

ORIGINAL RESEARCH PAPER

The Effect of Different Levels of Molybdenum and Nitrogen on Some Morphophysiological Characteristics of Spinach

Mafton¹, L., Esna-Ashari^{2*}, M. and Amerian³, M.

1 and 2. Former MSc Student and Professor, Respectively, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

3. Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences and Engineering, Faculty of Science and Agriculture Engineering, Razi University, Kermanshah, Iran

✉: Corresponding author Email: m.esnaashari@basu.ac.ir

This paper has been extracted from the first author's MSc thesis under the supervision of Mahmoud Esna-Ashari.

Received: 2022/02/14 Accepted: 2022/09/04

Abstract

Nitrate accumulation is a common problem in most leafy vegetables and it happens when the amount of nitrate absorption exceeds the amount consumed by the plant. This study was conducted as a factorial experiment in the form of a completely randomized design and in three replications. The first factor included adding nitrate (calcium nitrate) to Hoagland's standard solution at three levels of 0, 10 and 20%, and the second factor was adding different concentrations of molybdenum from sodium molybdate salt at four levels of 0, 0.5, 1.5 and 3 μM . The measured traits included traits of some growth characteristics, total phenol and flavonoids, ascorbic acid, spinach leaf nitrate. According to the obtained results, fresh and dry weight of leaf, dry weight of root and percentage of dry matter increased by increasing calcium nitrate concentration up to 20% and molybdenum application up to 3 μM in nutrient solution. The simultaneous application of molybdenum and nitrogen had no significant effect on total phenolic, total flavonoid and ascorbic acid traits, and the highest amount of these traits was observed in 3 μM molybdenum. The highest amount of leaf nitrate (3247.4 mg kg^{-1} FW) was observed in the treatment of 20% additional nitrate along with molybdenum. Based on the results, the use of molybdenum in nutrient solution had a reducing effect on nitrate accumulation in spinach leaf, therefore adding 3 μM sodium molybdate to Hoagland nutrient solution in hydroponic system for spinach production is recommended to obtain the maximum amount of antioxidant compounds and the minimum amount of nitrate accumulation.

Keywords: Ascorbic acid, Total flavonoid, Total phenol, Sodium molybdate, Calcium nitrate

Introduction

Plants take nitrogen (N) either as nitrate (NO_3^-) or ammonium (NH_4^+) form for various growth and developmental processes; however, NO_3^- is more important for such processes. For most of the crop plants, the nitrate form is mobile, less toxic, and can be stored in vacuoles. However, Nitrate must be reduced to NH_4^+ before it can be utilized for the synthesis of amino acids, proteins, and other nitrogenous compounds in plant cells. Nitrate reductase (NR) and nitrite reductase (NiR), the key nitrate assimilatory enzymes, are located in cytosol and chloroplasts and catalyze nitrate reduction to NO_2^- followed by NO_2^- to NH_4^+ , respectively, in the leaf tissues. However, NH_4^+ is directly assimilated to produce different amino acids by the mutual actions of glutamine synthetase (GS) and glutamate synthase (GOGAT) enzymes in a cyclic manner within the plant cells. Nitrate accumulation is a common problem in most leafy vegetables and it happens when the amount of nitrate absorption exceeds the amount consumed by the plant. Molybdenum (Mo) is an essential microelement for higher plants and also a metal component of the Mo-cofactor, (Moco) biosynthesis. Moco binds to Mo-requiring enzymes and optimizes their activities for normal functioning of plant growth and developmental processes. Molybdenum plays a significant role in N metabolism, which includes nitrate reduction, assimilation, and fixation, by regulating the NR and GS enzymes activities and expressions. During symbiotic N fixation, Mo acts as a cofactor for nitrogenase enzymes to catalyze the redox reaction to convert elemental N into ammonium ions.

Materials and methods

This study was conducted as a factorial experiment in the form of a completely randomized design and in three replications. The first factor included adding nitrate (calcium nitrate) to Hoagland's standard solution at three levels of 0, 10 and 20%, and the second factor was adding different concentrations of molybdenum from sodium molybdate salt at four levels of 0, 0.5, 1.5 and 3 μM . This research was conducted in the research greenhouse of Campus of Agriculture and Natural Resources Razi University. Senator spinach seeds were obtained from Fardin Kasht Alborz Institute. Spinach seeds were disinfected with 1% sodium hypochlorite for 5 minutes and then planted in seedling trays containing cocopeat and perlite with a volume ratio of 1:1. The measured traits included traits of some growth characteristics, total phenol and flavonoids, ascorbic acid, spinach leaf nitrate.

Results and discussion

According to the obtained results, fresh and dry weight of leaf, dry weight of root and percentage of dry matter increased by increasing calcium nitrate concentration up to 20% and molybdenum application up to 3 μM in nutrient solution. The simultaneous application of molybdenum and nitrogen had no significant effect on total phenolic, total flavonoid and ascorbic acid traits, and the highest amount of these traits was observed in 3 μM molybdenum. The highest amount of leaf nitrate (3247.4 mg kg^{-1} FW) was observed in the treatment of 20% additional nitrate along with molybdenum. The most important point in this research was the use of molybdenum to control nitrate accumulation, and the use of molybdenum in concentrations of 1.5 and 3 μM was able to reduce the amount of nitrate accumulation in the aerial parts to some extent, thus neutralizing the toxicity of excess nitrate. The use of sodium molybdate can be one of the recommended ways to reduce the accumulation of nitrates and at the same time enrich molybdenum in spinach and increase the nutritional value of this plant.

Conclusion

Nitrate and ammonium are the major forms of N that plants use for different growth and developmental processes. The present study revealed that Mo fertilizer plays a key role in N metabolism through regulating the activities and expressions of N-assimilating enzymes. In general, the results of this research showed that the increase in molybdenum concentration in hydroponic culture affected the growth and biochemical characteristics of spinach. Based on the results, the use of molybdenum in nutrient solution had a reducing effect on nitrate accumulation in spinach leaf, therefore adding 3 μM sodium molybdate to Hoagland nutrient solution in hydroponic system for spinach production is recommended to obtain the maximum amount of antioxidant compounds and the minimum amount of nitrate accumulation.

Citations: Mafton, L., Esna-Ashari, M. & Amerian, M. (2024). The Effect of Different Levels of Molybdenum and Nitrogen on Some Morphophysiological Characteristics of Spinach. *Plant Production Technology*, 23(2), 13-27. <https://doi.org/10.22084/PPT.2024.28466.2108>

© 2022 The Author(s). Bu- Ali Sina University Publication. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Online ISSN: 2476-5651

Print ISSN: 2476-6321

اثر سطوح مختلف مولیبدن و نیتروژن روی برخی خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی اسفناج

The Effect of Different Levels of Molybdenum and Nitrogen on some Morphophysiological Characteristics of Spinach

لیلا مفتون^۱، محمود اثنی عشری^{۲*} و معصومه عامریان^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۱۵
(مقاله پژوهشی)

چکیده

تجمع نیترات یک مشکل شایع در اغلب سبزی‌های برگ‌ی است و هنگامی اتفاق می‌افتد که میزان جذب نیترات از میزان مصرف آن توسط گیاه فراتر رود. این مطالعه به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام گردید. فاکتور اول شامل افزودن نیترات (نیترات کلسیم) به محلول استاندارد هوگلند در سه سطح صفر، ۱۰ و ۲۰ درصد و فاکتور دوم افزودن غلظت مختلف مولیبدن از نمک مولیبدات سدیم در چهار سطح صفر، ۰/۵، ۱/۵ و ۳ میکرومولار بود. صفات اندازه‌گیری شده شامل برخی ویژگی‌های رشدی، فنل و فلاونوئید کل، اسیدآسکوربیک، نیترات برگ اسفناج بودند. باتوجه به نتایج به‌دست آمده، وزن تر و خشک برگ، وزن خشک ریشه و درصد ماده خشک به ازای افزایش غلظت نیترات کلسیم تا ۲۰ درصد و کاربرد مولیبدن تا ۳ میکرومولار در محلول غذایی افزایش یافتند. کاربرد هم‌زمان مولیبدن و نیتروژن اثر معنی‌داری روی صفات فنل کل، فلاونوئید کل و اسیدآسکوربیک نداشت و بیش‌ترین میزان صفات مذکور در مولیبدن ۳ میکرومولار مشاهده گردید. بیش‌ترین میزان نیترات برگ (۳۲۴۷/۴ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر) در تیمار ۲۰ درصد نیترات اضافی همراه با مولیبدن شاهد مشاهده گردید. براساس نتایج حاصل، کاربرد مولیبدن در محلول غذایی اثر کاهنده روی تجمع نیترات در برگ اسفناج داشت، بنابراین افزودن ۳ میکرومولار مولیبدات سدیم به محلول غذایی هوگلند در سیستم هیدروپونیک برای تولید اسفناج جهت حصول حداکثری میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و حداقل میزان تجمع نیترات توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: اسید آسکوربیک، فلاونوئید کل، فنل کل، مولیبدات سدیم، نیترات کلسیم

ارجاع به مقاله: مفتون، ل.، اثنی عشری، م. و عامریان، م. (۱۴۰۲). اثر سطوح مختلف مولیبدن و نیتروژن روی برخی خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی اسفناج، مجله فناوری تولیدات گیاهی، ۲۳(۲)، ۱۳-۲۷. <https://doi.org/10.22084/PPT.2024.28466.2108>

حق نشر متعلق به نویسنده (گان) است و نویسنده تحت مجوز Commons Creative License Attribution (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) به مجله اجازه می‌دهد مقاله‌ی چاپ شده را در سامانه به اشتراک بگذارد، منوط بر اینکه حقوق مؤلف اثر حفظ و به انتشار اولیه مقاله در این مجله اشاره شود.



