Plant Production Technology/ **Volume 23/ Issu 2/ Pages 13-27/ Autumn and Winter 2024**
https://doi.org/10.22084//PPT.2024.28466.2108

ORIGINAL RESEARCH PAPER

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

Mafton[1], L., Esna-Ashari[2*], M. and Amerian[3], 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: mahmoodesna@yahoo.co.uk

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

فنآوری تولیدات گیاهی/ جلد بیست و سوم/ شمارهٔ دوم/ صفحات ۱۳- ۲۷/ پاییز و زمستان ۱۴۰۲
https://doi.org/10.22084/PPT.2024.28466.2108

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 اثنی‌عشری[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. باتوجه‌به 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، مولبیدات سدیم، نیترات کلسیم

ارجاع به مقاله: مفتون، ل.، اثنی‌عشری، م. و عامریان، م. (۱۴۰۲). اثر سطوح مختلف مولیبدن و نیتروژن روی برخی خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی اسفناج، مجله فنآوری 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 الکترونیکی: ۲۴۷۶-۵۶۵۱ **شاپا چاپی:** ۲۴۷۶-۶۳۲۱

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 Email: mahmoodesna@yahoo.co.uk

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول به راهنمایی آقای محمود اثنی‌عشری 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[1] و همکاران، 2008). اسفناج یک سبزی با ارزش بیولوژیکی بالاست که از نظر آنتی‌اکسیدانی بسیار غنی است (عرفانی[2] و همکاران، 2007) .

کوددهی عامل کلیدی کنترل تولید گیاه است. با این‌حال، 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*[3] و همکاران، 2010). طبق مطالعات انجام شده کوددهی نیتروژن ویژگی‌های رشدی گیاه و تولید بیشتر محصولات را بهبود می‌بخشد (*نجم*[4] 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*[5] 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 مصرف کننده‌ها مهم است (*گادالا*[6] و همکاران، 2022). اسفناج یک گیاه پرتوقع است و برای رشد و نمو مطلوب به میزان بالایی از نیتروژن نیاز دارد (*فلیکس*[7] و همکاران، 2016). هم‌چنین این سبزی به کود نیتروژن بسیار حساس است و یکی از تجمع کننده‌های نیترات (NO_3^-) است. سبزی‌های برگی مانند کاهو و اسفناج نسبت به سبزی‌های میوه‌ای و دانه‌ای تجمع نیترات بیشتری دارند (*آلیسا*[8] و همکاران، 2017). نیترات موجود در سبزی به‌سرعت توسط باکتری‌های موجود روی زبان به نیتریت تبدیل می‌شود و نیتریت 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*[9]) تعیین شده است (*ادین*[10] و همکاران، 2021). در نتیجه، تجمع نیترات در سبزیجات ازجمله اسفناج توجه زیادی را به خود جلب کرده است. مطالعات زیادی در دهه‌های اخیر برای کاهش تجمع نیترات در گیاهان انجام شده است. با این‌حال، تجمع نیترات فرآیندی پیچیده است (*مارکز-کیروش*[11] 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 کنترل کننده تجمع نیترات در سبزیجات است ارتباط دارد (*سانتاماریا*[12] و همکاران، 2001).

سبزی‌های برگ‌دار حاوی سطح بالایی از نیترات هستند و مصرف مقادیر زیاد نیترات باعث بیماری‌های جدی برای انسان می‌شود (*منسینگا*[13] 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 نیتریت 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*[14]، 2010)، *الریس* و همکاران (2018) دریافتند که استفاده از مولیبدن همراه با کودهای نیتروژن باعث کاهش تجمع نیترات در غده‌های سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) می‌شود درحالی‌که 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 Ndakidemi

مواد و روش‌ها

تهیه و کشت بذر

به‌منظور بررسی اثر سطوح مختلف مولیبدن و نیترات بر خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه اسفناج یک آزمایش گلدانی به‌صورت 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 به‌صورت 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[1] از مؤسسه فردین کشت البرز تهیه گردید. بذور اسفناج در تاریخ ۱۳۹۹/۹/۱۰ به‌مدت 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 به‌مدت 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 جوانه‌زنی 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 به‌صورت نشاءکاری واکشت شدند.

