD) محاسبه شد. معنی‌دار بودن یافته‌های حاصل با استفاده از T.test در سطح $P \leq 0.05$ مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج و بحث

در این بررسی تغییر مورفولوژیکی بارزی بین رشد گیاهان تیمار شده و شاهد مشاهده نشد. اما اندازه‌گیری طول ساقه نشان داد که در تمامی گروه‌های تیمار شده، رشد گیاهان نسبت به گروه شاهد ۱/۵٪ کاهش یافته است. نتایج اندازه‌گیریها در جدول ۲ آمده است.

جدول ۲- مقایسه رشد ساقه گیاه ریحان در گروه شاهد (Ctrl) و گروه تیمار شده با آهن (Ctrl+Fe).

Treatment	Ctrl	Ctrl+Fe
Net Growth (mm)	۷۷±۰/۰۵	۴۵±۰/۰۲*

* تغییر معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ نسبت به گیاهان گروه شاهد. تعداد نمونه‌ها ۹

تحقیقات متعدد گذشته نشان می‌دهند که Fe^{2+} می‌تواند باعث واکنش فنتون در سلول و بدنبال آن تجمع گونه‌های فعال اکسیژن و ایجاد استرس اکسیداتیو شود (Hendry & Brocklebnak 1985). استرس اکسیداتیو می‌تواند سبب تغییر در فعالیت آنزیمها، بروز ژن، آزاد شدن کلسیم از فضاهای سلولی، تخریب غشا، کاهش رشد و در نهایت مرگ سلولی گردد (Rabison et al., 2002; Kwee & Raskmark 1998).

در این تحقیق در گروه تیمار شده با آهن، محتوای کل اسانس از ۱/۶۷٪ در گروه شاهد به ۱/۳۷٪ در گروه تیمار شده با آهن کاهش یافت (جدول ۳)، اما ترکیب غالب در هر دو گروه همواره متیل کابیکل، ژرانیول و نورل بود. از طرف دیگر افزایش آهن ممکن است با کاهش محتوای کلروفیل و یا فتوسنتز همراه شده (Chatterjee et al., 2006) و بدین ترتیب از یکسو به کاهش رشد و از سوی دیگر به کاهش میزان فراهم شدن پیش‌سازهای ترکیبات فنلی مورد نیاز برای سنتز اسانسها، منتهی گردد.

جدول ۳- مقایسه میزان ترکیبات غالب اسانس‌های گروه شاهد (Ctrl) و گروه تیمار شده با آهن (Ctrl+Fe).

	Randement of Essential oil	Methyl Chavicol	Nerol	Geraniol	Caryophyllene Oxide	neo-allo-ocimene
Ctrl	۶۷/۱	۰۶/۳۴	۸۰/۲۰	۷۰/۲۷	۸۱/۰	۰/۲۰
Ctrl+Fe	۳۸/۱	۲۴/۲۶	۸۲/۱۹	۹۰/۲۸	۳۰/۴	۰/۰۸

(به علت محدودیت در استفاده از دستگاه آنالیزها با یک تکرار انجام شده است).

مسیر بیوسنتز اسانسها به سمت تولید ترکیباتی نظیر مالونیل دی‌آلدئید منحرف شده باشد. از طرفی تیمار با آهن درصد نسبی کاربوفیلین اکسید را تا حدود ۵ برابر نسبت به گروه شاهد افزایش داده است (جدول ۴). کاربوفیلین اکسید، نرول و ژرانئول هر سه از گروه ترکیبات ترپنوئیدی می‌باشند (Yang *et al.*, 1999, Hallahan & West 1995). به منظور سنتز نرول و ژرانئول، آنزیم هیدروکسیلاز نقش کلیدی را ایفا می‌کند، در حالیکه در بیوسنتز کاربوفیلین اکسید، آنزیمهای اکسیدازی نقش مهمتری دارند (Hallahan & West 1995). بنابراین ممکن است آهن بر روی فعالیت این اکسیداز اثر کرده و با افزایش فعالیت آن، مسیر واکنش را به سمت تولید کاربوفیلین اکسید منحرف کرده باشد.

در بررسی دیگری بر روی گیاه *Origanum vulgare* گزارش شده است که افزایش آهن خاک تا حد 11mg/L ، سبب کاهش محتوای اسانس گیاه می‌گردد (Yeritsyan & Economakis 2002). در این تحقیق نیز کاهش محتوای اسانس در گروه تیمار شده با آهن ممکن است ناشی از کاهش محتوای ترکیبات فنلی مورد نیاز برای سنتز اسانسها باشد. تحقیقات قبلی نشان داده که فلزات سنگین موجب افزایش گونه‌های فعال اکسیژن شده و در نتیجه باعث تخریب غشای لیپیدی سلول می‌شود. مالونیل دی‌آلدئید (MDA) ترکیبی فنلی است که در این زمان، به منظور حفاظت از غشا -همراه با کاهش سنتز کلروژنیک اسید- افزایش می‌یابد (Kováčik *et al.*, 2006). بنابراین کاهش مشاهده شده در محتوای اسانس ممکن است بدلیل کاهش ترکیبات فنلی پیش‌ساز اسانسها باشد و یا آنکه در حضور آهن مسیر بیوسنتز ترکیبات فنلی، از

جدول ۴- مقایسه ترکیبات غالب اسانس‌های گروه شاهد و تیمارها (گیاهان گروه کنترل: Ctrl، گیاهان تیمار شده با آهن (Ctrl+Fe)).

