

مقاله پژوهشی

بررسی اثرات غلظت‌های مختلف مولیبدن بر رشد و برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه بومادران (*Achillea millefolium* L.)

خدیجه صفائی‌ان و طهماسب آسمانه*

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۱/۲۹، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۱۱/۲۵)

چکیده

گیاهان برای رشد و نمو خود به عناصر غذایی ضروری نیاز دارند. مدیریت تغذیه عناصر غذایی می‌تواند بر تولید و کیفیت گیاهان دارویی و معطر، مؤثر باشد. مولیبدن، عنصری کم‌مصرف است که نقش مهمی در سیستم‌های آنزیمی گیاهان دارند. همچنین در زمره فلزات سنگین محسوب می‌شود که مقادیر مازادش بر گیاه تنش‌زا است. در این پژوهش اثر تیمار مولیبدن سطوح (صفر، ۰/۰۱، ۰/۱ و ۱ میکرومولار)، در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی، بر شاخص‌های بیوشیمیایی و مورفولوژیک گیاه دارویی بومادران (*Achillea millefolium* L.)، در محیط-کشت هیدروپونیک، مورد بررسی قرار گرفت. بررسی نتایج نشان داد که غلظت‌های ۰/۰۱ و ۰/۱ میکرومولار مولیبدن، نسبت به شاهد، اثرات مثبتی بر اکثر شاخص‌های بیوشیمیایی از جمله مقدار کلروفیل، کاروتنوئید، آنتوسیانین، کربوهیدرات محلول و پروتئین و شاخص‌های رشد از جمله سطح برگ، وزن خشک ریشه و بخش هوایی گیاه داشت. درحالی‌که، غلظت ۱ میکرومولار مولیبدن، بر کربوهیدرات محلول و وزن خشک ریشه، اثر منفی داشت. همچنین، با افزایش سطوح مولیبدن، غلظت عنصر مولیبدن در ریشه و اندام هوایی نیز افزایش یافت، در حالی‌که غلظت عنصر مس در این اندام‌ها کاهش یافت، که نشان‌دهنده اثر آنتاگونیستی این دو عنصر است. همچنین ترکیبات فنلی این گیاه در پاسخ به تیمار ۰/۱ میکرومولار مولیبدن به طور چشمگیری افزایش یافت. بنابراین به نظر می‌رسد بهترین سطح مولیبدن برای رشد گیاه و تولید ترکیبات فنلی، سطح ۰/۱ میکرومولار مولیبدن است.

کلمات کلیدی: بومادران، شاخص فیزیولوژیک، مولیبدن

مقدمه

مولیبدوفلاووپروتئین‌ها مانند آنزیم‌های گیاهی نیترات ردوکتاز و نیتروژناز است که این آنزیم‌ها در عمل تثبیت نیتروژن به آمونیوم در گیاه نقش دارند (Anbuselvi et al., 2011; Mendel and Leimkühler, 2015). به همین دلیل مقادیر جزئی آن تأثیر مثبت و معنی‌داری بر میزان پروتئین گیاه، افزایش رشد و کاهش ترکیبات نیتروژنه محلول از جمله نیترات دارد (Anbuselvi et al., 2011). وقتی کمبود مولیبدن

گیاهان برای رشد و نمو خود به عناصر غذایی پرمصرف و کم‌مصرف نیاز دارند (Alloway, 2008). عناصر کم‌مصرف نقش زیادی در سیستم‌های آنزیمی گیاهان دارند. مدیریت تغذیه عناصر غذایی می‌تواند بر تولید با کیفیت گیاهان دارویی و معطر مؤثر باشد (Hornok, 1997; Yadegari, 2013). مولیبدن در زمره عناصر کم‌مصرف بوده و جزئی از

*نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: asemaneh@yu.ac.ir

میزان کربوهیدرات محلول و نامحلول در گیاهان رشدیافته تحت تنش فلزات سنگین با توجه به غلظت بکار رفته از فلزات در آزمایش، می‌تواند افزایش یا کاهش یابد (Gubrelay et al., 2013; John et al., 2008).

غلظت مولیدن در ریشه گیاه بیشتر از بخش هوایی است و این امر به این علت است که در ریشه‌های گیاهان فعالیت نیتروژناز و نیترات ردوکتاز بیشتر از اندام هوایی است (Butnariu et al., 2008). با اعمال تیمار مولیدن به گیاهان ذرت و آفتابگردان، علاوه بر اینکه غلظت مولیدن در گیاهان افزایش یافت، محتوای مولیدن در ریشه‌ها نسبت به بخش هوایی نیز بیشتر بود (Bodi et al., 2015).

ممانعت فلزات سنگین از جمله مولیدن، روی طول ساقه و ریشه و سطح برگ می‌تواند عمدتاً به علت تقسیم غیرمعمول سلول باشد. همچنین ممکن است به ممانعت فلزات از فرایندهای فتوسنتزی و تنفس در سیستم ساقه و ستنز پروتئین در ریشه بستگی داشته باشد و یا به علت کاهش تقسیم سلول و رشد آن باشد (Ouzounidou, 1995).

گیاه بومادران (*Achillea millefolium* L.) از تیره آفتابگردان، در زمره گیاهان دارویی به شمار می‌رود که سرشاخه‌های آن، شامل متابولیت‌های ثانویه از جمله: پلی‌فنل‌ها، تانن‌ها، آلکالوئیدها و سزکوئی‌ترین‌ها هستند (والنت، ۱۳۸۱). در ایران، ۱۹ گونه از این گیاه دارویی به طور خودرو یافت می‌شود که هفت گونه آن انحصاری است (مظفریان، ۱۳۸۷). بومادران هزار برگ (*A. millefolium*) یکی از گونه‌های دارویی و ارزشمند بومادران محسوب می‌شود که به طور خودرو در دشت‌ها، کنار جاده‌ها و ارتفاعات می‌روید (امیدبیگی، ۱۳۸۴؛ Ebrahim et al., 2012). طی مطالعه‌ای دیگر بر روی سرشاخه‌های گیاه بومادران هزار برگ، مشخص شد که این بخش از گیاه شامل روغن‌های فرار، ترکیب‌های پلی‌فنلی، برخی انواع فلاون‌ها، سزکوئی‌ترین‌ها، لاکتون‌ها، بتائین‌ها، ترکیب‌های استیلن، رزین، تانن، آشیلین، فسفات، نیترات، نمک‌های پتاسیم و اسیدهای آلی است (Zahedi Khorasani et al., 2006).

وجود داشته باشد، تبدیل نیترات به اسیدهای آمینه و پروتئین نقصان یافته و نیترات در بافت‌های گیاه تجمع می‌یابد (Anbuselvi et al., 2011). کمبود مولیدن باعث تأخیر گلدهی و مهار جوانه‌زنی می‌شود (Martin et al., 1995) که در نهایت، منجر به عملکرد ضعیف محصول می‌شود. کمبود مولیدن در گندم موجب کاهش سطوح رکود می‌شود (Cairns and Kritzing, 1992)، که احتمالاً به دلیل کاهش سطوح آبسزیک اسید در دانه‌هاست (Modi and Cairns, 1994). علائمی از کمبود مولیدن در انواع مختلف گیاهان قابل ملاحظه است که اغلب منجر به کلروز و یا زردی برگ‌ها می‌شود (Gupta, 1997).

مولیدن در غلظت‌های سمی نیز به دلیل ایجاد اختلالات متابولیک در گیاه و برهم‌زدن تعادل عناصر غذایی باعث کاهش میزان کلروفیل برگ می‌شود (Rabbi et al., 2011). سمیت مولیدن به گیاهان تحت شرایط مزرعه به ندرت رخ می‌دهد، ولی می‌تواند تحت شرایط شدید آزمایشگاهی القا شود (Johnson, 1966; Brune et al., 1994). طبق تحقیقاتی که روی تأثیر غلظت‌های مختلف مولیدن (۰/۰۱، ۱/۱ و ۱ میلی‌گرم در لیتر) بر خیار سبز انجام گرفته است مشخص شد که افزایش مولیدن باعث کاهش رشد می‌شود (بیگی و همکاران، ۱۳۹۰) که دلیل آن را می‌توان ناشی از اثرات منفی مولیدن بر شاخص کلروفیل برگ دانست (بصیرت، ۱۳۹۰).

یافته‌های برخی پژوهش‌ها نشان می‌دهد که فلزات سنگین می‌توانند در غلظت‌های پایین، سبب افزایش میزان کلروفیل *a* و *b* (John et al., 2008; Ghorbanli and Kiapour, 2012) و در غلظت‌های بالا، موجب کاهش این رنگدانه‌ها شوند (John et al., 2008). پیشنهاد شده است که در طی تنش مولیدن، آنتوسیانین‌ها، می‌توانند به عنوان کلاته‌کننده فلز عمل کرده و سبب کلاته‌شدن و کده‌بندی در واکوئل شوند (Hale et al., 2001).