شاپا چاپی: ۶۳۲۱-۲۴۷۶

شاپا الکترونیکی: ۵۶۵۱-۲۴۷۶

۱ و ۲. به‌ترتیب دانشجوی سابق و استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
۳. استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
*: نویسنده مسئول
این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول به راهنمایی آقای محمود اثنی عشری می‌باشد.

مقدمه

اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) یکی از سبزی‌های برگ‌ی محبوب است که به‌صورت تازه، کنسرو و منجمد استفاده می‌شود. اسفناج کالری کمی دارد و منبع خوبی از ویتامین‌های محلول در آب و محلول در چربی، کاروتنوئید، فلاونوئید و اسید فولیک، کلسیم و منیزیم است (چو^۱ و همکاران، 2008). اسفناج یک سبزی با ارزش بیولوژیکی بالاست که از نظر آنتی‌اکسیدانی بسیار غنی است (عرفانی^۲ و همکاران، 2007).

کوددهی عامل کلیدی کنترل تولید گیاه است. با این حال، کوددهی متعادل با عناصر غذایی کم مصرف و پر مصرف برای به‌دست آوردن رشد مطلوب گیاه و محصولات با کیفیت بالا ضروری است. عرضه ناکافی نیتروژن به گیاهان می‌تواند محتوای نیتروژن گیاه را کاهش دهد، که تولید فتوسنتز را محدود می‌کند، در نتیجه رشد گیاه و کمیت و کیفیت عملکرد آن را کاهش می‌دهد (بوسادیا^۳ و همکاران، 2010). طبق مطالعات انجام شده کوددهی نیتروژن ویژگی‌های رشدی گیاه و تولید بیشتر محصولات را بهبود می‌بخشد (نجم^۴ و همکاران، 2013). کشاورزانی که از مقادیر بالای کودهای نیتروژن برای افزایش عملکرد محصول استفاده می‌کردند، تعادل عناصر غذایی خاک را از بین برده و در نتیجه کیفیت محصول را کاهش داده‌اند (الریس^۵ و همکاران، 2019). در کشورهای پیشرفته استفاده از کودهای شیمیایی برای به‌دست آوردن بیش‌ترین عملکرد همراه با حفظ کیفیت و سلامت خوراکی محصول مدنظر می‌باشد. سبزی‌های برگ‌ی یکی از مهم‌ترین محصولات کشاورزی هستند که مصرف نیتروژن در تولید سبزی‌های برگ‌ی جهت افزایش رشد و عملکرد حائز اهمیت است چراکه تجمع نیترات در این سبزی‌ها از نظر سلامتی مصرف‌کننده‌ها مهم است (گادالا^۶ و همکاران، 2022). اسفناج یک گیاه پرتوقع است و برای رشد و نمو مطلوب به میزان بالایی از نیتروژن نیاز دارد (فلیکس^۷ و همکاران، 2016). هم‌چنین این سبزی به کود نیتروژن بسیار حساس است و یکی از تجمع‌کننده‌های نیترات (NO_3^-) است. سبزی‌های برگ‌ی مانند کاهو و اسفناج نسبت به سبزی‌های میوه‌ای و دانه‌ای تجمع نیترات بیشتری دارند (الیسا^۸ و همکاران، 2017). نیترات موجود در سبزی به‌سرعت توسط باکتری‌های موجود روی زبان به نیتريت تبدیل می‌شود

و نیتريت تولید شده وارد جریان خون شده و برای انسان بسیار مضر است. حد مجاز میزان مصرف روزانه برای نیترات ۰-۳/۷ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن توسط سازمان غذا و کشاورزی ملل متحد (فائو^۹) تعیین شده است (ادین^{۱۰} و همکاران، 2021). در نتیجه، تجمع نیترات در سبزیجات از جمله اسفناج توجه زیادی را به خود جلب کرده است. مطالعات زیادی در دهه‌های اخیر برای کاهش تجمع نیترات در گیاهان انجام شده است. با این حال، تجمع نیترات فرآیندی پیچیده است (مارکز-کیروش^{۱۱} و همکاران، 2014). عوامل مختلفی بر جذب و تجمع نیترات در بافت‌های گیاهی مانند عوامل محیطی، عوامل ژنتیکی و عوامل کشاورزی تأثیر می‌گذارند. مطالعات قبلی نشان داد که تجمع نیترات در سبزی‌های برگ‌دار به‌طور مثبت با میزان کود معدنی نیتروژن، که عامل کنترل‌کننده تجمع نیترات در سبزیجات است ارتباط دارد (سانتاماریا^{۱۲} و همکاران، 2001).

سبزی‌های برگ‌دار حاوی سطح بالایی از نیترات هستند و مصرف مقادیر زیاد نیترات باعث بیماری‌های جدی برای انسان می‌شود (منسینگا^{۱۳} و همکاران، 2003). مولیبدن (Mo) ریز مغذی ضروری برای گیاهان و حیوانات است و در متابولیسم نیتروژن و سنتز نیترات ردوکتاز شرکت می‌کند و نیترات را به نیتريت کاهش می‌دهد و این اولین گام برای ورود نیتروژن به پروتئین است و کمبود آن بر محتوای نیتروژن در گیاهان تأثیر می‌گذارد (بامبارا و نداکیدمی^{۱۴}، 2010)، الریس و همکاران (2018) دریافتند که استفاده از مولیبدن همراه با کودهای نیتروژن باعث کاهش تجمع نیترات در غده‌های سبب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) می‌شود در حالی که سطح آنزیم نیترات ردوکتاز را افزایش می‌دهد.

بنابراین مصرف زیاد نیتروژن در محلول غذایی نه تنها عملکرد را کاهش می‌دهد بلکه کیفیت محصولات کشاورزی مخصوصاً محصولات گلخانه‌ای را کاهش می‌دهد، چون باعث تجمع نیترات در بافت‌های گیاه می‌شود. در مقابل مصرف کافی مولیبدن در محلول‌های غذایی می‌تواند در احیاء نیترات و تبدیل آن به اسیدهای آمینه و نهایتاً پروتئین مؤثر واقع شده و از غلظت بالای نیترات در بافت‌های گیاه بکاهد. لذا این تحقیق با هدف بررسی تأثیر سطوح مختلف نیتروژن و مولیبدن بر خصوصیات رشدی، بیوشیمیایی و غلظت نیترات در برگ اسفناج اجرا شد.

1. Cho
2. Erfani
3. Boussadia
4. Najm
5. Elrys
6. Gadallah
7. Felix
8. Alessa

9. Food and agriculture organizations (FAO)

10. Uddin

11. Márquez-Quiroz

12. Santamaria

13. Mensinga

14. Bambara and Ndkidemi

مواد و روش‌ها

تهیه و کشت بذر

به منظور بررسی اثر سطوح مختلف مولیبدن و نیترات بر خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه اسفناج یک آزمایش گلدانی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد که فاکتور اول غلظت‌های مختلف نیترات با افزودن نمک نیترات کلسیم به محلول هوگلند در سه سطح شامل صفر (شاهد، محلول استاندارد هوگلند) و میزان ۱۰ و ۲۰ درصد و فاکتور دوم سطوح مختلف مولیبدن به صورت مولیبدات سدیم در چهار سطح شامل صفر (شاهد، محلول استاندارد هوگلند)، ۰/۵، ۱/۵ و ۳ میکرومولار بودند که در مجموع ۱۲ تیمار اعمال گردید. در هر واحد آزمایشی یک بوته و برای هر تکرار سه گلدان در نظر گرفته شد که مجموعاً ۱۰۸ بوته مورد استفاده قرار گرفت.

بذور اسفناج رقم سناتور^۱ از مؤسسه فردین کشت البرز تهیه گردید. بذور اسفناج در تاریخ ۱۳۹۹/۹/۱۰ به مدت ۵ دقیقه با هیپوکلریت سدیم یک درصد ضدعفونی شدند و سپس در سینی‌های نشاء حاوی کوکوپیت و پرلیت با نسبت حجمی ۱:۱ کشت گردیدند. نشاءها به مدت تقریباً سه هفته، یک روز در میان با آب مقطر آبیاری شدند تا به مرحله انتقال به گلدان‌ها رسیدند. گیاهان سالم و یکسان پس از جوانه زنی و تنک کردن در مرحله دو برگی جهت اعمال تیمارها انتخاب شدند و در تاریخ ۱۳۹۹/۱۰/۴ در گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۱۵ و ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر محتوی بستر کوکوپیت و پرلیت به نسبت مساوی ۱:۱ به صورت نشاء کاری واکشت شدند.