Compound	RI	% Essential Oil in Ctrl plants	RI	% Essential Oil in Fe - exposed plants
<i>α-pinene</i>	۹۲۹	۰/۲۳	-	-
<i>sabinene</i>	-	-	۹۷۲	۰/۱۳
<i>β-pinene</i>	۹۸۲	۰/۳۷	۹۸۳	۰/۲۶
<i>myrcene</i>	۹۹۱	۰/۱۵	۹۹۸	۰/۲۶
<i>α-phellandrene</i>	۱۰۰۱	۰/۱۱	۱۰۰۴	۰/۰۹
<i>α-terpinene</i>	۱۰۰۶	trace	۱۰۰۸	trace
<i>limonene</i>	۱۰۲۵	۰/۴۴	-	-
<i>(E)-β-ocimene</i>	۱۰۴۴	trace	-	-
<i>trans linalool oxide</i>	۱۰۸۳	۰/۸۲	۱۰۸۷	۰/۴۶
<i>linalool</i>	۱۱۰۰	۰/۲۰	۱۱۰۱	۰/۱۲
<i>neo-allo-ocimene</i>	۱۱۳۳	۰/۲۰	۱۱۳۴	۱/۰۸
<i>cis-menth-2-en-1-ol</i>	۱۱۴۵	۰/۳۷	۱۱۴۶	۰/۲۷
<i>borneol</i>	۱۱۶۱	۰/۳۲	-	-
<i>methyl chavicol</i>	۱۱۹۴	۳۴/۰۶	۱۱۹۲	۲۶/۳۴
<i>neral</i>	۱۲۲۷	۰/۱۶	۱۲۲۷	۰/۲۰
<i>nerol</i>	۱۲۳۸	۲۸/۸۰	۱۲۳۹	۱۹/۸۲
<i>geraniol</i>	۱۲۶۸	۲۷/۷۹	۱۲۶۹	۲۸/۹۰
<i>geranyl acetate</i>	-	-	۱۲۸۰	۱/۳۷
<i>bornyl acetate</i>	-	-	۱۲۸۴	۱/۷۱
<i>α-copaene</i>	۱۳۲۴	۰/۲۱	۱۳۲۲	۰/۹۱
<i>β-cubebene</i>	۱۳۷۱	۰/۲۹	۱۳۸۷	۰/۹۳
<i>β-caryophyllene</i>	۱۴۰۵	۲/۴۲	-	-
<i>β-sesquiphellandrene</i>	۱۴۱۴	۰/۸۲	۱۴۳۴	0/42
<i>α-humulene</i>	۱۴۴۲	۰/۴۳	-	-
<i>σ-cadinene</i>	-	-	۱۵۰۸	0/12
<i>spathulenol</i>	۱۵۲۱	۱/۸۸	۱۵۴۴	0/68
<i>caryophyllene oxide</i>	۱۵۴۲	۰/۸۱	۱۵۷۴	4/38
<i>Total</i>	-	۱۰۶/۴۳	-	۹۸/۹
<i>Randement of essential oil</i>	-	۱/۶۷	-	۱/۳۸

نشان داده است که neo-allo-ocimene لیگنینی شدن در دیواره سلولها را افزایش می‌دهد. همچنین این ترکیب و بسیاری از ترکیبات فرار دیگر

یکی از ترکیباتی که مقدار آن در تیمار با آهن حدود ۵ برابر افزایش یافت، مونو ترپنی بنام neo-allo-ocimene می‌باشد. مطالعات قبلی

باعث القای واکنشهای دفاعی متعدد با مسیرهای مستقل از یکدیگر می‌شوند. دیده شده که بیان برخی ژنهای مربوط به بیوسنتز مونوترپنها در هنگام دفاع علیه علفخوارها و پاتوژنها افزایش می‌یابد (Kishimoto *et al.* 2006). بعنوان مثال در گیاه آرابیدوپسیس، در حالت عادی مقدار زیاد نیست، در حالیکه مقدار آن در نتیجه زخم یا تخریب مکانیکی افزایش می‌یابد (Faldt *et al.* 2003). در حقیقت β -ocimene و ایزومر آن allo-ocimene باعث القای ژنهای دفاعی نظیر PAL، چالکن سینتار، متیل ترانسفراز و ... می‌شوند (Kishimoto *et al.* 2005). به هر حال مکانیسم مولکولی تاثیر allo-ocimene بر روی افزایش مقاومت گیاه هنوز مشخص نشده است (Kishimoto *et al.* 2006)، با این حال تیمار با آهن ممکن است بطور مستقیم و یا غیرمستقیم و با تولید ROS باعث القای ژنهای مسیر بیوسنتز این ترکیب شده باشد و یا آنکه فعالیت آنزیمهای مسیر را افزایش داده باشد.