در شرایط تنش، افزایش کربوهیدرات‌های محلول به حفظ متابولیسم پایه مطلوب کمک می‌کند (Verma and Dubey, 2001). نتایج مربوط به تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که

محلول غذایی تغییر یافته هوگلند، براساس فرمول ارائه شده توسط Parker و Norvell (۱۹۹۹)، تهیه شد که شامل ترکیبات ذیل است (اعداد داخل پرانتز غلظت ترکیب براساس میکرومولار است):

KNO_3 (1000), KH_2PO_4 (20), NaOH (900), $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (1500), NH_4NO_3 (500), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (500), EDTA (50), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (50), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.5), $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0.7), $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0.1), H_3BO_3 (1), CuSO_4 (0.1), NaCl (100).

تیمار مولیبدن شامل چهار سطح صفر، ۰/۱، ۰/۰۱ و ۱ میکرومولار مولیبدن بود که به محلول هوگلند اضافه گردید. هر تیمار دارای شش تکرار و هر تکرار شامل چهار گیاه بود. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. گلدان‌ها در اتاق کشت در دمای متناوب ۱۸ برای شب و ۲۲ برای روز نگهداری و در طول هفته اسیدیته (pH) محلول غذایی توسط دستگاه pH متر Jenway مدل ۳۵۰۵ اندازه‌گیری و در حدود ۶±۰/۲ ثابت نگه داشته شد. محلول‌های غذایی نیز، دو بار در هفته تعویض شدند. گیاهان، پس از پنج هفته اعمال تیمار، برداشت شده و صفات موردنظر، مورد سنجش و ارزیابی قرار گرفتند.

اندازه‌گیری صفات رویشی: پس از قطع ریشه از محل یقه، ریشه و بخش هوایی به طور جداگانه، با استفاده از ترازوی دیجیتالی Sartorius مدل TE153S با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن و اندازه‌گیری شدند. اندام‌ها به صورت جدا در پاکت‌های کاغذی در آون در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند. سپس وزن خشک آن‌ها تعیین شد. در نهایت مقدار میانگین برای یک گیاه در هر گلدان محاسبه گردید.

برای اندازه‌گیری سطح برگ، از هر گلدان چند برگ ناحیه میانی انتخاب و جدا شد. سپس با قراردادن برگ‌ها بر روی کاغذ شطرنجی از آن‌ها کپی کاغذی تهیه و با محاسبه وزن و مساحت کپی‌های کاغذی، متوسط سطح برگ مربوطه برای هر تکرار و تیمار محاسبه شد (مهدویان و همکاران، ۱۳۸۵).

سنجش رنگی‌های فتوسنتزی: اندازه‌گیری مقدار رنگی‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل *a*، *b*، کلروفیل کل و

اگرچه تمام متابولیت‌های ثانویه گیاهی اساساً با هدایت فرایندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند، اما ساخت آن‌ها به طور آشکاری تحت تأثیر عوامل مختلف محیطی قرار می‌گیرد (نقدی‌بادی و همکاران، ۱۳۹۱). از مهم‌ترین عوامل محیطی که تأثیر بسیار عمده بر رشد گیاهان دارویی، کمیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه آن‌ها می‌گذارد، می‌توان به شرایط رشد، اقلیم، عناصر غذایی و فلزات سنگین اشاره نمود (Heywood, 2002; Figueiredo et al., 2008). مطالعات نشان می‌دهد در شرایط تنش فلزات سنگین برخی از متابولیت‌های ثانویه به میزان قابل توجهی در گیاه افزایش می‌یابد (Rai et al., 2004; Ali et al., 2006; Sinha and Saxena, 2006; Tirillini et al., 2006).

براساس یافته‌های پژوهشی پیشین که به برخی از آنها در بالا اشاره شده است، مولیبدن، به عنوان یک عنصر کم‌مصرف و نیز یک فلز سنگین، اثرات متعددی بر رشد و ویژگی‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گیاهان دارد. از طرفی دیگر، پاسخ گونه‌های گیاهی مختلف به دامنه غلظت در دسترس عناصر ضروری، می‌تواند متفاوت و منحصر به فرد باشد. بر این اساس، این پژوهش به منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف مولیبدن بر فرایندهای مورفوفیزیولوژیک گیاه بومادران، با ارائه این فرضیه که غلظت‌های بالاتر از حد معمول مولیبدن (مورد استفاده در محلول غذایی هوگلند)، منجر به افزایش شاخص‌های رشد و تولید ترکیب‌های فنلی در گیاه بومادران می‌شود، انجام گرفت. بدیهی است پیشنهاد و معرفی غلظت بهینه مولیبدن برای بهبود عملکرد و افزایش متابولیت‌های ثانویه این گیاه دارویی، حائز اهمیت است.

مواد و روش‌ها

کشت هیدروپونیک: بذر گیاه بومادران هزار برگ (*A. millefolium*)، از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه گردید. پس از ضدعفونی و شستشوی بذور با آب مقطر، درگلدان‌های حاوی شن شسته شده با اسید رقیق شده و عاری از مواد آلی، کشت گردید. گیاهچه‌ها در مرحله چهار برگی، به محیط کشت هیدروپونیک انتقال داده شدند.

کاروتنوئیدها با استفاده از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) انجام پذیرفت. ۰/۲ گرم از بخش هوایی تازه گیاه در هاون چینی با ۱۵ میلی لیتر استن ۸۰ درصد سائیده شد و پس از صاف کردن جذب آن ها با دستگاه اسپکتروفتومتر Philler Scientitic مدل SU-6100 در طول موج های ۶۴۳/۸، ۶۶۳/۲ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. از استن ۸۰ درصد به عنوان بلانک استفاده شد. غلظت رنگیزه ها با استفاده از رابطه های زیر محاسبه گردید. نتایج حاصل از اندازه گیری مقدار رنگیزه های فتوسنتزی برحسب میلی گرم بر گرم وزن تر براساس رابطه های زیر محاسبه و ارائه شد.

$$\text{Chla} = 12.25 A_{663.2} - 2.79 A_{646.8}$$

$$\text{Chlb} = 21.21 A_{646.8} - 5.1 A_{663.2}$$

$$\text{T Chl} = \text{Chla} + \text{Chlb}$$

$$\text{Car} = (1000 A_{470} - 1.8 \text{ Chl } a - 85.02 \text{ Chl } b) / 198$$

سنجش آنتوسیانین: جهت اندازه گیری مقدار آنتوسیانین-

های اندام هوایی، از روش Wagner (۱۹۷۹)، استفاده شد. ۰/۱ گرم از اندام هوایی گیاهان در هاون چینی با ۱۰ میلی لیتر متانول اسیدی (متانول خالص و اسید کلریدریک خالص به نسبت حجمی ۱:۹۹) کاملاً سائیده و عصاره در لوله های آزمایش سر پیچ دار ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس لوله ها، به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۴۰۰۰ در سانتریفیوژ Fater مدل FS616 قرار داده شدند و جذب محلول رویی، با دستگاه اسپکتروفتومتر Philler Scientitic مدل SU-6100 در طول موج ۵۵۰ نانومتر

اندازه گیری شد. محاسبه غلظت با استفاده از فرمول زیر و ضریب خاموشی $M = 33000 \text{ cm}^{-1}$ انجام و نتایج برحسب میلی گرم بر گرم وزن تر ارائه گردید.

$$A = \epsilon bc$$

$$A = \text{جذب}$$

$$b = \text{عرض کووت}$$

$$c = \text{غلظت محلول مورد نظر}$$

سنجش مقدار پروتئین کل: برای اندازه گیری مقدار پروتئین کل در نمونه های گیاهی از روش Bradford (۱۹۷۶) استفاده گردید. در این روش برای تعیین مقادیر پروتئین از

منحنی استاندارد حاصل از غلظت های معین پروتئین استفاده می گردد. برای استخراج عصاره پروتئینی ۰/۵ گرم از ماده خشک گیاهی وزن شد و ۴ میلی لیتر از بافر تریس اسید کلریدریک به آن اضافه شد. سپس نمونه ها روی شیکر مدل ۳۰۰۵ به مدت ۲۰ دقیقه ورتکس شد. سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دور ۵۰۰ توسط دستگاه سانتریفیوژ Fater مدل FS616، سانتریفیوژ شدند و فاز بالایی حاوی پروتئین کل جدا گردید. برای اندازه گیری پروتئین به روش برادفورد به ۰/۱ میلی لیتر عصاره پروتئینی از هر نمونه ۵ میلی لیتر محلول برادفورد اضافه شد و سپس به مدت ۲۰ دقیقه ورتکس گردیده و سپس جذب با دستگاه اسپکتروفتومتر Philler Scientitic مدل SU-6100 در طول موج ۵۹۵ نانومتر یادداشت شد.