تغذیه گیاهان با محلول‌های غذایی به صورت روزانه انجام می‌شد از تاریخ ۱۳۹۹/۱۰/۸ تیماردهی گیاهان آغاز شد. باتوجه به میزان رشد بوته‌ها در ابتدا محلول‌دهی یکبار در روز صورت می‌گرفت، اما در انتهای دوره‌ی رشد به دلیل افزایش توده‌ی گیاهی به دوبار در روز افزایش یافت و محلول‌دهی به مدت ۴۰ روز انجام گرفت. پس از اتمام آن در تاریخ ۱۳۹۹/۱۱/۲۰ نمونه‌های گیاهی (برگ و ریشه) به آزمایشگاه گروه علوم باغبانی جهت انجام آزمایش‌ها منتقل شدند و ویژگی‌هایی مانند وزن تر و خشک برگ و ریشه، ماده خشک برگ و اسید آسکوربیک، فنل و فلاونوئید کل اندازه‌گیری شد.

انتخاب، تهیه و اعمال تیمارهای آزمایش

جهت تأمین یون مولیبدن در محلول غذایی از نمک مولیبدات سدیم استفاده شد. برای افزودن نیترات اضافی به محلول غذایی از نمکی استفاده گردید که در آن آنیون همراه دامنه کیفیت

زیادی داشته باشد و خیلی دیر به سطح سمیت برسد، لذا از نمک نیترات کلسیم استفاده گردید، زیرا یون کلسیم واجد ویژگی‌های مثبت اشاره شده به عنوان همراه نیترات می‌باشد. جدول ۱ مقادیر نمک‌های مصرفی جهت تهیه تیمارهای آزمایش و جدول ۲ غلظت یون‌های مصرف شده (میکرومولار) برای ساخت محلول غذایی تیمارهای آزمایشی را نشان می‌دهد.

ویژگی‌های رشد اندازه‌گیری شده

وزن تر و خشک ریشه و برگ

برای جدا کردن ریشه گیاهان، پلاستیک گلدان‌ها پاره و به آرامی کوکوپیت و پرلیت اضافی تکانده شد. سپس ریشه‌ها با اندکی آب با چند تکان آهسته شسته شدند که ذرات اطراف ریشه‌ها جدا گردید و ریشه‌ها به وسیله‌ی پارچه‌های تمیز و نخی کاملاً آب‌گیری شدند (زمان آب‌گیری برای تمامی نمونه‌ها یکسان در نظر گرفته شد) و سپس ریشه و اندام هوایی نمونه‌های گیاهی از محل طوقه از یکدیگر جدا گردیدند و بلافاصله وزن تر آن‌ها اندازه‌گیری شد. پس از ثبت وزن تر با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم، ریشه و برگ جداگانه درون پاکت‌های کاغذی به مدت ۷۲ ساعت در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس وزن خشک آن‌ها با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شد. در نهایت وزن خشک ریشه و برگ اسفناج تعیین گردید.

ماده خشک برگ

ابتدا مقدار مشخصی از برگ‌های اسفناج وزن شدند، سپس به قطعات کوچک تقسیم شده و در پاکت‌های کاغذی از پیش تهیه شده قرار داده شدند و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد درون آون قرار داده شدند. پس از گذشت زمان فوق ماده خشک برگ‌های اسفناج بر حسب فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{ماده خشک} = \frac{\text{وزن خشک}}{\text{وزن تر}} \times 100$$

جدول ۱: مقادیر نمک‌های مصرف‌شده (گرم) برای ساخت ۴۰۰ لیتر محلول غذایی

Table 1: The amount of salts used (g) to make 400 L of nutrient solution

نمک مولیبدات سدیم Na ₂ MoO ₄	نمک نترات کلسیم Ca(NO ₃) ₂	تیمار Treatment
0	337.00	Mo ₀ NO ₀
0	394.95	Mo ₀ NO ₁₀
0	452.90	Mo ₀ NO ₂₀
0.048	337.00	Mo _{0.5} NO ₀
0.048	394.95	Mo _{0.5} NO ₁₀
0.048	452.90	Mo _{0.5} NO ₂₀
0.144	337.00	Mo _{1.5} NO ₀
0.144	394.95	Mo _{1.5} NO ₁₀
0.144	452.90	Mo _{1.5} NO ₂₀
0.288	337.00	Mo ₃ NO ₀
0.288	394.95	Mo ₃ NO ₁₀
0.288	452.90	Mo ₃ NO ₂₀

جدول ۲: غلظت یون‌های مصرف‌شده (میکرومولار) برای ساخت ۴۰۰ لیتر محلول غذایی

Table 2: The concentration of ions used (μM) to make 400 L of nutrient solution

یون کلسیم Calcium ion	یون نترات Nitrate ion	یون مولیبدن Molybdenum ion	تیمار Treatment
15000	4000	0	Mo ₀ NO ₀
16500	4688	0	Mo ₀ NO ₁₀
18000	5376	0	Mo ₀ NO ₂₀
15000	4000	0.5	Mo _{0.5} NO ₀
16500	4688	0.5	Mo _{0.5} NO ₁₀
18000	5376	0.5	Mo _{0.5} NO ₂₀
15000	4000	1.5	Mo _{1.5} NO ₀
16500	4688	1.5	Mo _{1.5} NO ₁₀
18000	5376	1.5	Mo _{1.5} NO ₂₀
15000	4000	3	Mo ₃ NO ₀
16500	4688	3	Mo ₃ NO ₁₀
18000	5376	3	Mo ₃ NO ₂₀

صورتی کم‌رنگ ظاهر شد و به مدت ۱۵ ثانیه پایدار ماند. در نهایت حجم معرف مصرفی ثبت و بر اساس فرمول زیر مقدار اسید آسکوربیک اسفناج محاسبه گردید.

$$\text{میزان ویتامین ث} = \frac{V \times T}{\text{مقدار ماده گیاهی}} \times 100$$

(میلی گرم / ۱۰۰ گرم)

V = حجم معرف دی کلرو فنل ایندوفنل مصرفی

T = میلی‌اکی‌والان اسید آسکوربیک

الف) تهیه معرف ایندوفنل ۰/۰۲۵ درصد: برای تهیه ۱۰۰ میلی‌لیتر از این محلول، مقدار ۲۵ میلی‌گرم دی کلرو فنل ایندوفنل در آب مقطر حل شد و به آن ۲۵ میلی‌گرم سدیم بیکربنات که جداگانه در آب حل شده بود، اضافه گردید و در نهایت حجم محلول به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد.

ب) تهیه متاسفریک اسید: برای تهیه ۱۰۰ میلی‌لیتر از این محلول، مقدار ۱ گرم متاسفریک اسید با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. جهت حفظ اسید آسکوربیک نمونه‌های اسفناج به این محلول مقدار ۳۰ میلی‌گرم EDTA اضافه گردید.

اندازه‌گیری ویژگی‌های بیوشیمیایی

در پژوهش حاضر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی شامل اسید آسکوربیک، فنل، فلاونوئید کل و نترات برگ به شرح ذیل اندازه‌گیری شدند.

اسید آسکوربیک

برای اندازه‌گیری میزان اسید آسکوربیک، از روش تیتراسیون استفاده از ماده دی کلرو فنل ایندوفنل در طی دو مرحله استخراج و سنجش انجام گرفت (نیلسن، ۲۰۱۷). طبق این روش ابتدا ۵ گرم از هر نمونه برگ اسفناج با ۵ میلی‌لیتر متاسفریک ۱ درصد حاوی EDTA در هاون چینی کوبیده شد. سپس محلول به دست آمده در داخل فالکن ۱۰ میلی‌لیتری ریخته و به مدت ۱۰ دقیقه در ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ۵ میلی‌لیتر از عصاره سانتریفیوژ شده مرحله قبل برداشته و ۵ میلی‌لیتر متاسفریک ۱ درصد حاوی EDTA به آن اضافه گردید. سپس تیتراسیون با معرف دی کلرو فنل ایندوفنل ۰/۰۲۵ درصد دارای بیکربنات سدیم انجام شد تا رنگ

فلاونوئید کل

برای اندازه‌گیری غلظت فلاونوئید کل از روش ربایا^۲ و همکاران (2014) استفاده شد. بدین ترتیب جهت اندازه‌گیری فلاونوئید کل ۰/۲۷۵ میلی‌لیتر از عصاره برگ اسفناج با ۸۲۵ میکرولیتر آب مقطر به حجم ۱/۱ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس ۰/۳ میلی‌لیتر نیتريت سدیم ۵ درصد به محلول اضافه گردید. پس از سپری شدن مدت زمان ۵ دقیقه ۰/۶ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد به محلول اضافه شد و بعد از ۶ دقیقه ۲ میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم (سود) ۱ مولار به همراه یک میلی‌لیتر آب مقطر به محلول اضافه گردید و جذب محلول در طول موج ۵۱۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر (مدل شیماتزو ژاپن، یو وی ۱۲۰۰) قرائت شد.