منابع:

- حسینی، ع. ۱۳۸۲: اثرات تنش های آبی و شوری کلرور سدیم بر برخی از خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی ریحان قم کشکنی لولو، پایان نامه دکتری علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس.
- رجب بیگی، ا، قناتی، ف، سفیدکن، ف، عبدالملکی، پ. ۱۳۸۵: بررسی تغییرات اسانس گیاه ریحان تحت تاثیر میدان الکترومغناطیسی، فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۲: ۳۴۱-۳۵۰.
- Blakrishman K. 2000: Peroxidase activity as an indicator of the iron deficiency banana. *Ind. J. Plant Physiol.* **5**: 389-391.
- Bowes K. & D.Zeheljazkov V. 2004: Factors affecting yields and essential oil quality of *O. sanctum* and *O. basilicum* L. cultivars. *J. AMBR. Soc. Hort. Sci.* **129**: 789-794.
- Chatterjee C., Gopal R., Dube B.K. 2006: Impact of iron stress on biomass, yield, metabolism and quality of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Science Horticulturae.* **108**: 1-6.
- Faldt J., Arimura G., Gershenzon J., Takabayashi J., Bohlmann J. 2003: Functional identification of AtTPS3 as (E)- β -ocimene synthase: a monoterpene synthase catalyzing jasmonate- and wound-induced volatile formation in *Arabidopsis thaliana*. *Planta.* **216**: 745-751.
- Hallahan DL. West JM. 1995: Cytochrome P450 in plant/ insect interactions : geraniol 10-hydroxylase and the biosynthesis of iridoid monoterpenoids. *Drug Metabolism and Drug interactions* **12**: 369-382.
- Hendry G.A.F. Brocklebank K.J. 1985: Iron-induced oxygen radical metabolism in waterlogged plants. *New Phytol.* **101**: 199-206.
- Javanmardi J., Khalighi A., Kashi A. Bais H.P., Vivanco JM. 2002: Chemical characterization of basil (*Ocimum basilicum* L.) found in local accessions and used in traditional medicines in Iran. *J. Agric. Food Chem.* **50**: 5878-5883.
- Javanmardi J., Stushnoff C., Locke E. & Vivanco JM. 2003: Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Food Chemistry* **83**: 547-550.
- Kishimoto K., Matsui K., Ozawa R., Takabayashi J. 2006: Analysis of defensive responses activated by volatile allo-ocimene treatment in *Arabidopsis thaliana*. *Phytochemistry* **67**: 1520-1529.
- Kishimoto K., Matsui K., Ozawa R., Takabayashi J. 2005: Volatile C6-aldehydes and allo-ocimene activate defense genes and induce resistance against *Botrytis cinerea* in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiology.* **46**: 1093-1102.
- Kováčik J., Klejdus B., Bačkor M., Repčák M. 2007: Phenylalanine ammonia-lyase activity and phenolic compounds accumulation in nitrogen-deficient *Matricaria chamomilla* leaf rosettes. *Plant Science* **172**: 393-399.
- Korkak R.F. 1987: Iron deficiency chlorosis. *Hort. Rev.* **9**: 133-186.
- Kwee S., Raskmark P. 1998, Changes in cell proliferation due to environmental non-ionizing radiation 2. Microwave radiation. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics* **44**: 395-420.
- Longnecker H. 1995: Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, New York.
- Mechkovski A. and Akerele C.O. 1992: Quality control methods for medicinal plant materials, WHO/PHARM/92.559. World Health Organization, Switzerland.
- Nikolic M., Kastori R. 2000: Effect of bicarbonate and Fe supply on Fe nutrition of grapevine. *J. Plant Nutr.* **23**: 1619-1627.
- Rabison JG., Pendleton AR., Monson KO., Murray BK., O'Neill KL. 2002: Decreased DNA repair rates and protection from heat induced apoptosis mediated by electromagnetic field exposure. *Bioelectromagnetics* **23**: 106-112.
- Ruiz J.M., Baghour M., Romers L. 2000: Efficiency of the different genotypes of tomato in relation to foliar content of Fe and the response of some bioindicators. *J. Plant Nutr.* **23**: 1777-1786.
- Suh H., Kim CH., Lee J., Jung J. 2002: Photodynamic effect of iron on photosystem II function in pea plants. *Photochemistry and Photobiology.* **75**: 513-518.
- Yang D., Michel L., Chaumont JP. & Millet-Clerc J. 1999: Use of caryophyllene oxide as an antifungal agent in an in vitro experimental model of *Onychomycosis mycopathologia* : **148**: 79-82.
- Yeritsyan N., Economakis C. 2002: Effect of nutrient solution's iron concentration on growth and essential oil content of oregano plants growth in solution culture. *Acta Hort.* **576**: 277-283.
- Welch R.M., Allaway W.H., House W.A., Kubota I. 1991: Geographic distribution of trace element problems In: Mordavet, J.J., Cox, F.R., Shuman L.M., Welch R.M. (Eds), *Micronutrients in Agriculture*, Second ed., SSSA Book series, No. 4, Madison, WI USA. pp. 31-57.