سنجش کربوهیدرات: اندازه گیری کربوهیدرات ها با روش

فنل سولفوریک اسید (Chapin and Kennedy, 1987) انجام گرفت. ۰/۱ گرم از ماده خشک اندام گیاهی کاملاً پودر شده در ۱۰ میلی لیتر اتانول ۷۰ درصد ریخته شد و پس از یک هفته از بخش رویی محلول ۰/۵ میلی لیتر برداشته و با آب مقطر به ۲ میلی لیتر رسانده شد. سپس به آن ۱ میلی لیتر فنل ۵ درصد اضافه و بعد از آن که خوب به هم زده شد به آن ۵ میلی لیتر سولفوریک اسید غلیظ افزوده گردید، حدود نیم ساعت پس از خنک شدن کامل محلول، جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر Philler Scientitic مدل SU-6100 در طول موج ۴۸۵ نانومتر خوانده شد. برای اندازه گیری مقدار قند از منحنی استاندارد تهیه شده از گلوکز استفاده شد.

سنجش غلظت عنصر مولیبدن و مس: به منظور اندازه-

گیری غلظت عنصر مولیبدن و مس ریشه و بخش هوایی گیاه، از روش جذب اتمی استفاده شد (Zhong et al., 2016). برای این سنجش، ۰/۱ گرم از اندام گیاهی خشک شده هر گلدان با ۲ میلی لیتر اسید نیتریک ۶۰ درصد به مدت یک شبانه روز هضم گردید و سپس در حمام آبی به مدت دو ساعت در ۹۰ درجه سانتی گراد گذاشته شد. پس از سرد شدن به نمونه ها ۱ میلی لیتر آب اکسیژنه اضافه کرده و لوله ها را برای نیم ساعت در حمام آبی در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد گذاشته و پس از

ادامه، به تفکیک اثر سطوح مختلف این تیمار، بر رنگیزه‌های این گیاه پرداخته شده است (شکل ۱).

مطابق شکل (b و ۱-a)، همه سطوح تیمار مولیبدن، منجر به افزایش معنی‌دار محتوی کاروتنوئید (تا حدود ۱۲ درصد) و کلروفیل کل (تا حدود ۴۸ درصد)، نسبت به سطح شاهد گردیده است. بیشترین مقدار کاروتنوئید ($1/25 \text{ mg/g FW}$) و کلروفیل ($4/83 \text{ mg/g FW}$) برگ گیاه در سطح $0/1$ میکرومولار مولیبدن بدست آمد. از طرفی، فقط سطوح $0/01$ و $0/1$ میکرومولار مولیبدن، منجر به افزایش معنی‌دار آنتوسیانین بخش هوایی نسبت به سطح شاهد شدند (شکل ۱-c).

مولیبدن، نقش کلیدی در بیوسنتز کلروفیل دارد (Imran et al., 2019). اثر افزایشی مولیبدن بر رنگیزه‌های گیاهی می‌تواند ناشی از نقش این عنصر در ساختار آنزیم‌های گیاهی از جمله نیترات ردوکتاز باشد. مولیبدن با اثر بر احیاء نیترات و تشکیل پروتئین، بر تولید رنگیزه‌های گیاهی مؤثر است (Rabbi et al., 2011).

تأثیر فلزات سنگین در افزایش محتوای کاروتنوئیدها به عنوان بخشی از سیستم آنتی‌اکسیدانی، در گیاهان مختلفی مانند *Vicia faba* گزارش شده است (Azooz et al., 2011). کاروتنوئیدها رنگیزه‌های چربی‌دوست موجود در غشاهای کلروپلاستی هستند و عملکردهای متعددی در متابولیسم گیاه دارند. علاوه بر جذب نور به عنوان رنگیزه‌های کمکی، دستگاه فتوسنتزی را از تنش اکسیداتیو محافظت می‌کنند (El-Tayeb et al., 2006). ترکیب‌های فنلی، آنتوسیانین‌ها و کاروتنوئیدها عمدتاً گزینه‌ای اصلی جهت مقابله با رادیکال‌های آزاد در تنش‌های مرتبط با فلزات سنگین هستند (Posmyk et al., 2009).

آنتوسیانین‌ها نیز، از مهم‌ترین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در گیاهان هستند. این ترکیبات نه تنها رادیکال‌های آزاد را از بین می‌برند، بلکه از تولید بیشتر آن‌ها در گیاه جلوگیری می‌کنند. آنتوسیانین‌ها به احتمال زیاد باعث تسهیل ورود فلزات سنگین به واکوئل سلول‌ها و در نتیجه جمع‌آوری آن‌ها از سایر بخش‌ها می‌شوند (Tripathi et al., 2006). اکثر مطالعات اخیر

سردشدن نمونه‌ها با آب مقطر به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد و مقادیر مولیبدن و مس ریشه و بخش هوایی گیاه با استفاده از دستگاه طیف‌سنج جذب اتمی Varian مدل AA240FS اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری ترکیبات فنلی: ابتدا نمونه‌های خشک‌شده به طور کامل خرد شدند. سپس برای استخراج به $0/5$ گرم از پودر گیاه خشک‌شده، ۵۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (حاوی ۱ درصد کلریدریک اسید) اضافه نموده و مخلوط به مدت ۴۸ ساعت در شرایط بدون نور هم زده شد. عصاره استخراج‌شده برای انجام مراحل بعدی آزمایش فوراً مورد استفاده قرار گرفت و یا حداکثر به مدت چهار روز در دمای -80 درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

جهت اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل از معرف Folin-Ciocalteu استفاده شد (McDonald et al., 2001). $0/5$ میلی‌لیتر عصاره استخراج‌شده گیاهی و استانداردهای گالیک اسید، به ۵ میلی‌لیتر معرف فولین اضافه و سپس به مخلوط حاصل ۴ میلی‌لیتر سدیم کربنات ۱ مولار اضافه شد. پس از ۱۵ دقیقه نگهداری در دمای محیط، جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر Phyller Scientific مدل SU-6100 خوانده شد. با استفاده از غلظت‌های مختلف گالیک اسید منحنی استاندارد رسم گردید و معادله خط ($y = 0.00439x + 0.07603$, $R^2: 0.9906$) بدست آمد. نتایج به صورت میلی‌گرم هم ارز گالیک اسید بر گرم وزن خشک گزارش شد. آنالیز و تجزیه و تحلیل داده‌ها و رسم نمودارها، با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS و Excel انجام شد و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام گرفت.