اندازه‌گیری نیتريت

نیتريت برگ اسفناج به روش هامفریز^۳ و همکاران (۱۹۵۶) و با استفاده از نیم گرم نمونه برگ خشک شده انجام شد. نیتريت با فنل دی سولفونیک اسید تولید رنگ زرد می‌کند که شدت رنگ حاصل از طریق رنگ سنجی با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل شیماتزو ژاپن، یو وی ۱۲۰۰ در طول موج ۴۰۸ نانومتر اندازه‌گیری شد و سپس میزان نیتريت برحسب میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک محاسبه گردید.

تجزیه آماری داده‌ها

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ تجزیه شدند و مقایسه میانگین تیمارها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

ویژگی‌های رشد اسفناج

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که مولیبدن و نیتريت اضافی اثر معنی‌داری (در سطح احتمال یک درصد) بر وزن تر و خشک برگ و ریشه و ماده خشک برگ اسفناج دارند. درحالی‌که اثر متقابل بین مولیبدن و نیتريت فقط در سطح احتمال پنج درصد اثر معنی‌داری بر وزن تر ریشه داشتند (جدول ۳).

ج) تهیه محلول استاندارد: برای به دست آوردن میلی‌اکی‌والان اسید آسکوربیک (T) ابتدا ۵ میلی‌گرم اسید آسکوربیک خالص با آب مقطر به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده و سپس ۵ میلی‌لیتر از محلول استاندارد ویتامین ث برداشته و با ۵ میلی‌لیتر متافسفریک‌اسید ۱ درصد حاوی EDTA مخلوط و با استفاده از معرف دی کلرو فنل ایندوفنل ۰/۰۲۵ درصد تیترا گردید تا رنگ صورتی کم‌رنگ ظاهر شود. مقدار معرف مصرفی یادداشت شد و میلی‌اکی‌والان اسید آسکوربیک با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$T = \frac{1}{\text{میزان دی فنل کلرو ایندوفنل مصرفی}}$$

عصاره‌گیری جهت اندازه‌گیری میزان فنل و فلاونوئید کل

ابتدا ۰/۳ گرم از بافت برگ در ۳ میلی‌لیتر حلال (استون خالص ۳۵ میلی‌لیتر، متانول ۸۵ درصد ۳۵ میلی‌لیتر، آب مقطر ۲۹ میلی‌لیتر و ۱ میلی‌لیتر استیک اسید) به خوبی کوبیده شد و پس از آن ۳۰ دقیقه بر روی شیکر ۱۱۰ دور در دقیقه و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی قرار گرفت و در انتها عصاره به دست آمده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با ۵۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. عصاره‌ی رویی به وسیله سمپلر به آرامی و در تاریکی جدا شد و درون میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری گردید.

فنل کل

اندازه‌گیری غلظت فنل کل با استفاده از روش فولین-سیکالتو^۱ (1927) انجام شد. مقدار ۰/۳ میلی‌لیتر عصاره برگ اسفناج در تاریکی توسط سمپلر جدا کرده و درون لوله آزمایش ریخته شد و سپس ۱/۵ میلی‌لیتر فولین ۱۰ درصد به آن اضافه گردید. بعد از گذشت ۵ دقیقه، ۱/۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷ درصد به آن اضافه شد و به مدت ۹۰ دقیقه روی شیکر با ۱۱۰ دور در دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی قرار گرفت و در انتها ۶ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شد که حجم نهایی به ۹ میلی‌لیتر رسید. نهایتاً با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل شیماتزو ژاپن، یو وی ۱۲۰۰) میزان جذب نور نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت گردید.

جدول ۳: نتایج تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف مولیبدن و نیترات روی برخی از ویژگی‌های رشد گیاه اسفناج

Table 3: The results of variance analysis of the effect of different levels of molybdenum and nitrate on some characteristics of spinach plant growth

میانگین مربعات MS				درجه آزادی df	منابع تغییرات SOV
وزن خشک ریشه Dry weight of root	وزن تر ریشه Fresh weight of root	وزن خشک برگ Dry weight of leaf	وزن تر برگ Fresh weight of leaf		
0.774**	4.56**	6.20**	84.50**	3	مولیبدن (Mo) Molybdenum
1.35**	8.41**	15.01**	81.52**	2	نیترات (NO) Nitrate
0.082 ^{ns}	0.585*	0.154 ^{ns}	6.46 ^{ns}	6	مولیبدن × نیترات Mo×NO
0.040	0.222	0.212	8.28	24	خطا Error
12.87	4.71	20.56	6.45	-	درصد ضریب تغییرات CV (%)

*، ** و ns: به ترتیب احتمال معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد و غیرمعنی‌دار

*، ** and ns respectively significant probability at 5%, 1% level and non-significant

و کم‌ترین (۱/۲۳ گرم) وزن خشک ریشه به ترتیب در تیمارهای ۳ میکرومولار مولیبدات سدیم و صفر میکرومولار مولیبدات سدیم (شاهد) مشاهده شد (جدول ۴). بیش‌ترین ماده خشک برگ (۶/۸۳ درصد) در تیمار ۳ میکرومولار مولیبدات سدیم و کم‌ترین میزان آن (۳/۲۳ درصد) در تیمار صفر میکرومولار مولیبدات سدیم (شاهد) بود که تفاوت معنی‌داری با تیمار ۰/۵ میکرومولار مولیبدات سدیم نداشت (جدول ۴).

طبق نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۴)، بیش‌ترین وزن برگ (۴۸/۰۵ گرم) در تیمار ۳ میکرومولار مولیبدات سدیم مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری بین سایر سطوح مولیبدن از نظر میزان وزن تر برگ مشاهده نشد (جدول ۴). بیش‌ترین وزن خشک برگ (۳/۳۱ گرم) در تیمار ۳ میکرومولار مولیبدات سدیم و کم‌ترین میزان آن (۱/۳۵ گرم) در تیمار صفر میکرومولار مولیبدات سدیم (شاهد) بود. بیش‌ترین (۱/۵۸ گرم)

جدول ۴: نتایج مقایسه میانگین‌های اثر سطوح مختلف مولیبدن و نیترات روی برخی از ویژگی‌های رشد گیاه اسفناج

Table 4: The results of comparing the average effect of different levels of molybdenum and nitrate on some characteristics of spinach plant growth

ماده خشک برگ (درصد) Dry leaf matter (%)	وزن خشک ریشه (گرم) Dry weight of root (g)	وزن خشک برگ (گرم) Dry weight of leaf (g)	وزن تر برگ (گرم) Fresh weight of leaf (g)	تیمار Treatment
3.23 ^c	1.22 ^d	1.35 ^d	41.08 ^c	M ₀
4.08 ^c	1.44 ^c	1.90 ^c	46.02 ^{ab}	M _{0.5}
5.50 ^b	1.69 ^b	2.38 ^b	43.24 ^{bc}	M _{1.5}
6.83 ^a	1.89 ^a	3.31 ^a	48.05 ^a	M ₃
2.30 ^b	1.34 ^b	1.00 ^c	42.60 ^b	NO ₀
5.76 ^a	1.40 ^b	2.51 ^b	43.65 ^b	NO ₁₀
6.67 ^a	1.95 ^a	3.18 ^a	47.55 ^a	NO ₂₀

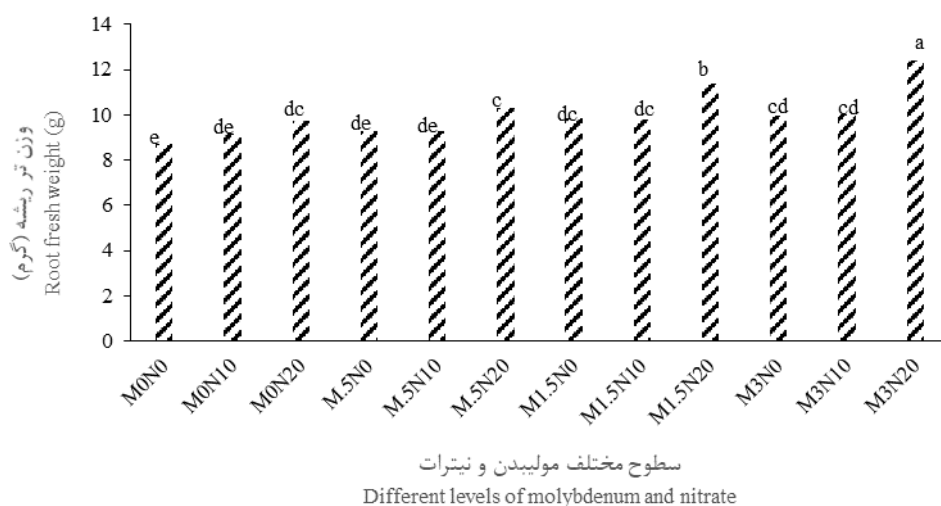
M₀= صفر میکرومولار مولیبدات سدیم، M_{0.5}= ۰/۵ میکرومولار مولیبدات سدیم، M_{1.5}= ۱/۵ میکرومولار مولیبدات سدیم و M₃= ۳ میکرومولارمولیبدات سدیم. NO₀= صفر نیترات کلسیم، NO₁₀= ۱۰ درصد نیترات کلسیم و NO₂₀= ۲۰ درصد نیترات کلسیمM₀₀ = 0 μmol sodium molybdate, M_{0.5} = 0.5 μmol sodium molybdate, M_{1.5} = 1.5 μmol sodium molybdate and M₀₃ = 3 μmol sodium molybdate. NO₀ = 0 calcium nitrate, NO₁₀ = 10% calcium nitrate and NO₂₀ = 20% calcium nitrate

حروف همسان در هر ستون و در هر تیمار بیانگر نبود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است

The numbers with the same letters in each column are not statistically different at 5% probability levels

مشاهده نشد. اما در سطوح ۰/۵ و ۱/۵ میکرومولار مولیبدات سدیم بیش‌ترین وزن تر ریشه در تیمار ۲۰ درصد نیترات اضافی بود که سایر سطوح تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند (شکل ۱).