تغذیه‌ی گیاهان با محلول‌های غذایی به‌صورت روزانه انجام می‌شد از تاریخ ۱۳۹۹/۱۰/۸ تیماردهی گیاهان آغاز شد. باتوجه‌به میزان رشد بوته‌ها در ابتدا محلول‌دهی یک‌بار در روز صورت می‌گرفت، اما در انتهای دوره‌ی رشد به‌دلیل افزایش توده‌ی گیاهی به دوبار در روز افزایش یافت و محلول‌دهی به‌مدت 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 وزن‌تر و خشک برگ و ریشه، ماده خشک برگ و اسید آسکوربیک، فنل و فلانوئید 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 کفایت 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 به‌عنوان 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

وزن‌تر 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 به‌وسیله‌ی 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 وزن‌تر آن‌ها اندازه‌گیری شد. پس از ثبت وزن‌تر با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم، ریشه و برگ جداگانه درون پاکت‌های کاغذی به‌مدت 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 به‌مدت 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:

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

1. Senator

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_2MoO_4	نمک نیترات کلسیم $Ca(NO_3)_2$	تیمار Treatment
0	337.00	Mo_0NO_0
0	394.95	Mo_0NO_{10}
0	452.90	Mo_0NO2_0
0.048	337.00	$Mo_{0.5}NO_0$
0.048	394.95	$Mo_{0.5}NO1_0$
0.048	452.90	$Mo_{0.5}NO2_0$
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_3NO_0
0.288	394.95	Mo_3NO_{10}
0.288	452.90	Mo_3NO_{20}

جدول ۲: غلظت یون‌های مصرف شده (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 نیترات Nitrate ion	یون مولیبدن Molybdenum ion	تیمار Treatment
15000	4000	0	Mo_0NO_0
16500	4688	0	Mo_0NO_{10}
18000	5376	0	Mo_0NO2_0
15000	4000	0.5	$Mo_{0.5}NO_0$
16500	4688	0.5	$Mo_{0.5}NO1_0$
18000	5376	0.5	$Mo_{0.5}NO2_0$
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_3NO_0
16500	4688	3	Mo_3NO_{10}
18000	5376	3	Mo_3NO_{20}

اندازه‌گیری ویژگی‌های بیوشیمیایی

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

اسید آسکوربیک

برای اندازه‌گیری میزان اسید آسکوربیک، از روش تیتراسیون با استفاده از ماده دی کلرو فنل ایندوفنل در طی دو مرحله استخراج و سنجش انجام گرفت (*نیل سن*[1]، 2017). طبق این روش ابتدا ۵ گرم از هر نمونه برگ اسفناج با ۵ میلی‌لیتر متافسفریک ۱ درصد حاوی EDTA در هاون چینی کوبیده شد. سپس محلول به‌دست‌آمده در داخل فالکن ۱۰ میلی‌لیتری ریخته و به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ۵ میلی‌لیتر از عصاره سانتریفیوژ شده مرحله قبل برداشته و ۵ میلی‌لیتر متافسفریک 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 صورتی کم‌رنگ ظاهر شد و به‌مدت ۱۵ ثانیه پایدار ماند. در نهایت حجم معرف مصرفی ثبت و بر اساس فرمول زیر مقدار اسید آسکوربیک اسفناج محاسبه گردید.

$$\text{میزان ویتامین ث} \left(\frac{\text{میلی گرم}}{\text{100 گرم}}\right) = \frac{V \times T}{\text{مقدار ماده گیاهی}} \times 100$$

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 حل‌شده بود، اضافه گردید و درنهایت حجم محلول به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد.

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

1. Nielsen

ج) تهیه محلول استاندارد: برای به‌دست 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 تیتر 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، آب‌مقطر ۲۹ میلی‌لیتر و ۱ میلی‌لیتر استیک اسید) به‌خوبی 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 به‌دست آمده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با ۵۰۰۰ دور در دقیقه و به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. عصاره‌ی رویی به‌وسیله سمپلر به‌آرامی 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[1] (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 به‌مدت 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 طول‌موج ۷۶۵ نانومتر قرائت گردید.

فلاونوئید کل

برای اندازه‌گیری غلظت فلاونوئید کل از روش ربایا[2] 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 نیتریت 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 به‌همراه 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 نیترات

نیترات برگ اسفناج به روش هامفریز[3] و همکاران (۱۹۵۶) و با استفاده از نیم گرم نمونه برگی خشک شده انجام شد. نیترات 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 نیترات 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 نیترات 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 نیترات فقط در سطح احتمال پنج درصد اثر معنی‌داری بر وزن تر ریشه داشتند (جدول ۳).

1. Folin Ciocalteu Method

2. Rebaya
3. Humphries

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

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

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

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

طبق نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۴)، بیش‌ترین وزن تر 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) و کم‌ترین (۱/۲۳ گرم) وزن خشک ریشه به‌ترتیب 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).