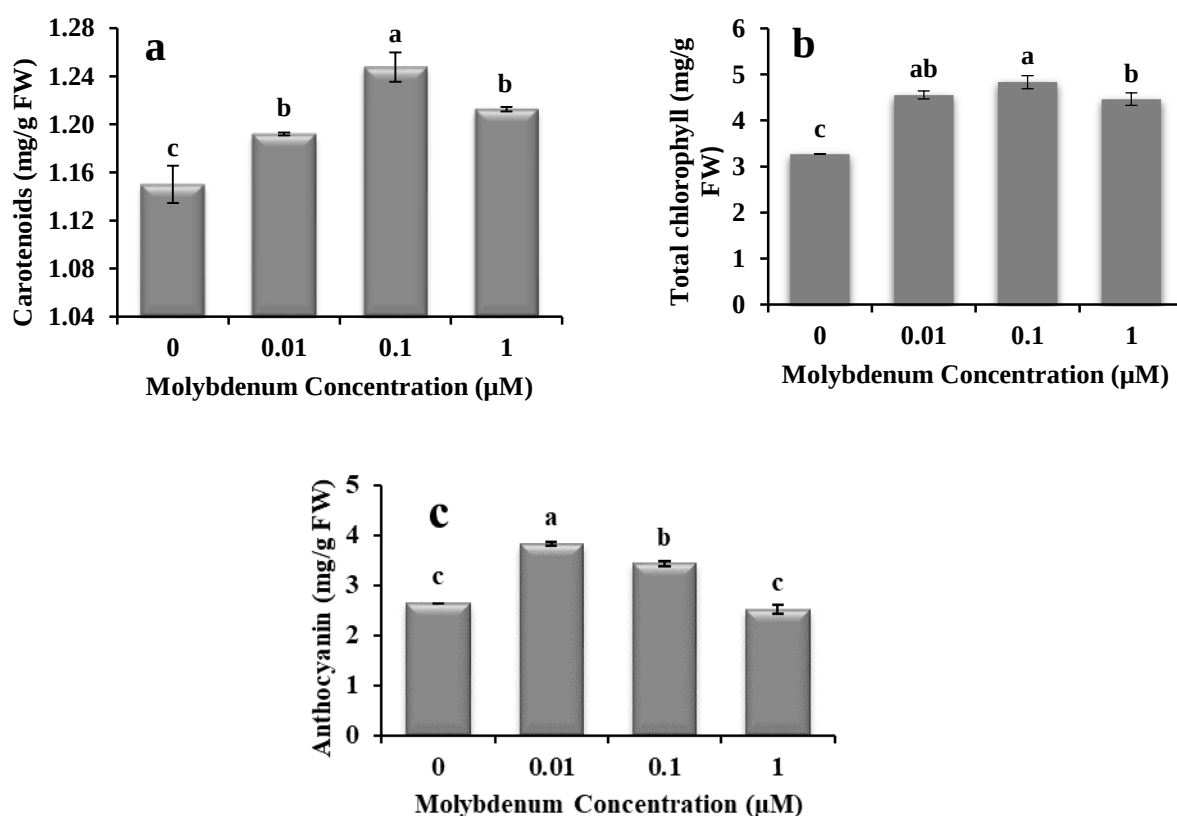
نتایج و بحث

بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی: همان‌طوری که از بررسی نتایج جدول ۱ مشاهده می‌شود، اثر تیمار مولیبدن، بر شاخص‌های کلروفیل کل، کاروتنوئید و آنتوسیانین گیاه بومادران در سطح آماری ۱ درصد معنی‌دار است. بنابراین در

جدول ۱- آنالیز واریانس اثر چهار سطح مولیبدن (صفر، ۰/۰۱، ۰/۱ و ۱ میکرومولار) برای رنگیته‌های کلروفیل کل، کاروتنوئید و آنتوسیانین گیاه بومادران (*A. millefolium*).

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		کلروفیل کل	کاروتنوئید	آنتوسیانین
مولیبدن	۳	۱/۴۳**	۰/۰۵**	۱/۱۷**
خطا	۸	۰/۳۴	۰/۰۰۱	۰/۰۰۹

**, معنی‌داری در سطح ۱ درصد را نشان می‌دهند.



شکل ۱- مقایسه اثر غلظت‌های مختلف مولیبدن بر میانگین کاروتنوئید (a)، کلروفیل کل (b) و آنتوسیانین (c) برگ گیاه بومادران (*A. millefolium*). حروف غیرمشترک نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها، براساس آزمون دانکن است ($P \leq 0.05$).

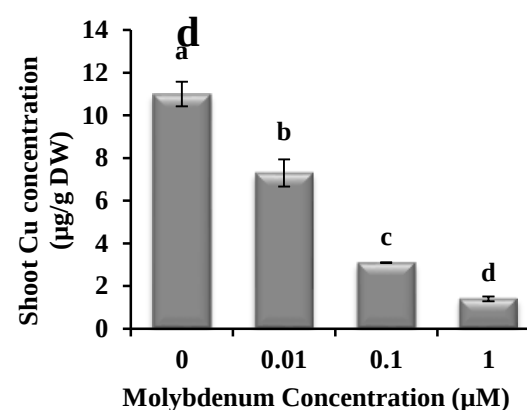
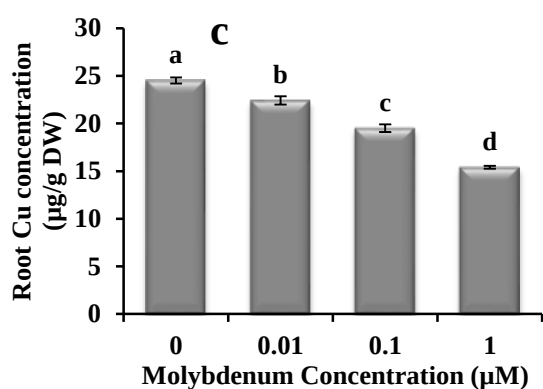
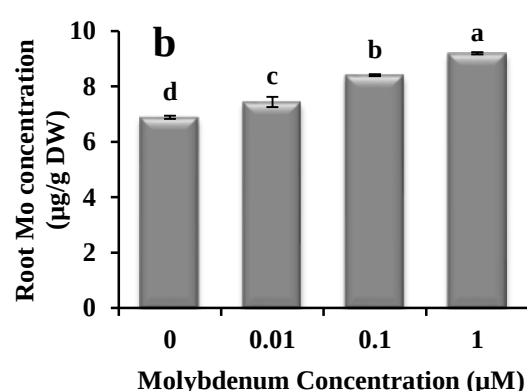
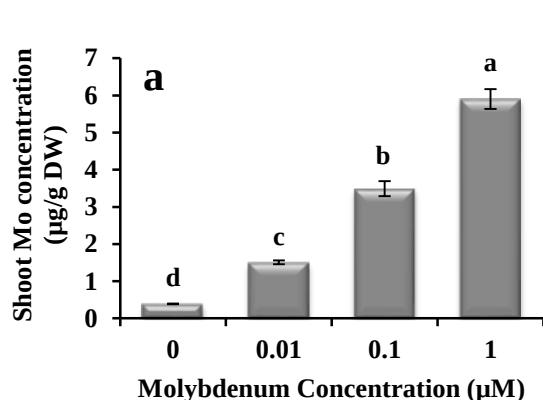
با توجه به کاهش رنگیته‌های گیاهی در حضور سطح ۱ میکرومولار تیمار مولیبدن نسبت به سطح ۰/۱ در این پژوهش، به نظر می‌رسد اعمال تیمار سطوح بالاتر مولیبدن منجر به

نشان داده است که آنتوسیانین‌ها در پاسخ به انواع تنش، از جمله تنش فلزات سنگین، تولید می‌شوند. آنتوسیانین‌ها در تجمع فلزی نقش دارند و این ترکیبات کلاته‌کننده مولیبدن در درون واکوئل هستند (Hale et al., 2001).

جدول ۲- آنالیز واریانس اثر چهار سطح مولیبدن (صفر، ۰/۰۱، ۰/۱ و ۱ میکرومولار) برای مقدار مولیبدن، مس، کربوهیدرات، پروتئین کل و فنل گیاه بومادران (*A. millefolium*).

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		مولیبدن ریشه	مولیبدن بخش هوایی	مس ریشه	مس بخش هوایی	کربوهیدرات بخش هوایی
تیمار	۳	۳/۱۴**	۱۷/۵۳**	۴۶/۷۷**	۵۵/۹۰۰**	۹۳۳**
خطا	۸	۰/۳۰	۰/۸۶	۳۵۶	۵۶۳	۰/۰۱