طبق نتایج به‌دست آمده (شکل ۱)، بیش‌ترین وزن تر ریشه در تیمار ۳ میکرومولار مولیبدات سدیم همراه با ۲۰ درصد نیترات اضافی بود. در تیمار صفر مولیبدات سدیم تفاوت معنی‌داری بین سطوح مختلف نیترات از نظر وزن تر ریشه



شکل ۱: اثر سطوح مختلف مولیبدن و نیترات بر وزن تر ریشه اسفناج

Fig. 1: The effect of different levels of molybdenum and nitrate on fresh weight of spinach root

Mo_0 = صفر میکرومولار مولیبدات سدیم، $Mo_{0.5}$ = 0.5 میکرومولار مولیبدات سدیم، $Mo_{1.5}$ = 1.5 میکرومولار مولیبدات سدیم و Mo_3 = 3 میکرومولار مولیبدات سدیم. NO_0 = صفر نیترات کلسیم، NO_{10} = 10% درصد نیترات کلسیم و NO_{20} = 20% درصد نیترات کلسیم
 $Mo_0 = 0 \mu\text{mol}$ sodium molybdate, $Mo_{0.5} = 0.5 \mu\text{mol}$ sodium molybdate, $Mo_{1.5} = 1.5 \mu\text{mol}$ sodium molybdate and $Mo_3 = 3 \mu\text{mol}$ sodium molybdate. $NO_0 = 0$ calcium nitrate, $NO_{10} = 10\%$ calcium nitrate and $NO_{20} = 20\%$ calcium nitrate

هوایی کاهو نداشت. محلول پاشی مولیبدن با غلظت 50 و 100 میلی گرم در لیتر در گیاه اسفناج منجر به افزایش وزن تر و خشک تیمارهای محلول پاشی نسبت به تیمار شاهد شد (برنجی و ابوالسعد^۸، ۲۰۱۹). بر اساس گزارش استینر^۹ و همکاران (۲۰۱۸) کاربرد مولیبدن با غلظت $61/2$ گرم در هکتار در گیاه کاهو (*Lactuca sativa* L.) منجر به افزایش 38 درصدی میانگین وزن تر برگ نسبت به شاهد شد. گادلایه و همکاران (۲۰۲۲) گزارش دادند که محلول پاشی مولیبدن با غلظت های 50 و 100 میلی گرم در لیتر به همراه کود نیتروژن منجر به افزایش وزن تر و خشک اسفناج نسبت به تیمار شاهد گردید. عباسی فر و همکاران (۲۰۲۰) گزارش دادند که محلول پاشی مولیبدن در گیاه اسفناج وزن خشک گیاه را افزایش داد که بیشترین وزن خشک گیاه مربوط به تیمار 1 میلی گرم در لیتر مولیبدن و کمترین مقدار آن در گیاه شاهد مشاهده شد. بر اساس پژوهش مونکادا^{۱۰} و همکاران (۲۰۱۸) محلول پاشی با مولیبدن در غلظت های 0.5 ، 1.5 و 3 میکرومولار در لیتر منجر به افزایش وزن خشک و اسید آسکوربیک کاهو و آندیو (*Cichorium endivia* L.) شد. هادی^{۱۰} و همکاران (۲۰۱۶) بیان کردند که اثر قابل توجه مولیبدن روی افزایش میزان ماده خشک گیاه ممکن است

چندین مطالعه گزارش کردند که تغذیه با مولیبدن باعث افزایش رشد و عملکرد سبزی های برگ دار در مقایسه با شرایط کمبود این عنصر می شود که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد (کایسر^۱ و همکاران، ۲۰۰۵؛ مونکادا^۲ و همکاران، ۲۰۱۸). براساس گزارش عباسی فر^۳ و همکاران (۲۰۲۰) کاربرد عنصر مولیبدن به طور قابل توجهی منجر به افزایش وزن تر در گیاه اسفناج شد، به طوری که بیشترین وزن تر مربوط به تیمار 1 میلی گرم در لیتر عنصر مولیبدن و کمترین میزان آن مربوط به گیاهان شاهد با غلظت 0.1 میلی گرم در لیتر عنصر مولیبدن بود. تأثیر مولیبدن در افزایش وزن تر گیاه ناشی از افزایش توانایی گیاه در استفاده از نیتروژن است. نتایج مشابهی در مورد تأثیر مثبت استفاده از مولیبدن در افزایش وزن تر گندم (*Triticum aestivum* L.) (زوز^۴ و همکاران، ۲۰۱۲) آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) (فابیو و تیآگو^۵، ۲۰۱۵) و توت فرنگی (*Fragaria × ananassa*) (لیو^۶ و همکاران، ۲۰۱۷) گزارش شده است. برخلاف نتایج این تحقیق، روچا^۷ و همکاران (۲۰۲۰) گزارش دادند که کاربرد 0.6 و 0.12 میلی گرم در لیتر مولیبدن به محلول غذایی هیدروپونیک تأثیری بر وزن تر و خشک اندام

1. Kaiser
2. Moncada
3. Abbasifar
4. Zoz
5. Fabio and Tiago
6. Liu
7. Rocha

8. Brengi and Abouelsaad
- 9 Steiner
10. Hadi

(۱۲/۲۹ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن‌تر) در تیمار میکرومولار مولیبدات سدیم بود که تفاوت معنی‌داری با تیمار ۱/۵ میکرومولار مولیبدات سدیم نداشت و کم‌ترین میزان اسید آسکوربیک در تیمار شاهد (۸/۳۱ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر) مشاهده شد (جدول ۶).

ترکیبات فنلی نقش مهمی در افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کیفیت سبزی‌ها دارند، میوه‌ها و سبزی‌هایی با میزان ترکیبات فنلیکی بالا معمولاً ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالایی نیز دارند (فنگ^۲ و همکاران، ۲۰۰۹). محتوای آنتی‌اکسیدانی یک شاخص خوب برای شرایط داخلی سلول است. سبزی‌های دارای بیش‌ترین محتوای آنتی‌اکسیدانی بسیار سالم هستند و شرایط خوبی را برای بازاریابی دارند. رادیکال‌های آزاد در طی متابولیسم طبیعی سلول و هم‌چنین در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی ساخته می‌شوند که آنتی‌اکسیدان‌ها سبب تخلیه‌ی رادیکال‌های آزاد می‌شوند (جین^۳ و همکاران، ۲۰۰۹). مکانیسم دقیق اثر مولیبدن بر افزایش فنل در گیاهان مشخص نیست و پیشنهاد گردیده است که مطالعات بیش‌تری در زمینه اثر مولیبدن بر متابولیسم ترکیبات فنلی انجام شود (بامبارا و انداکیدی^۴، ۲۰۱۰). لابلای^۵ و همکاران (۲۰۲۱) گزارش دادند با کاربرد مولیبدن (غلظت‌های ۴ و ۸ میکرومولار) محتوای فنل کل در اسفناج افزایش یافته است. بر اساس تحقیقات ساباتینو^۶ و همکاران (۲۰۱۹) استفاده از مولیبدن با غلظت‌های ۲ و ۴ میکرومولار محتوای ترکیبات فنلی و اسید آسکوربیک در گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) بهبود یافت. استفاده از مولیبدن موجب افزایش محتوای ترکیبات فنلی بخش هوایی و ریشه گیاهچه جعفری (*Petroselinum crispum* L.) شد (براتی و همکاران، ۱۴۰۰). استفاده از تیمار مولیبدن در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر در گیاه شاهدانه (*Cannabis sativa* L.) منجر به افزایش محتوای ترکیبات فنلی نسبت به تیمار شاهد شد (علی^۷ و همکاران، ۲۰۱۹).