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

تیمار Treatment	وزن‌تر برگ (گرم) Fresh weight of leaf (g)	وزن خشک برگ (گرم) Dry weight of leaf (g)	وزن خشک‌ریشه (گرم) Dry weight of root (g)	ماده خشک برگ (درصد) Dry leaf matter (%)
M_0	41.08c	1.35d	1.22d	3.23c
$M_{0.5}$	46.02ab	1.90c	1.44c	4.08c
$M_{1.5}$	43.24bc	2.38b	1.69b	5.50b
M_3	48.05a	3.31a	1.89a	6.83a
NO_0	42.60b	1.00c	1.34b	2.30b
NO_{10}	43.65b	2.51b	1.40b	5.76a
NO_{20}	47.55a	3.18a	1.95a	6.67a

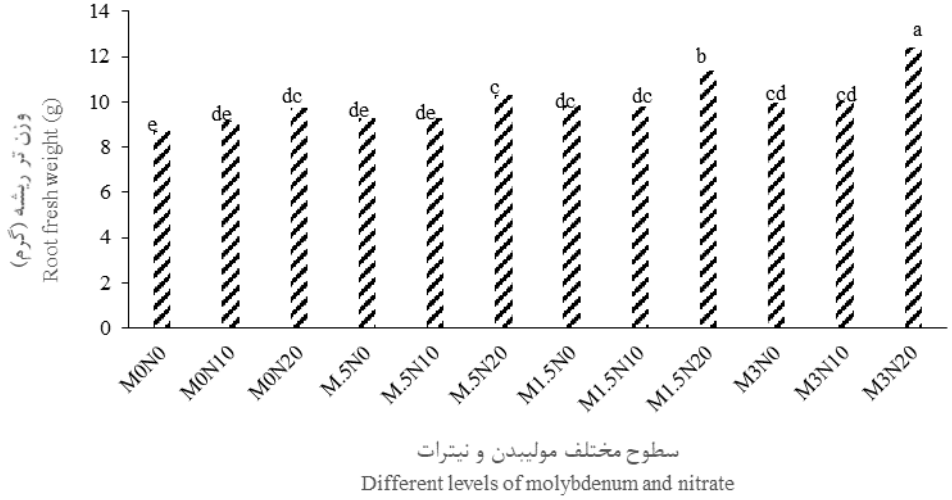
Mo_0= صفر میکرومولار مولیبدات سدیم، $Mo_{0.5}$= ۰/۵ میکرومولار مولیبدات سدیم، $Mo_{1.5}$= ۱/۵ میکرومولار مولیبدات سدیم و Mo_3= ۳ میکرومولار مولیبدات سدیم. NO_0=صفر نیترات کلسیم، NO_{10}=۱۰ درصد نیترات کلسیم و NO_{20}=۲۰ درصد نیترات کلسیم

Mo_0 = 0 µmol sodium molybdate, $Mo_{0.5}$ = 0.5 µmol sodium molybdate, $Mo_{1.5}$ = 1.5 µmol sodium molybdate and MO_3 = 3 µmol sodium molybdate. NO_0 = 0 calcium nitrate, NO_{10} = 10% calcium nitrate and NO_{20} = 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

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



شکل ۱: اثر سطوح مختلف مولیبدن و نیترات بر وزن‌تر 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، $Mo_{0.5}$= ۰/۵ میکرومولار مولیبدات سدیم، $Mo_{1.5}$= ۱/۵ میکرومولار مولیبدات سدیم و Mo_3= ۳ میکرومولار مولیبدات سدیم. NO_0=صفر نیترات کلسیم، NO_{10}=۱۰ درصد نیترات کلسیم و NO_{20}=۲۰ درصد نیترات کلسیم

Mo_0 = 0 µmol sodium molybdate, $Mo_{0.5}$ = 0.5 µmol sodium molybdate, $Mo_{1.5}$ = 1.5 µmol sodium molybdate and MO_3 = 3 µmol sodium molybdate. NO_0 = 0 calcium nitrate, NO_{10} = 10% calcium nitrate and NO_{20} = 20% calcium nitrate