**، معنی‌داری در سطح ۱ درصد را نشان می‌دهند.

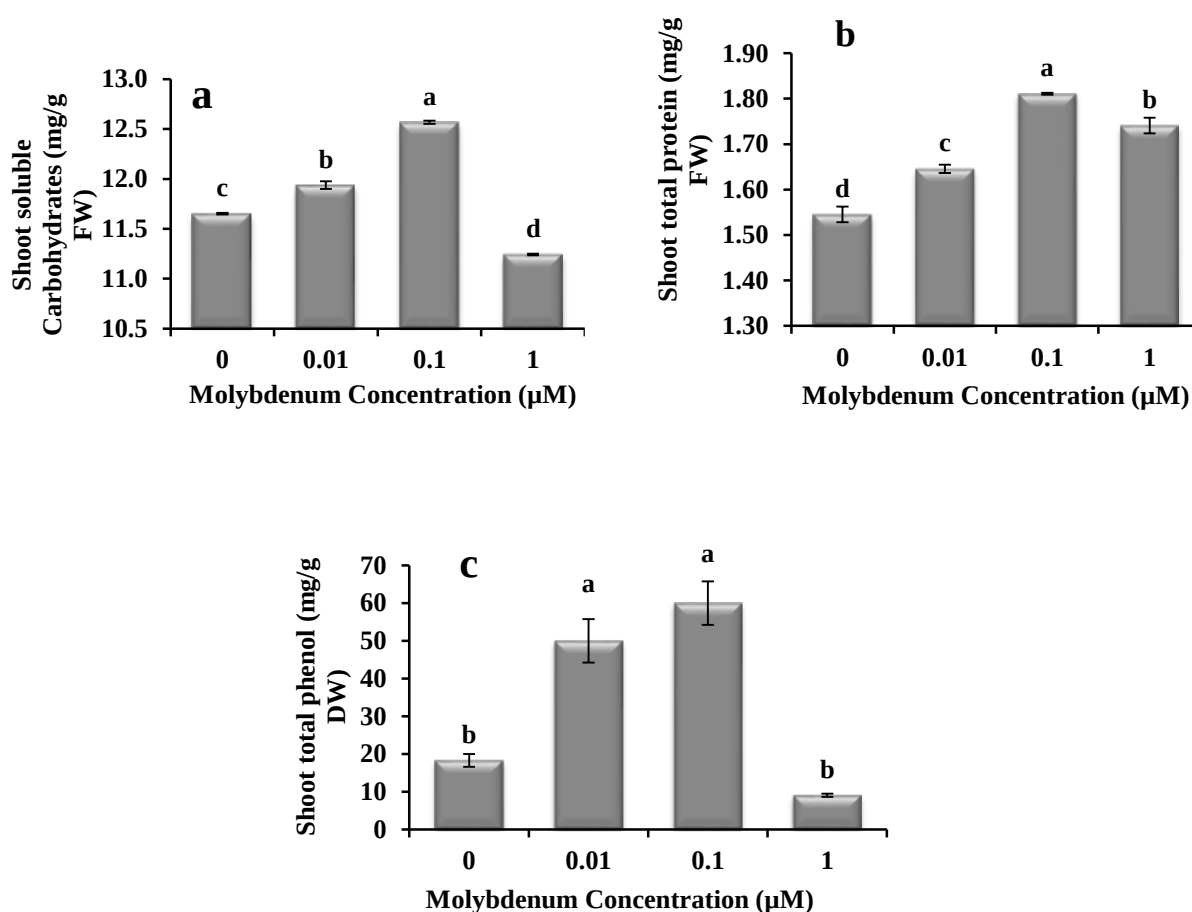


شکل ۲- مقایسه اثر غلظت‌های مختلف مولیبدن بر میانگین غلظت مولیبدن بخش هوایی (a)، مولیبدن ریشه (b)، مس ریشه (c) و مس بخش هوایی (d) گیاه بومادران (*A. millefolium*)، حروف غیرمشترک نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها، براساس آزمون دانکن است ($P \leq 0.05$).

ریشه و بخش هوایی، کربوهیدرات، پروتئین کل و فنل بخش هوایی گیاه بومادران در سطح آماری ۱ درصد معنی‌دار است. بنابراین در ادامه، به تفکیک اثر سطوح مختلف این تیمار، بر

کاهش شدیدتر رنگیزه‌ها در این گیاه گردد که نشان‌دهنده اثرات منفی سطوح بالای مولیبدن بر رنگیزه‌ها است.

همان‌طوری که از بررسی جدول ۲ مشاهده می‌شود، اثر تیمار مولیبدن، بر شاخص‌های مقدار عناصر مولیبدن و مس



شکل ۳- مقایسه اثر غلظت‌های مختلف مولیبدن بر میانگین کربوهیدرات (a)، غلظت پروتئین (b) و غلظت فنل (c) بخش هوایی گیاه بومادران (*A. millefolium*)، حروف غیرمشترک نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها، براساس آزمون دانکن است ($P \leq 0.05$).

رنگیزه‌های گیاهی بومادران نشان داده شده است (شکل‌های ۲ و ۳).

بر طبق شکل فوق، با افزایش سطح مولیبدن در محلول کشت، غلظت مولیبدن بخش هوایی و ریشه این گیاه نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۲-a و b) در حالیکه غلظت مس آنها کاهش یافت (شکل ۲-c و d) بالاترین غلظت مولیبدن ریشه (۹/۱۹ μg/g DW) و بخش هوایی (۵/۹ μg/g DW) در سطح ۱ میکرومولار مولیبدن مشاهده شد. بیشترین غلظت مس ریشه (۲۴/۵۲ μg/g DW) در شاهد و کم‌ترین آن (۱۵/۴ μg/g DW) در سطح ۱ میکرومولار حاصل گردید (شکل ۲-c). همچنین بیشترین غلظت مس بخش هوایی (۱۱ μg/g DW) در سطح شاهد، و کم‌ترین آن

در سطح ۱ میکرومولار مولیبدن مشاهده شد. بیشترین غلظت مس ریشه (۲۴/۵۲ μg/g DW) در شاهد و کم‌ترین آن (۱۵/۴ μg/g DW) در سطح ۱ میکرومولار حاصل گردید (شکل ۲-c). همچنین بیشترین غلظت مس بخش هوایی (۱۱ μg/g DW) در سطح شاهد، و کم‌ترین آن

در سطح ۱ میکرومولار مولیبدن مشاهده شد. بیشترین غلظت مس ریشه (۲۴/۵۲ μg/g DW) در شاهد و کم‌ترین آن

در سطح ۱ میکرومولار مولیبدن مشاهده شد. بیشترین غلظت مس ریشه (۲۴/۵۲ μg/g DW) در شاهد و کم‌ترین آن

در سطح ۱ میکرومولار مولیبدن مشاهده شد. بیشترین غلظت مس ریشه (۲۴/۵۲ μg/g DW) در شاهد و کم‌ترین آن

در سطح ۱ میکرومولار مولیبدن مشاهده شد. بیشترین غلظت مس ریشه (۲۴/۵۲ μg/g DW) در شاهد و کم‌ترین آن

مختلف مولیبدن (۰/۱، ۰/۴، ۰/۸ و ۱/۶ میکرومولار) بر روی *Hypericum perforatum* L. انجام گرفت نیز نتایج مشابهی حاصل شد (قربانلی و همکاران، ۱۳۹۲).

با بررسی (شکل ۳-a) می‌توان دریافت که سطوح ۰/۱ و ۰/۸ میکرومولار مولیبدن با اختلاف معنی‌دار نسبت به یکدیگر، منجر به افزایش معنی‌دار محتوی کربوهیدرات محلول بخش هوایی، نسبت به شاهد گردیده است. در سطح ۱ میکرومولار مولیبدن، کاهش معنی‌دار شاخص مذکور نسبت به شاهد مشاهده گردید. بیشترین میزان کربوهیدرات محلول گیاه در غلظت ۰/۱ میکرومولار مولیبدن حاصل شده است. نتایج مربوط به تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که میزان کربوهیدرات محلول و نامحلول در گیاهان رشد یافته تحت تنش فلزات سنگین با توجه به غلظت بکار رفته فلزات در آزمایش، می‌تواند افزایش یا کاهش یابد (Gubrelay et al., 2008; John et al., 2013). از آنجا که مولیبدن از عناصر سنگین محسوب می‌شود و بسیاری از فلزات سنگین فعالیت پروتئین‌های کانالی آب را در گیاهان تغییر می‌دهند، روزه‌های برگ را می‌بندند و در نتیجه جریان آب در گیاه را متوقف می‌کند. در شرایط تنش، افزایش کربوهیدرات‌های محلول به حفظ متابولیسم پایه مطلوب کمک می‌کند (Verma and Dubey, 2001).

گزارش‌هایی از کاهش قندهای محلول در غلظت‌های بالای فلزات سنگین نیز در دست است. نظیر آنچه در این پژوهش، در سطح ۱ میکرومولار مولیبدن بدست آمد. کاهش سطح کربوهیدرات‌ها در غلظت‌های بالای فلز سنگینی چون مولیبدن، می‌تواند ناشی از مهار فتوسنتز و در نتیجه کاهش سنتز این ترکیبات و یا انحراف متابولیسم به سوی فرایندهای سنتزی دیگر باشد (Pandey and Tripathi, 2011).

افزایش همه سطوح مولیبدن به ویژه سطح ۰/۱ میکرومولار در محلول کشت، باعث افزایش معنی‌دار غلظت پروتئین بخش هوایی نسبت به شاهد گردیده است (شکل ۳-b). افزایش غلظت پروتئین در سطوح بالاتر مولیبدن را می‌توان به عملکرد آنزیم نیتрат ردوکتاز که تحت تأثیر عنصر مولیبدن است،

نسبت داد. متابولیسم نیترات در گیاهان تحت تأثیر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز بوده و فعالیت این آنزیم نیز تحت تأثیر مواد معدنی و به ویژه مولیبدن است. مولیبدن در تبدیل نیترات به اسیدهای آمینه و پروتئین نقش دارد (Anbuselvi et al., 2011).