به‌دلیل نقش این عنصر به‌عنوان یک کوفاکتور برای آنزیم‌هایی مانند نیترات ردوکتاز و گلوتامین سنتتاز در متابولیسم نیترات و هم‌چنین نقش آن در سنتز اسیدهای آمینه و ایندول استیک باشد. دی‌رسنده^۱ و همکاران (۲۰۱۰) بیان کردند که افزایش عملکرد تجاری کاهو با محلول‌پاشی مولیبدن ممکن است به‌دلیل افزایش جذب نیتروژن و افزایش توانایی گیاه در استفاده از نیتروژن باشد. مولیبدن یکی از عناصر تشکیل‌دهنده‌ی آنزیم نیترات ردوکتاز بوده و در آسیمیلایون نیترات نقش مهمی بازی می‌کند. به‌همین دلیل مقادیر جزئی آن تأثیر مثبت و معنی‌داری بر میزان پروتئین گیاه، افزایش رشد و کاهش ترکیبات نیتروژنه محلول از جمله نیترات دارد. هنگامی که نیترات بدون مولیبدن مصرف می‌شود، رشد گیاهان ضعیف، غلظت کلروفیل آن‌ها اندک و نشانه‌های آشکار کمبود نیتروژن در برگ‌ها نمایان می‌گردد (الفتی‌چیرانی و همکاران، ۱۳۸۷).

در مجموع عملکرد مشترک نیترات و مولیبدن در این مطالعه باعث افزایش وزن تر و خشک برگ و ریشه نسبت به شاهد شد که می‌توان نتیجه گرفت این افزایش احتمالاً به‌دلیل تأثیر نیترات بیش از مقدار نیاز بوده است که همان‌طور که مشخص می‌باشد در تمامی تیمارهای نیترات ۱۰ و ۲۰ درصد اضافی، نسبت به سایر تیمارها افزایش در وزن تر و خشک برگ و وزن تر و خشک‌ریشه دیده شده است و افزایش وزن خشک ریشه نیز طبق مطالعات انجام شده احتمالاً بر اثر تجمع مولیبدن در ریشه اسفناج می‌باشد که بالاترین وزن خشک ریشه در بیش‌ترین غلظت مولیبدن به‌دست‌آمده است. در مجموع استفاده از مولیبدن در تیمارهای نیترات اضافی توانست ویژگی‌های رشدی برگ اسفناج را بهبود ببخشد.

ویژگی‌های بیوشیمیایی اسفناج

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که مولیبدن بر میزان فنل کل، فلاونوئید کل و اسید آسکوربیک اسفناج در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد اما نیترات اضافی و اثر متقابل بین دو فاکتور اثر معنی‌داری بر صفات بیوشیمیایی مورد مطالعه نداشتند (جدول ۵).

طبق نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۶)، بیش‌ترین میزان فنل کل (۰/۶۰۷۱ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم وزن‌تر) و فلاونوئید کل (۰/۱۳۷ میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن‌تر) در تیمار ۳ میکرومولار مولیبدات سدیم مشاهده شد و کم‌ترین میزان فنل کل (۰/۲۹۱ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم وزن‌تر) و فلاونوئید کل (۰/۰۶۹ میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن‌تر) در تیمار شاهد بود (جدول ۶). بیش‌ترین میزان اسید آسکوربیک

2. Fang
3. Jin
4. Bambara and Ndakidemi
5. La Bella
6. Sabatino
7. Ali

جدول ۵: نتایج تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف مولیبدن و نیترات روی برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی و نیترات برگ اسفناج
Table 5: The results of variance analysis of the effect of different concentrations of molybdenum and nitrate on some biochemical characteristics and nitrate of spinach leaf

میانگین مربعات MS				درجه آزادی df	منابع تغییرات S.O.V
نیترات Nitrate	اسید آسکوربیک Ascorbic acid	فلاونوئید کل Total flavonoids	فنل کل Total phenol		
1595471.52**	41.64**	0.0072**	0.181**	3	مولیبدن (Mo) Molybdenum
5012536.17**	0.038 ^{ns}	0.00062 ^{ns}	0.000008 ^{ns}	2	نیترات (NO) Nitrate
476683.08**	0.015 ^{ns}	0.00024 ^{ns}	0.00006 ^{ns}	6	مولیبدن × نیترات Mo×NO
15607.29	0.334	0.00015	0.00042	24	خطا Error
6.90	5.52	11.99	4.38	-	درصد ضریب تغییرات CV (%)

** و ns: به ترتیب احتمال معنی‌دار در سطح ۱ درصد و غیرمعنی‌دار
** and ns respectively significant probability at 1% level and non-significant

جدول ۶: مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف مولیبدن روی برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی برگ اسفناج
Table 6: Comparison of the average effect of different levels of molybdenum on some biochemical characteristics of spinach leaf

مولیبدات سدیم (میکرومولار) Sodium molybdate (µM)	فنل کل (میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن تر) Total phenol (mg gallic acid g ⁻¹ FW)	فلاونوئید کل (میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن تر) Total flavonoids (mg quercetin g ⁻¹ FW)	اسید آسکوربیک (میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر) Ascorbic acid (mg 100 g FW)
0	0.291d	0.069d	8.31c
0.5	0.421c	0.094c	8.93b
1.5	0.555b	0.108b	12.34a
0.3	0.607a	0.137a	12.29a

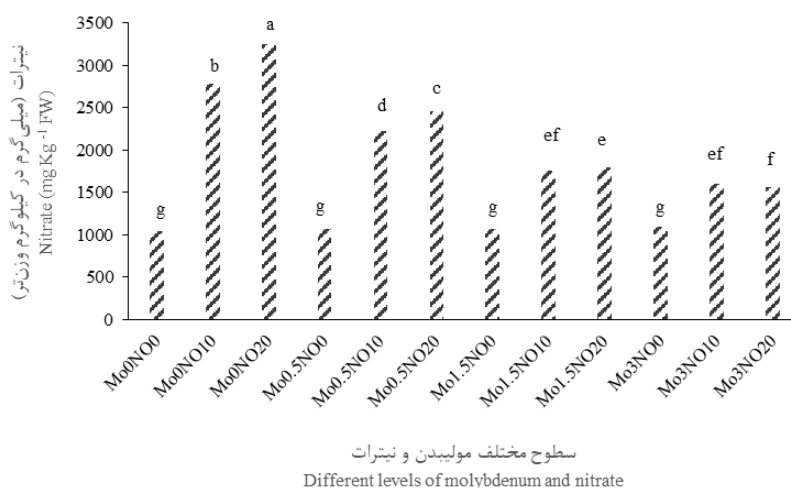
حروف همسان در هر ستون و در هر تیمار بیانگر نبود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است
The numbers with the same letters in each column are not statistically different at 5% probability levels

غلظت‌های ۱ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر منجر به افزایش غلظت فنل کل نسبت به تیمار شاهد در گیاه کرچک (*Ricinus communis* L.) شد.

عوامل مختلفی می‌تواند بر محتوای اسید آسکوربیک تأثیرگذار باشد، یکی از این عوامل مولیبدن است. افزایش فعالیت آنزیم‌های مسئول اکسیداسیون اسید آسکوربیک مثل فنل اکسیداز و پراکسیداز ممکن است ناشی از تأثیر مولیبدن روی اسید آسکوربیک باشد. به نظر می‌رسد که این اسید آلی نقش مهمی را در حفظ کلروپلاست در موقعیت‌های کاربردی دارد (مونکادا و همکاران، ۲۰۱۸). بر اساس پژوهش برنجی و ابوالسعد (۲۰۱۹) محلول پاشی مولیبدن با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر میزان اسید آسکوربیک را در برگ اسفناج افزایش داد. ارزش غذایی سبزی‌ها اغلب به محتوای اسید آسکوربیک، فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل و محتوای نیترات آن‌ها مربوط می‌شود.

فلاونوئیدها از آسیب رادیکال‌های آزاد و اکسیداسیون لیپوپروتئین‌هایی با چگالی پایین محافظت می‌کنند (جعفری^۱ و همکاران، ۲۰۲۳). فلاونوئیدها نقش مهمی در فرایند رشد، توسعه و دفاع از گیاهان در برابر میکروارگانیسم‌ها ایفا می‌کنند. مسیر بیوسنتز ترکیبات فنلی در گونه‌های مختلف گیاهی دارای نظم مشخصی است. در طی رشد، گیاه به‌طور طبیعی سطوحی از فلاونوئیدها را تولید می‌کند اما تولید بیش‌تر این ترکیبات بر اثر ایجاد جراحت، حمله پاتوژن‌ها و کمبود منابع معدنی مثل منیزیم، مولیبدن و کلسیم تحریک می‌شود (بامبارا و نندکیدی، ۲۰۱۰). بر اساس تحقیقات وو^۲ و همکاران (۲۰۱۴) کاربرد تیمار مولیبدن در گندم زمستانه منجر به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی شد و به‌طور کلی فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه را بهبود بخشید. بر اساس پژوهش هادی و همکاران (۲۰۱۶) استفاده از تیمار مولیبدن با

1. Jafri
2. Wu



شکل ۲: اثر سطوح مختلف مولیبدن و نیتروژن روی میزان نیترات برگ اسفناج

Fig. 2: The effect of different levels of molybdenum and nitrogen on the amount of nitrate in spinach