چندین مطالعه گزارش کردند که تغذیه با مولیبدن باعث افزایش رشد و عملکرد سبزی‌های برگ‌دار در مقایسه با شرایط کمبود این عنصر می‌شود که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد (*کایسر*[1] و همکاران، 2005؛ *مونکادا*[2] و همکاران، 2018). براساس گزارش *عباسی فر*[3] و همکاران (2020) کاربرد عنصر مولیبدن به‌طور قابل‌توجهی منجر به افزایش وزن‌تر در گیاه اسفناج شد، به‌طوری‌که بیش‌ترین وزن‌تر مربوط به تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر عنصر مولیبدن و کم‌ترین میزان آن مربوط به گیاهان شاهد با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر عنصر مولیبدن بود. تأثیر مولیبدن در افزایش وزن‌تر گیاه ناشی از افزایش توانایی گیاه در استفاده از نیتروژن است. نتایج مشابهی در مورد تأثیر مثبت استفاده از مولیبدن در افزایش وزن‌تر گندم (*Triticum aestivum* L.) (*زوز*[4] و همکاران، 2012) آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) (*فابیو* و *تیاگو*[5]، 2015) و توت‌فرنگی (*Fragaria* × *ananassa*) (*لیو*[6] و همکاران، 2017) گزارش شده است. برخلاف نتایج این تحقیق، *روچا*[7] و همکاران (2020) گزارش دادند که کاربرد ۰/۶ و ۰/۱۲ میلی‌گرم در لیتر مولیبدن به محلول غذایی هیدروپونیک تأثیری بر وزن‌تر و خشک اندام هوایی کاهو نداشت. محلول‌پاشی مولیبدن با غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر در گیاه اسفناج منجر به افزایش وزن‌تر و خشک تیمارهای محلول‌پاشی نسبت به تیمار شاهد شد (*برنجی* و *ابوالسعد*[8]، 2019). بر اساس گزارش *استینر*[9] و همکاران (2018) کاربرد مولیبدن با غلظت ۶۱/۲ گرم در هکتار در گیاه کاهو (*Lactuca sativa* L.) منجر به افزایش ۳۸ درصدی میانگین وزن‌تر برگ نسبت به شاهد شد. *گادالاه* و همکاران (2022) گزارش دادند که محلول‌پاشی مولیبدن با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر به همراه کود نیتروژن منجر به افزایش وزن‌تر و خشک اسفناج نسبت به تیمار شاهد گردید. *عباسی‌فر* و همکاران (2020) گزارش دادند که محلول‌پاشی مولیبدن در گیاه اسفناج وزن خشک گیاه را افزایش داد که بیش‌ترین وزن خشک گیاه مربوط به تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر مولیبدن و کم‌ترین مقدار آن در گیاه شاهد مشاهده شد. بر اساس پژوهش *مونکادا* و همکاران (2018) محلول‌پاشی با مولیبدن در غلظت‌های ۰/۵، ۱/۵ و ۳ میکرومولار در لیتر منجر به افزایش وزن خشک و اسید آسکوربیک کاهو و آندیو (*Cichorium endivia* L.) شد. *هادی*[10] و همکاران (2016) بیان کردند که اثر قابل‌توجه مولیبدن روی افزایش میزان ماده خشک گیاه ممکن است

1. Kaiser
2. Moncada
3. Abbasifar
4. Zoz
5. Fabio and Tiago
6. Liu
7. Rocha
8. Brengi and Abouelsaad
9 Steiner
10. Hadi

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. *دی رسنده*[1] و همکاران (2010) 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 آسیمیلاسیون 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 ازجمله نیترات دارد. هنگامی‌که 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 وزن‌تر 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 وزن‌تر و خشک برگ و وزن‌تر 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 بیوشیمایی موردمطالعه 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 (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 فنولیکی بالا معمولاً ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالایی نیز دارند (*فنگ*[2] و همکاران، 2009). 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*[3] و همکاران، 2009). 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 انداکیدمی*[4]، 2010). *لابلا*[5] و همکاران (2021) گزارش دادند با کاربرد مولیبدن (غلظت‌های ۴ و ۸ میکرومولار) محتوای فنل کل در اسفناج افزایش یافته است. بر اساس تحقیقات *ساباتینو*[6] و همکاران (2019) 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*[7] و همکاران، 2019).

1. de Resende

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

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

** و ns: به‌ترتیب 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 وزن‌تر) Total flavonoids (mg querstein g^{-1} FW)	اسید آسکوربیک (میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن‌تر) 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