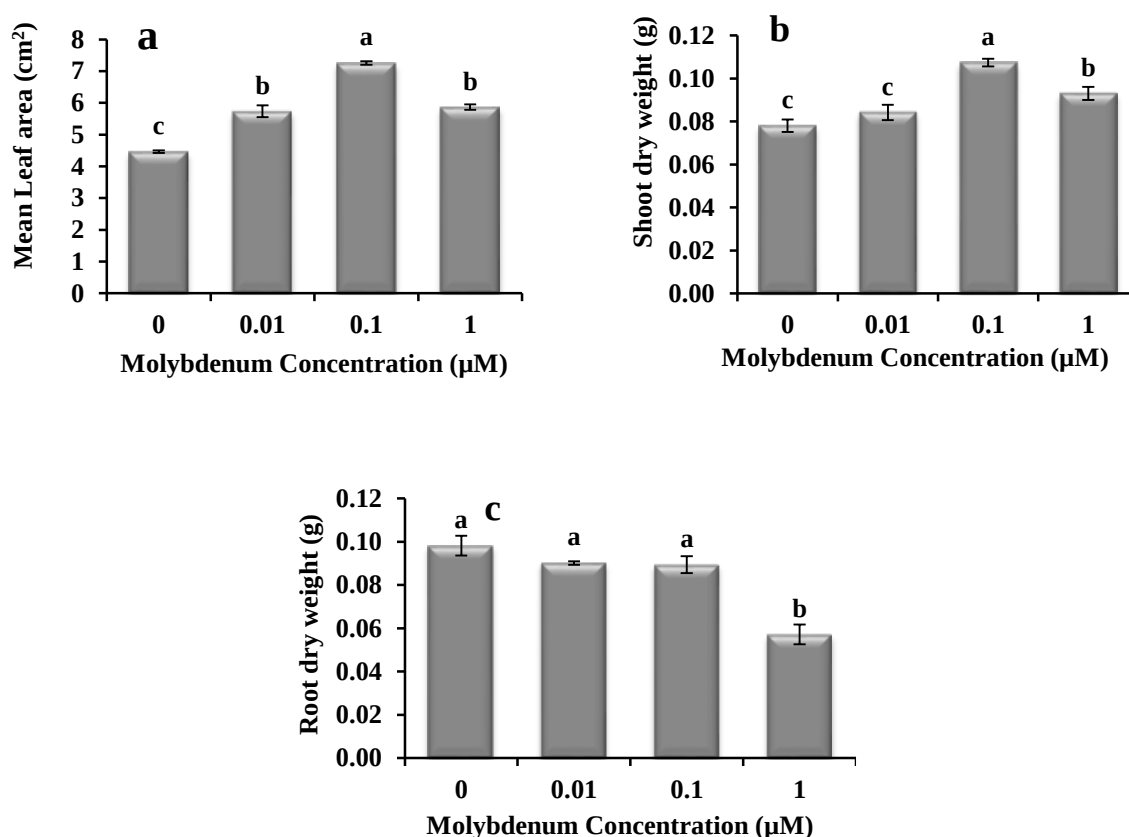
طبق نتایج بدست آمده در این پژوهش، سطح ۰/۱ و ۰/۸ میکرومولار مولیبدن، غلظت فنل گیاه بومادران را افزایش داد در حالیکه سطح ۱ میکرومولار، اثر معنی‌داری نسبت به شاهد نداشت (شکل ۲-c). مطابق با پژوهش‌های پیشین، بسته به نوع فلز و غلظت فلز در محیط رشد گیاه، افزایش (Izbianska et al., 2007; Najafi and Jamei, 2014; al., 2014) و یا کاهش (Hawrylak et al., 2007) سنتز متابولیت‌های ثانویه مختلف در گیاهان مشاهده می‌شود. تیمار گیاه *Lupinus luteus* L. با فلز سنگین منجر به افزایش محتوای فلاونوئید شد. تجمع فلاونوئیدها می‌تواند یک رویداد مؤثر در طیف پاسخ‌های دفاعی گیاه به تنش فلز سنگین باشد و نقش حفاظتی فلاونوئیدها در برابر فلزات سنگین ممکن است با توانایی آن‌ها در از بین بردن گونه‌های اکسیژن فعال که تحت تنش فلز سنگین، بیش از حد تولید می‌شود، همراه باشد (Izbianska et al., 2014; Najafi and Jamei, 2014). کاهش غلظت فنل در سطح ۱ میکرومولار نسبت به سطح پایین‌تر را می‌توان به دلیل سمی بودن غلظت مولیبدن در این سطح، برای رشد و سوخت‌وساز و در نتیجه ساخت متابولیت‌های ثانویه از جمله فنل دانست. سطوح ۰/۱ و ۰/۸ میکرومولار مولیبدن منجر به افزایش چشمگیر ترکیبات فنلی گیاه گردیده است. بنابراین به نظر می‌رسد غلظت بهینه برای دستیابی به بالاترین تولید ترکیبات فنلی در این گیاه، تیمار ۰/۱ میکرومولار مولیبدن است.

بررسی شاخص‌های رویشی: همان‌طوری که از بررسی جدول ۳ مشاهده می‌شود، اثر تیمار مولیبدن، بر شاخص‌های سطح برگ، وزن خشک بخش هوایی و ریشه گیاه بومادران در سطح آماری ۱ درصد معنی‌دار است. بنابراین در ادامه، به تفکیک اثر سطوح مختلف این تیمار، بر شاخص‌های فوق نشان داده شده است (شکل ۴).

جدول ۳- آنالیز واریانس اثر چهار سطح مولیبدن (صفر، ۰/۰۱، ۰/۱ و ۱ میکرومولار) برای سطح برگ، وزن خشک بخش هوایی و ریشه گیاه بومادران (*Achillea millefolium*).

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		وزن خشک	وزن خشک بخش هوایی	وزن خشک ریشه
مولیبدن	۳	۶/۵۰**	۰/۰۱**	۰/۰۲**
خطا	۱۶	۰/۵۹	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۱

**, معنی داری در سطح ۱ درصد را نشان می دهند.



شکل ۴- مقایسه اثر غلظت های مختلف مولیبدن بر میانگین سطح برگ (a)، وزن خشک بخش هوایی (b) و وزن خشک ریشه (c) گیاه بومادران (*A. millefolium*)، حروف غیرمشترک نشان دهنده تفاوت معنی دار میانگین ها، براساس آزمون دانکن است ($P \leq 0.05$).

محققین (میری و همکاران، ۱۳۹۰؛ معینیان و همکاران، ۱۳۸۹) در مورد افزایش سطح بخش هوایی همخوانی دارد. سطوح ۰/۱ و ۱ میکرومولار مولیبدن، با تفاوت آماری معنی دار نسبت به یکدیگر، موجب افزایش معنی دار وزن خشک بخش هوایی، نسبت به سطح ۰/۰۱ میکرومولار و شاهد

سطح ۰/۱ میکرومولار مولیبدن، منجر به افزایش معنی دار سطح برگ نسبت به سایر سطوح تیمار شده است. از طرفی سطح ۰/۰۱ و ۱ میکرومولار مولیبدن، بدون تفاوت آماری معنی دار نسبت به یکدیگر، موجب افزایش معنی دار سطح برگ نسبت به شاهد گردیده است (شکل ۴-ا) که با گزارشات سایر

میکرومولار، در توافق با نتایج دیگر پژوهش‌ها از جمله موارد ذیل است: سمیت مولیبدن، باعث کاهش شدید در عملکرد شاخص‌های رشد می‌شود (Rabbi *et al.*, 2011; Anbuselvi *et al.*, 2011). پژوهش‌های متعدد نشان داده است که وقتی گیاه در معرض غلظت بالای فلز سنگین قرار می‌گیرد، وزن تر و خشک ریشه و بخش هوایی گیاه کاهش می‌یابد (Nagajyoti *et al.*, 2010). با اعمال سطوح (صفر، ۳۰، ۹۰ و ۲۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) مولیبدن بر روی گیاه ذرت با افزایش غلظت مولیبدن کاهش وزن خشک ریشه و برگ مشاهده شد (Bodi *et al.*, 2015).

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر با عنوان بررسی اثرات مولیبدن بر شاخص‌های رشد گیاه بومادران در محیط‌کشت هیدروپونیک، نشان می‌دهد که غلظت‌های مختلف مولیبدن بسیاری از جنبه‌های مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه بومادران را تحت تأثیر قرار می‌دهد. با توجه به مقادیر بدست آمده از همه شاخص‌های گیاه بومادران، به نظر می‌رسد بهترین سطح مولیبدن برای رشد گیاه و تولید ترکیبات فنلی، سطح ۰/۱ میکرومولار مولیبدن است. اثر سطح ۱ میکرومولار مولیبدن در قیاس با سطح ۰/۱ میکرومولار این تیمار، بر همه شاخص‌های مورد نظر، ولی در قیاس با سطح شاهد، فقط بر شاخص‌های غلظت مس گیاه، کربوهیدرات محلول و وزن خشک ریشه، کاهشی بود.

گردید. سطح ۰/۱ میکرومولار این تیمار، اثر معنی‌داری بر وزن خشک بخش هوایی، نسبت به شاهد نداشت (شکل ۴-b). بین اثر سطوح ۰/۱ و ۰/۱ میکرومولار مولیبدن و شاهد بر وزن خشک ریشه، تفاوت آماری معنی‌داری وجود نداشت. سطح ۱ میکرومولار مولیبدن، منجر به کاهش معنی‌دار شاخص مذکور نسبت به سطح شاهد گردیده است (شکل ۴-c).