Mo_0 = صفر میکرومولار مولیبدات سدیم، $\text{Mo}_{0.5}$ = 0.5 میکرومولار مولیبدات سدیم، $\text{Mo}_{1.5}$ = 1.5 میکرومولار مولیبدات سدیم و Mo_3 = 3 میکرومولار مولیبدات سدیم. NO_0 = صفر نیترات کلسیم، NO_{10} = 10% درصد نیترات کلسیم و NO_{20} = 20% درصد نیترات کلسیم
 $\text{Mo}_0 = 0 \mu\text{mol}$ sodium molybdate, $\text{Mo}_{0.5} = 0.5 \mu\text{mol}$ sodium molybdate, $\text{Mo}_{1.5} = 1.5 \mu\text{mol}$ sodium molybdate and $\text{Mo}_3 = 3 \mu\text{mol}$ sodium molybdate. $\text{NO}_0 = 0$ calcium nitrate, $\text{NO}_{10} = 10\%$ calcium nitrate and $\text{NO}_{20} = 20\%$ calcium nitrate

معدنی به خصوص مولیبدن است. در صورت کمبود مولیبدن در گیاه، در تبدیل نیترات به اسیدهای آمینه مشکل به وجود آمده و نیترات و نیتريت در بافت‌های گیاه تجمع می‌یابد (بیگی و همکاران، ۱۳۹۰). بر اساس گزارش مونکادا و همکاران (2018) کمبود مولیبدن می‌تواند باعث افزایش تجمع نیترات در بافت‌های گیاهی و کاهش رشد و عملکرد گیاه شود. گادلا و همکاران (2022) گزارش کردند که محلول‌پاشی مولیبدن به‌طور قابل توجهی فعالیت آنزیم‌های نیترات ردوکتاز و نیتروژناز را بهبود می‌بخشد و کارایی نیتروژن قابل‌دسترس را افزایش می‌دهد. نتایج آن‌ها نشان داد که محلول‌پاشی مولیبدن با غلظت‌های 50 و 100 میلی‌گرم در لیتر منجر به کاهش محتوای نیترات در گیاه اسفناج شد. بر اساس پژوهش عباسی‌فر و همکاران (2020) محلول‌پاشی اسفناج با مولیبدن در غلظت‌های 0.1 و 1 میلی‌گرم در لیتر منجر به کاهش غلظت نیترات در برگ‌ها شد و بیش‌ترین تجمع نیترات در برگ گیاهان شاهد به‌دست آمد. برنجی و ابوالسعد (2019) بیان کردند که محلول‌پاشی گیاه اسفناج با غلظت‌های 50 و 100 میلی‌گرم در لیتر منجر به کاهش محتوای نیترات در برگ‌ها شد. از طرفی آن‌ها بیان کردند که گیاهان از مولیبدن در ساختار آنزیم‌هایی مانند نیترات ردوکتاز برای انجام واکنش‌های ردوکس در متابولیسم نیتروژن استفاده می‌کنند. در پژوهشی در کاهو گزارش شد که محلول‌پاشی مولیبدن بر کاهش محتوای نیترات در برگ‌ها مؤثر بود، به‌طوری‌که با افزایش غلظت مولیبدن میزان نیترات برگ حدود 30% درصد کاهش

افزایش محتوای اسید آسکوربیک در برگ سبزی‌ها می‌تواند به‌دلیل افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز ناشی از افزایش سطح مولیبدن باشد (مونکادا و همکاران، 2018). رانا^۱ و همکاران (2020) بیان کردند که در بیش‌تر سیستم‌های بیولوژیکی مولیبدن با مولیبدوآنزیم‌ها پیوند برقرار می‌کند، از طرفی مولیبدوآنزیم‌ها در متابولیسم نیتروژن نقش دارند و منجر به بهبود کیفیت اسید آسکوربیک در گیاه می‌شوند.

نیترات برگ

باتوجه به نتایج تجزیه واریانس (جدول ۵)، مولیبدن، نیترات و اثر متقابل بین مولیبدن و نیترات اثر معنی‌داری (در سطح احتمال یک درصد) بر میزان نیترات برگ داشتند (جدول ۵). طبق نتایج مقایسه میانگین‌ها، بیش‌ترین میزان نیترات برگ ($3247/4$ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن‌تر) در تیمار صفر میکرومولار مولیبدات سدیم همراه با 20% درصد نیترات اضافی مشاهده شد. درحالی‌که کم‌ترین میزان نیترات برگ در تیمارهای $1/5$ و 3 میکرومولار مولیبدات سدیم همراه با صفر درصد نیترات اضافی بود (شکل ۲).

تجمع نیترات در گیاهان یک پدیده طبیعی بوده و زمانی رخ می‌دهد که سرعت جذب نیترات بیش‌تر از سرعت متابولیسم آن باشد. در گیاهان متابولیسم نیترات تحت‌تأثیر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز است که فعالیت این آنزیم تحت‌تأثیر مواد

1. Rana

رشد نشان داد. افزایش غلظت مولیبدن و نیترات با بهبود صفاتی نظیر میزان مواد جامد محلول، فنل کل، فلاونوئید و اسید آسکوربیک توانست کیفیت اسفناج را افزایش دهد و گیاهی با ارزش غذایی بالاتر تولید کند. افزایش فنل‌ها در تیمار با مولیبدن بسیار حائز اهمیت است زیرا به سلامت گیاه و بهبود خواص غذایی آن کمک شایانی می‌کند. مهم‌ترین نکته در این تحقیق استفاده از مولیبدن جهت کنترل تجمع نیترات بود که کاربرد مولیبدن در غلظت‌های ۱/۵ و ۳ میکرومولار تا حدودی توانست میزان تجمع نیترات را اندام هوایی کاهش دهد و از این طریق سمیت نیترات اضافی را خنثی کند. کاربرد مولیبدات سدیم، می‌تواند یکی از راه‌های قابل توصیه به‌منظور کاهش تجمع نیترات و در کنار آن غنی‌ساز مولیبدن در گیاه اسفناج و افزایش ارزش غذایی این گیاه باشد. در نهایت می‌توان چنین بیان کرد که در این پژوهش کاربرد مولیبدن به‌ویژه در غلظت ۱/۵ و ۳ میکرومولار روی اسفناج توانست خواص کمی و کیفی گیاه را بهبود ببخشد و سبب کاهش تجمع نیترات در اسفناج شود.

یافت (استینر و همکاران، ۲۰۱۸). طبق نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق کاربرد هم‌زمان مولیبدن و نیتروژن باعث کاهش تجمع نیترات در اسفناج شده است که می‌توان با توجه به توضیحات بالا نتیجه گرفت این کاهش به‌دلیل تأثیر مثبت مولیبدن بر تجمع نیترات اسفناج بوده است (کواکس^۱ و همکاران، ۲۰۱۵).

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر تأثیر مولیبدن بر تجمع نیترات در اسفناج و همچنین برخی ویژگی‌های غذایی این گیاه در شرایط کشت هیدروپونیک بررسی شد. به‌طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که افزایش غلظت مولیبدن در کشت هیدروپونیک، اکثر ویژگی‌های رشدی و بیوشیمیایی گیاه اسفناج را تحت تأثیر قرار داد. افزایش غلظت مولیبدن و نیترات باعث افزایش وزن تر اندام هوایی و ریشه، وزن خشک اندام هوایی و ریشه و افزایش درصد ماده خشک اندام هوایی در کل گیاه گردید افزایش غلظت نیترات که با افزودن نیترات کلسیم به محلول غذایی حاصل شد نیز اثرات مثبتی روی ویژگی‌های

منابع

- Olfati-Chirani, J. A., Babalar, M., Kashi, A., Dadashipoor, A. and Shahmoradi, Kh, 2008. The effects of ammonium and molybdenum on nitrate concentration in two cultivars (species) of greenhouse cucumbers, *Journal of Horticulture Science, Agricultural Sciences and Technology*, 22 (1): 69-78. (In Persian).
- Barati, S., Lahouti, M. and Cheniany, M. 2021. Effects of molybdenum stress on antioxidant system performance of parsley seedlings (*Petroselinum sativum* L.) under laboratory condition. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 52 (2): 281-291. (In Persian).
- Beigi, S., Golchin, A. and Shafiei, S. 2011. The effects of different levels of nitrogen and molybdenum in nutrient solution on quantitative and qualitative traits and nitrate concentration of cucumber in hydroponic culture, *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture*, 2 (2): 37-49. (In Persian).
- Abbasifar, A., ValizadehKaji, B. and Irvani, M. A. 2020. Effect of green synthesized molybdenum nanoparticles on nitrate accumulation and nitrate reductase activity in spinach. *Journal of Plant Nutrition*, 43 (1): 13-27.
- Alessa, O., Najla, S. and Murshed, R. 2017. Murshed Improvement of yield and quality of two *Spinacia oleracea* L. varieties by using different fertilizing approaches. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 23 (3): 693-702.
- Ali, N., Hadi, F. and Ali, M. 2019. Growth stage and molybdenum treatment affect cadmium accumulation, antioxidant defence and chlorophyll contents in *Cannabis sativa* plant. *Chemosphere*, 236 (1): 124360.
- Bambara, S. and Ndakidemi, P. A. 2010. The potential roles of lime and molybdenum on the growth, nitrogen fixation and assimilation of metabolites in nodulated legume: A special reference to *Phaseolus vulgaris* L. *African Journal of Biotechnology*, 9 (17): 2482-2489.
- Boussadia, O., Steppe, K., Zgallai, K., Ben El Hadj, S., Braham, M., Lemeur, R. and Van, M. C. 2010. Labeke Effects of nitrogen deficiency on leaf photosynthesis, carbohydrate status and biomass production in two olive cultivars 'Meski' and 'Koroneiki'. *Scientia Horticulturae*, 123 (3): 336-342.
- Brengi, S. H. and Abouelsaad, I. A. 2019. The role of different nitrogen sources combined with foliar applications of molybdenum, selenium or sucrose in improving growth and quality of edible parts of spinach (*Spinacia oleracea* L). *Alexandria Science Exchange Journal*, 40 (1): 156-168.
- Cho, M. J., Howard, L. R. and Prior, R. L. 2008. Teddy Morelock flavonoid content and antioxidant capacity of spinach genotypes determined by high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88 (6): 1099-1106.
- de Resende, G. M., Alvarenga, M. A. R., Yuri, J. E. and Souza, R. J. D. 2010. Yield and postharvest quality of winter growing crisphead lettuce as affected by doses of nitrogen and molybdenum. *Horticultura Brasileira*, 28 (4): 441-445.
- Elrys, A. S., Raza, S., Abdo, A. I., Liu, Z., Chen, Z. and Zhou, J. 2019. Budgeting nitrogen flows and the food nitrogen footprint of Egypt during the past half century: Challenges and opportunities. *Environment International*, 130: 104895.