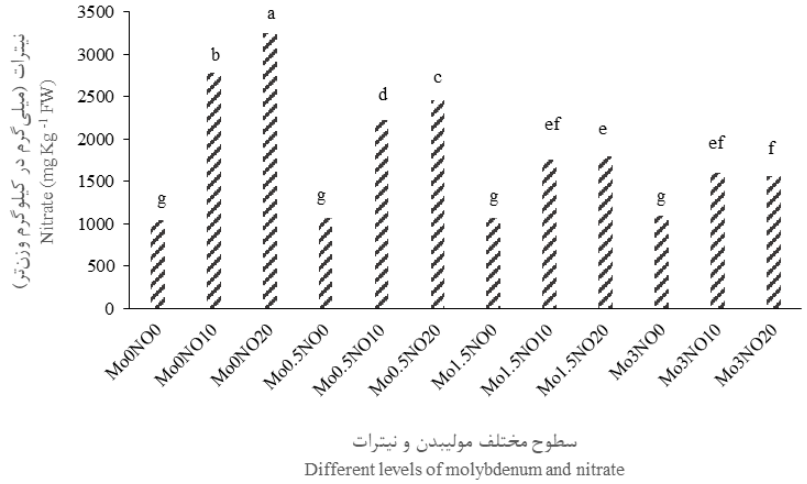
حروف همسان در هر ستون و در هر تیمار بیانگر نبود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است

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

فلاونوئیدها از آسیب رادیکال‌های آزاد و اکسیداسیون لیپوپروتئین‌هایی با چگالی پایین محافظت می‌کنند (*جعفری*[1] و همکاران، 2023). 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 اندا‌کیدمی*، 2010). بر اساس تحقیقات وو[2] و همکاران (2014) کاربرد تیمار مولیبدن در گندم زمستانه منجر به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی شد و به‌طورکلی فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه را بهبود بخشید. بر اساس پژوهش *هادی* و همکاران (2016) استفاده از تیمار مولیبدن با 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. به‌نظر می‌رسد که این اسید آلی نقش مهمی را در حفظ کلروپلاست در موقعیت‌های کاربردی دارد (*مونکادا* و همکاران، 2018). بر اساس پژوهش *برنجی و ابوالسعد* (2019) محلول‌پاشی 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.

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، $Mo_{0.5}$= ۰/۵ میکرومولار مولیبدات سدیم، $Mo_{1.5}$= ۱/۵ میکرومولار مولیبدات سدیم و Mo_3= ۳ میکرومولار مولیبدات سدیم. NO_0=صفر نیترات کلسیم، NO_{10}=۱۰ درصد نیترات کلسیم و NO_{20}=۲۰ درصد نیترات کلسیم

Mo_0 = 0 µmol sodium molybdate, $Mo_{0.5}$ = 0.5 µmol sodium molybdate, $Mo_{1.5}$ = 1.5 µmol sodium molybdate and MO_3 = 3 µmol sodium molybdate. NO_0 = 0 calcium nitrate, NO_{10} = 10% calcium nitrate and NO_{20} = 20% calcium nitrate

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*[1] 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

باتوجه‌به 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 (۳۲۴۷/۴ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن‌تر) در تیمار صفر میکرومولار مولیبدات سدیم همراه با ۲۰ درصد نیترات اضافی مشاهده شد. درحالی‌که کم‌ترین میزان نیترات برگ در تیمارهای ۱/۵ و ۳ 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 معدنی به‌خصوص مولیبدن است. در صورت کمبود مولیبدن در گیاه، در تبدیل نیترات به اسیدهای آمینه مشکل به‌وجود آمده و نیترات و نیتریت 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. *گادالاه* و همکاران (2022) گزارش کردند که محلول‌پاشی مولیبدن به‌طور قابل‌توجهی 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 ۵۰ و ۱۰۰ 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 ۰/۱ و ۱ 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 ۵۰ و ۱۰۰ 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 ۳۰ درصد کاهش

1. Rana

یافت (*استینر* و همکاران، 2018). طبق نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق کاربرد هم‌زمان مولیبدن و نیتروژن باعث کاهش تجمع نیترات در اسفناج شده است که می‌توان باتوجه‌به توضیحات بالا نتیجه گرفت این کاهش به‌دلیل تأثیر مثبت مولیبدن بر تجمع نیترات اسفناج بوده است (*کاواکس*[1] و همکاران، 2015).

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر تأثیر مولیبدن بر تجمع نیترات در اسفناج و هم‌چنین برخی ویژگی‌های غذایی این گیاه در شرایط کشت هیدروپونیک بررسی شد. به‌طورکلی نتایج حاصل از این پـژوهش نشـان داد که افزایش غلظت مولیبدن در کشت هیدروپونیک، اکثر ویژگی‌های رشدی و بیوشیمیایی گیاه اسفناج را تحت‌تأثیر قرار داد. افزایش غلظت مولیبدن و نیترات باعث افزایش وزن‌تر 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 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.

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 cultivavs (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 Iravani, 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.

1 Kovács

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., Ngaire 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., Rouphael, Y., Ntatsi, 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 crispleaf 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.