افزایش شاخص‌های رشد گیاه بومادران تا سطح ۰/۱ میکرومولار این تیمار می‌تواند ناشی از اثر افزایشی تیمار بر شاخص‌های رنگیزه‌های گیاهی، افزایش کربوهیدرات و پروتئین باشد که به تبع آن منجر به بهبود فتوسنتز و افزایش مقاومت در مقابل این غلظت از تیمار گردید. مشابه یافته‌های دیگر محققین که فلزات سنگین در غلظت‌های پایین سبب افزایش میزان کلروفیل *a* و *b* می‌شود (John *et al.*, 2008; Ghorbanli and Kiapour, 2012) و به علت افزایش مقدار کلروفیل بخش هوایی و در پی آن افزایش فتوسنتز گیاه (Rabbi *et al.*, 2011) می‌توان افزایش سطح بخش هوایی را توجیه کرد. از طرفی کاهش سطح بخش هوایی در سطح ۱ میکرومولار مولیبدن، نسبت به سطح ۰/۱ میکرومولار را می‌توان ناشی از ممانعت فلزات سنگین از جمله مولیبدن، از تقسیم سلول و رشد آن دانست. کاهش رشد ممکن است به دلیل کاهش میزان فتوسنتز باشد، زیرا نشان داده شده است که قرارگیری گیاهان در معرض غلظت‌های بالای فلزات سنگین از جمله مولیبدن موجب کاهش میزان فتوسنتز می‌شود. آسیب به فتوسنتز اساساً در اثر کاهش کلروفیل و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها رخ می‌دهد (Chaoui and Ferjani, 2005; Vitoria *et al.*, 2005). کاهش وزن خشک ریشه این گیاه در غلظت ۱

منابع

امیدیگی، رضا (۱۳۸۴). تولید و فراوری گیاهان دارویی. جلد ۲، انتشارات آستان قدس رضوی، مشهد.
 بصیرت، مجید (۱۳۹۰). آشنایی با ناهنجاری‌های تغذیه‌ای سبزیجات گلخانه‌ای (خیار، گوجه‌فرنگی و فلفل). انتشارات تحقیقات خاک و آب، تهران.

- بیگی، سمیه، گلچین، احمد، و شفیعی، سعید (۱۳۹۰). تأثیر سطوح مختلف نیتروژن و مولیبدن محلول غذایی بر صفات کمی و کیفی و غلظت نیترات در خیار سبز در محیط آبکشت. *روابط خاک و گیاه (علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای)*، ۲(۶): ۳۷-۴۸. <https://sid.ir/paper/226396/fa>
- قربانلی، مه‌لکا، علی‌بابایی، اعظم، و پیوندی، مریم (۱۳۹۲). اثر غلظت‌های مختلف مولیبدن بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گل راعی (*Hypricum perforatum* L.). *تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران* ۲۹(۳): ۵۹۵-۶۰۴. <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2013.4043>
- مظفریان، ولی‌اله (۱۳۸۷). فلور ایران، شماره ۵۹: تیره کاسنی (Compositae): قبیله‌های Anthemideae و Echinopeae. انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران.
- معینیان، محمود رضا، زرگری، کاوه، و حسن‌پور، جواد (۱۳۸۹). بررسی اثر محلول‌پاشی بور (B) بر خصوصیات کمی و کیفی دانه گندم تحت شرایط تنش خشکی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین، ایران.
- مهدویان، کبری، قربانلی، مه‌لکا، منوچهری کلانتری، خسرو، و محمدی، غلام عباس (۱۳۸۵). تأثیر باند‌های مختلف اشعه ماوراءبنفش بر عوامل فیزیولوژیکی و ریخت‌شناسی فلفل (*Capsicum annum* L.). *مجله زیست‌شناسی ایران*، ۱۹(۱): ۴۳-۵۳. <https://sid.ir/paper/21132/fa>
- میری، رضا، قوشچی، فرشاد، و توحیدی مقدم، حمیدرضا (۱۳۹۰). اثر تلقیح بذر با کودهای زیستی میکوریزا و ازتوباکتر بر خصوصیات کمی و کیفی گندم تحت رژیم‌های مختلف آبیاری. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین، ایران.
- والنت، ژان (۱۳۸۱). گیاه درمانی: درمان بیماری‌ها توسط گیاهان. (ترجمه امامی، احمد، شمس اردکانی، محمدرضا و نکویی، نسیم) انتشارات راه کمال. تهران.
- نقدی‌بادی، حسن‌علی، زینلی مبارکه، زهرا، امیدی، حشمت، و رضازاده شمس‌علی (۱۳۹۱). تغییرات مورفولوژیک، زراعی و فیتوشیمیایی گاوزبان (*Borago officinalis* L.) تحت تأثیر کودهای زیستی و شیمیایی. *فصلنامه گیاهان دارویی*، ۱۱(۴۲): ۱۴۵-۱۵۶. <http://jmp.ir/article-1-448-fa.html>
- Ali, M. B., Singh, N., Shohael, A. M., & Hahn, E. J. (2006). Phenolics metabolism and lignin synthesis in root suspension cultures of *Panax ginseng* in response to copper stress. *Plant science*, 171(1), 147-154. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2006.03.005>.
- Alloway, B. J. (2008). Zinc in Soils and Crop Nutrition. 2th Ed. IZA and IFA Brussels, Belgium and Paris, France.
- Anbuselvi, S., Sathish Kumar, M., Vikram, M., & Debi Prasad, P. (2011). Effect of molybdenum on nitrogen fixing enzymes of blackgram using *Anabaena Azollae* Sp treated coir waste manure under drought stress. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(4), 252-256.
- Azooz, M. M., Youssef, M. M., & Al-Omair, M. A. (2011). Comparative evaluation of Zinc and Lead and their synergistic effects. *Environmental and Experimental Botany*, 61, 67-174. <https://scialert.net/abstract/?doi=ajpp.2011.269.282>.
- Bodi, E., Veres, S. Z., Garousi, F., Varallyay, S. Z., & Kovacs, B. (2015). Effects of molybdenum treatments on maize and sunflower seedlings. *International Journal of Biological, biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*, 9(5), 450-453. <https://doi.org/10.5281/zenodo.1100547>.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3).
- Brune, A., Urbach, W., & Dietz, K. J. (1994). Compartmentation and transport of zinc in barely primary leaves as basic mechanisms involved in zinc tolerance. *Plants Cell and Environment*, 17, 153-162. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1994.tb00278.x>.
- Butnariu, M., Robert, A., & Tonea, E. (2008). Quantity determination of molybdenum from *Pisum sativum* plants and the influence of heavy metal to chemical elements accumulation. *Lucrari Stiinnifice Zootehnie Si Biotehnologii*, 41, 735-743.