- Erfani, F., Hassandokht, M. R., Jabbari, A. and Barzegar, M. 2007. Effect of cultivar on chemical composition of some Iranian spinach. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10 (4): 602-606.
- Fabio, S. and Tiago, Z. 2015. Foliar application of molybdenum improves nitrogen uptake and yield of sunflower. *African Journal of Agricultural Research*, 10 (17): 1923-1928.
- Fang, Z., Zhang, Y., Lü, Y., Ma, G., Chen, J., Liu, D. and Ye, X. 2009. Phenolic compounds and antioxidant capacities of bayberry juices. *Food Chemistry*, 113 (4): 884-888.
- Felix, J. D., Avery, J. B., Mead, R. N., Kieber, R. J. and Willey, J. 2016. Willey Nitrogen content and isotopic composition of Spanish Moss. (*Tillandsia usneoides* L.): reactive nitrogen variations and source implications across an urban coastal air shed. *Environmental Processes*, 3 (4): 711-722.
- Folin, O. and Ciocalteu, V. 1927. On tyrosine and tryptophan determinations in proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 73 (2): 627-650.
- Gadallah, F. M., El-Sawah, N. A., Belal, H. E. E., Majrashi, A., El-Tahan, A. M., El-Saadony, M. T., Elrys, A. S. and El-Saadony, F. M. A. 2022. Nitrogen-molybdenum-manganese co-fertilization reduces nitrate accumulation and enhances spinach (*Spinacia oleracea* L.) yield and its quality. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29 (4): 2238-2246.
- Hadi, F., Ali, N. and Fuller, M. P. 2016. Molybdenum (Mo) increases endogenous phenolics, proline and photosynthetic pigments and the phytoremediation potential of the industrially important plant *Ricinus communis* L. for removal of cadmium from contaminated soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 23 (20): 20408-20430.
- Humphries, E.C., Peach, K. and Tracy, M. 1956. Mineral components and ash analysis. PP 468-502. In: K. Peachand, M. V. Tracey, (Eds.), *Modern Methods of Plant Analysis*, Springer Verlag, Berlin.
- Jafri, S. A. A., Khalid, Z. M., Khan, M. R., Ashraf, S., Ahmad, N., Karami, A. M. and Aslam, S. 2023. Evaluation of some essential traditional medicinal plants for their potential free scavenging and antioxidant properties. *Journal of King Saud University-Science*, 35 (3): 102562.
- Jin, P., Zheng, Y., Tang, S., Rui, H. and Wang, C. Y. 2009. A combination of hot air and methyl jasmonate vapor treatment alleviates chilling injury of peach fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 52 (1): 24-29.
- Kaiser, B. N., Gridley, K. L., Ngair Brady, J., Phillips, T. and Tyerman, S. D. 2005. The role of molybdenum in agricultural plant production. *Annals of Botany*, 96 (5): 745-754.
- Kovács, B., Puskás-Preszner, A., Huzsvai, L., Lévai, L. and Bódi, É. 2015. Effect of molybdenum treatment on molybdenum concentration and nitrate reduction in maize seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 96: 38-44.
- La Bella, S., Consentino, B. B., Roupheal, Y., Ntasi, G., De Pasquale, C., Iapichino, G. and Sabatino, L. 2021. Impact of ecklonia maxima seaweed extract and mo foliar treatments on biofortification, spinach yield, quality and nue. *Plants*, 10 (6): 1-15.
- Li, L. I. U., Wei, X. I. A. O., Ji, M. L., Chao, Y. A. N. G., Ling, L. I., GAO, D. S. and FU, X. L. 2017. Effects of molybdenum on nutrition, quality, and flavour compounds of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch. cv. Akihime) fruit. *Journal of Integrative Agriculture*, 16 (7): 1502-1512.
- Liu, L., Xiao, W., Li, L., Li, D. M., Gao, D. S., Zhu, C. Y. and Fu, X. L. 2017. Effect of exogenously applied molybdenum on its absorption and nitrate metabolism in strawberry seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 115 (1): 200-211.
- Márquez-Quiroz, C., López-Espinosa, S., Sánchez-Chávez, E., García-Bañuelos, M., la Cruz-Lázaro, D. and Reyes-Carrillo, J. 2014. Effect of vermicompost tea on yield and nitrate reductase enzyme activity in saladette tomato. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 14 (1): 223-231.
- Mensinga, T. T., Speijers, G. J. and Meulenbelt, J. 2003. Health implications of exposure to environmental nitrogenous compounds. *Toxicological Reviews*, 22 (1): 41-51.
- Moncada, A., Miceli, A., Sabatino, L., Iapichino, G., D'Anna, F. and Vetrano, F. 2018. Effect of molybdenum rate on yield and quality of lettuce, escarole, and curly endive grown in a floating system. *Agronomy*, 8 (9): 171.
- Najm, A. A., Hadi, M. R. H. S., Darzi, M. T. and Fazeli, F. 2013. Influence of nitrogen fertilizer and cattle manure on the vegetative growth and tuber production of potato. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 5: 147-154.
- Nielsen, S. S. 2017. Vitamin C determination by indophenol method. In *Food analysis laboratory manual*. Springer, Cham, 143-146.
- Rana, M. S., Bhantana, P., Imran, M., Saleem, M. H., Moussa, M. G., Khan, Z., Khan, I., Alam, M., Abbas, M., Binyamin, R., Afzal, J., Syaifudin, M., Ud Din, I., Younas, M., Ahmad, I., Shah, A. and Hu, C. 2020. Molybdenum potential vital role in plants metabolism for optimizing the growth and development. *Annals of Environmental Science and Toxicology*, 4 (1): 032-044.
- Rebaya, A., Belghith, S. I., Baghdikian, B., Leddet, V. M., Mabrouki, F., Olivier, E. and Ayadi, M. T. 2014. Total phenolic, total flavonoid, tannin content, and antioxidant capacity of *Halimium halimifolium* (Cistaceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5 (1): 052-057.
- Rocha, D. C., da Silva, B. F. I., Moreira dos Santos, J. M., Tavares, D. S., Pauletti, V. and Gomes, M. P. 2020. Do nitrogen sources and molybdenum affect the nutritional quality and nitrate concentrations of hydroponic baby leaf lettuce? *Journal of Food Science*, 85 (5): 1605-1612.
- Sabatino, L., D'Anna, F., Iapichino, G., Moncada, A., D'Anna, E. and De Pasquale, C. 2019. Interactive effects of genotype and molybdenum supply on yield and overall fruit quality of tomato. *Frontiers in Plant*, 9 (1): 1-10.
- Santamaria, P., Gonnella, M., Elia, A., Parente, A. and Serio, F. 2001. Ways of reducing rocket salad nitrate content. *Acta Horticulturae*, 548 (1): 529-536.

- Steiner, F., Zoz, T., Zuffo, A. M., Pereira-Machado, P., Zoz, J. and Zoz, A. 2018. Foliar application of molybdenum enhanced quality and yield of crisphead lettuce (*Lactuca sativa* L., cv. Grand Rapids). *Acta Agronómica*, 67 (1): 73-78.
- Uddin, R., Thakur, M. U., Uddin, M. Z and Islam, G. M. 2021. Study of nitrate levels in fruits and vegetables to assess the potential health risks in Bangladesh, *Scientific Reports*, 11: 4704.
- Wu, S., Hu, C., Tan, Q., Nie, Z. and Sun, X. 2014. Effects of molybdenum on water utilization, antioxidative defense system and osmotic-adjustment ability in winter wheat (*Triticum aestivum*) under drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 83 (1): 365-374.
- Zoz, T., Steiner, F., Testa, J. V. P., Seidel, E. P., Fey, R., Castagnara, D. D. and Zoz, A. 2012. Foliar fertilization with molybdenum in wheat. *Semina: Ciências Agrárias*, 33 (2): 633-638.