- Cairns, A. L. P., & Kritzing, J. H. (1992). The effect of molybdenum on seed dormancy in wheat. *Plant and Soil* 145, 295-297. <https://doi.org/10.1007/BF00010358>.
- Chaoui, A., & Ferjani, E. E. (2005). Effects of cadmium and copper on antioxidant capacities lignification and auxin degradation in leaves of pea (*Pisum sativum* L.) seedlings. *Plant Biology and Pathology*, 328, 23-31. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2004.10.001>.
- Chapin, M. F., & Kennedy, J. F. (1987). *Carbohydrat Analysis: A Practical Approach*. Oxford University: IRL Press, Oxford.
- Ebrahim, A. M., Eltayeb, M. H., Khalid, H., Mohamed, H., Abdalla, W., Grill, P., & Michalke, B. (2012). Study on selected trace elements and heavy metals in some popular medicinal plants from Sudan. *Journal of Natural Medicines*, 66(4), 671-679. DOR: 10.1007/s11418-012-0630-6.
- El-Tayeb, M. A., El-Enany, A. E., & Ahmed, N. L. (2006). Salicylic acid-induced adaptive response to copper stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant Growth Regulation*, 50, 191-199. <https://doi.org/10.1007/s10725-006-9118-2>.
- Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Pedro, L. G., & Scheffer, J. C. (2008). Factors affecting secondary metabolite production in plants: Volatile components and essential oils. *Flavor and Fragrance Journal*, 23(4), 213-226. DOR: 10.1002/ffj.1875.
- Ghorbanli, M., & Kiapour, A. (2012). Copper-induced changes on pigments and activity of non-enzymatic and enzymatic systems in (*Portulaca oleracea* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 28(2), 235-247. <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2012.3036>.
- Gubrelay, U., Agnihotri, R. K., Singh, G., Kaur, R., & Sharma, R. (2013). Effect of heavy metal Cd on some physiological and biochemical parameters of barley (*Hordeum vulgare* L.). *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 5(22), 2743-2751.
- Gupta, U. C. (1997). *Molybdenum in Agriculture*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Hale, K. L., McGrath, S. P., Lombi, E., Stack, S. M., Terry, N., Pickering, I. J., George, G. N., & Pilon-Smits, E. A. H. (2001). Molybdenum sequestration in Brassica species. A role for anthocyanins? *Plant Physiology*, 126, 1391-1402. DOR: 10.1104/pp.126.4.1391.
- Hawrylak, B., Matraszek, R., & Szymanska, M. (2007). Response of lettuce (*Lactuca sativa* L.) to selenium in nutrient solution contaminated with nickel. *Vegetable Crops Research Bulletin*, 67, 63-70. DOR: 10.2478/v10032-007-0031-7.
- Heywood, V. H. (2002). The conservation of genetic and chemical diversity in medicinal and aromatic plants. *Biodiversity*, 13-22. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9242-0_2.
- Hornok, L. (1997). Effect of environmental factors on the production of some essential oil plants. *Horticultural Abstracts*, 3075, 23-27.
- Imran, M., Hu, C., Hussain, S., Rana, M. S., Riaz, M., Afzal, J., Aziz, O., Elyamine, A. M., Farag Ismael, M. A., & Sun, X. (2019). Molybdenum-induced effects on photosynthetic efficacy of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) under different nitrogen sources are associated with nitrogen assimilation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 141, 154-163. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.05.024>.
- Izbianska, K., Arasimowicz-Jelonek, M., & Deckert, J. (2014). Phenylpropanoid pathway metabolites promote tolerance response of lupine roots to lead stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.08.014>.
- John, R., Ahmad, P., Gadgil, K., & Sharma, S. (2008). Effect of cadmium and lead on growth, biochemical parameters and uptake in *Lemna polyrrhiza* L. *Plant Soil and Environment*, 54(6), 262-270. DOR: 10.17221/2787-PSE.
- Johnson, C. M. (1966). Molybdenum. In: *Diagnostic Criteria for Plants and Soils* (ed. Chapman, H. D.) Pp. 588-619. University of California, Division of Agricultural Sciences, California.
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350-382. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1).
- Martin, S., Saco, D., & Alvarez, M. (1995). Nitrogen metabolism in *Nicotiana rustica* L. grown with molybdenum: 11. Flowering stage. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 26, 1733-1747. <https://doi.org/10.1080/00103629509369405>.
- McDonald, S., Prenzler, P. D., Autolovich, M., & Robards, K. (2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*, 73, 73-84. DOR: 10.1016/S0308-8146(00)00288-0.
- Mendel, R. R., & Leimkuhler, S. (2015). The biosynthesis of the molybdenum cofactors. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 20 (2), 337-347. DOR: 10.1007/s00775-014-1173-y.
- Modi, A. T., & Cairns, A. (1994). Molybdenum deficiency in wheat results in lower dormancy levels via reduced ABA. *Seed Science Research*, 4, 329-333. <https://doi.org/10.1017/S0960258500002373>.
- Nagajyoti, P. C., Lee, K. D., & sreekanth, T. V. M. (2010). Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 8, 199-216. DOR: 10.1007/s10311-010-0297-8.

- Najafi, S., & Jamei, R. (2014). Effect of silver nanoparticles and $Pb(NO_3)_2$ on the yield and chemical composition of mung bean (*Vigna radiata*). *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 10 (1), 316-325.
- Ouzounidou, G. (1995). Effect of copper on germination and seedling growth of *Minuaria*, *Silene*, *Alyssum* and *Thlaspi*. *Biologica Plantarum*, 37, 411-416.
- Pandey, P., & Tripathi, A. K. (2011). Effect of heavy metals on morphological and biochemical characteristics of *Albizia procera* (Roxb) Benth. Seedlings. *International Journal of Environmental Sciences*, 5, 1009-1018.
- Pandey, M., Shrestha, J., Subedi, S., & Shah, K. (2020). Role of nutrients in wheat: A review. *Tropical Agrobiodiversity*, 1, 18-23. DOR: 10.26480/trab.01.2020.18.23.
- Parker, D. R., & Norvell, W. A. (1999). Advances in solution culture methods for plant mineral nutrition research. *Advances in Agronomy*, 65, 151-213. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60913-X](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60913-X).
- Posmyk, M. M., Kontek, R., & Janas, K. M. (2009). Antioxidant enzymes activity and phenolic compounds content in red cabbage seedlings exposed to copper stress. *Ecotoxicology and Environmental safety*, 72, 596-602. DOR: 10.1016/j.ecoenv.2008.04.024.
- Rabbi, A. K. M. Z., Paul, A. K., & Sarker, J. R. (2011). Effect of nitrogen and molybdenum on the growth and yield of garden pea (*Pisum sativum* L.). *Plant Resource Manager for data monitoring*, 2(2), 230-235.
- Rai, V., Vajpayee, P., Singh, S. N., & Mehrotra, S. (2004). Effect of chromium accumulation on photosynthetic pigments, oxidative stress defense system, nitrate reduction, proline level and eugenol content of *Ocimum tenuiflorum* L. *Plant Science*, 167(5), 1159-1169. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.06.016>.
- Sinha, S., & Saxena, R. (2006). Effect of iron on lipid peroxidation, and enzymatic and non-enzymatic antioxidants and bacoside-A content in medicinal plant *Bacopa monnieri* L. *Chemosphere*, 62, 8, 1340-1350. DOR: 10.1016/j.chemosphere.2005.07.030.
- Tirillini, B., Ricci, A., Pintore, G., Chessa, M., & Sighinolfi, S. (2006). Induction of hypericins in *Hypericum perforatum* L. in response to chromium. *Fitoterapia*, 77(3), 164-170. <https://doi.org/10.1006/pmpp.2002.0410>.
- Tripathi, B. N., Mehta, S. K., Amar, A., & Gaur, J. P. (2006). Oxidative stress in *Scenedemu* sp. During short and long-term exposure to Cu and Zn. *Chemosphere*, 62, 538-544. DOR: 10.1016/j.chemosphere.2005.06.031.
- Verma, S., & Dubey, R. S. (2001). Effect of cadmium on soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. *Biologia Plantarum*, 1, 117-123. DOR: 10.1023/A:1017938809311.
- Vitoria, A. P., Cunha, M., & Azevedo, R. A. (2005). Ultra structural changes of Radish leaf exposed to cadmium. *Environmental and Experimental Botany*, 58, 47-52. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.06.014>.
- Wagner, G. J. (1979). Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids and anthocyanins in protoplasts. *Plant Physiology*, 64(1), 88-93. DOR: 10.1104/pp.64.1.88.
- Yadegari, M. (2013). Foliar application of Fe, Cu, Mn and B on growth, yield, and essential oil yield of marigold (*Calendula officinalis*). *Journal of Applied Science and Agriculture*, 8(5), 559-567.
- Zahedi Khorasani, M., Taherian, A. A., Vafaei, A. A., Rajabi, M. R., & Rashidipour, A. (2006). Assessment of hydro-alcoholic extract of *Achillea millefolium* on anxiety-like behaviors in mice. *Koomesh*, 7, 171-176.
- Zhong, W. S., Ren, T., & Zhao, L. J. (2016). Determination of Pb (Lead), Cd (Cadmium), Cr (Chromium), Cu (Copper) and Ni (Nickel) in Chinese tea with high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Journal of Food and Drug Analysis*, 24, 46-55. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2015.04.010>.

Investigation the effects of various molybdenum concentrations on growth and biochemical characteristics of *Achillea millefolium* L.

Khadijeh Safaeiyan and Tahmaseb Asemaneh *

Department of Biology, Faculty of Science, Yasouj University, Yasouj, Iran
(Received: 18/02/2018, Accepted: 25/02/2023)

Abstract

Plants need essential elements for growth and development. Nutritional management of nutrients can be effective in the production and quality of medicinal and aromatic plants. Molybdenum is a micronutrient that plays an important role in the enzymatic systems of plants. It is also considered a heavy metal, and excessive amounts are stressful for plants. In this study, the effect of molybdenum treatment (0, 0.01, 0.1 and 1 μM) was investigated on the biochemical and morphological characteristics of *Achillea millefolium* L. in a completely randomized design in hydroponic culture. The results showed that 0.01 and 0.1 μM molybdenum concentrations compared to control had positive effects on most biochemical characteristics, including chlorophyll, carotenoids, anthocyanins, soluble carbohydrates, proteins and growth indices including plant leaf area, root and shoot dry weight. While a 1 μM concentration of molybdenum had a negative effect on soluble carbohydrates and root dry weight. Root and shoot molybdenum concentration increased along with molybdenum levels, but copper concentration was reduced, indicating the antagonistic effects of these two elements. Phenolic compounds in the plant also increased in response to 0.1 μM molybdenum. Therefore, it seems that the best molybdenum level for plant growth and phenolic compound production is 0.1 μM molybdenum.

Keywords: *Achillea millefolium*, Molybdenum, Physiological characteristic