DOI: http://dx.doi.org/10.22092/ijmapr.2013.4043

فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲۹، شمارهٔ ۳، صفحهٔ ٦٠٤-٥٩٥ (۱۳۹۲)

اثر غلظت‌های مختلف مولیبدن بر برخی از شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گل راعی (*Hypericum perforatum* L.)

مه‌لقا قربانلی[1*]، اعظم علی‌بابایی[2] و مریم پیوندی[3]

۱*- نویسنده مسئول، استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان، پست الکترونیک: mghorbanli@goganiau.ir
۲- گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران- شمال، تهران
۳- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران- شمال، تهران

تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۹۰ تاریخ اصلاح نهایی: بهمن ۱۳۹۰ تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۰

چکیده

گل راعی از گیاهان دارویی ارزشمند است، این گیاه در ایران دارای ۱۷ گونه می‌باشد، اما تنها گونه با ارزش آن *Perforatum* است. این گیاه در معالجه افسردگی نقش اساسی دارد. در این تحقیق گیاه گل راعی (*Hypericum perforatum* L.) با غلظت‌های مختلف مولیبدن شامل (شاهد، ۰/۱، ۰/٤، ۰/۸، ۱/٦ μM) در محلول مغذی هوگلند pH ٦/۸ تیمار شدند و بعد از نمونه‌ها برای سنجش پارامترهای بیوشیمیایی استفاده شد. مولیبدن به طور معنی‌داری سبب افزایش مقدار پرولین گل راعی می‌شود. فعالیت‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز اندام هوایی در تمام تیمارهای مولیبدن افزایش یافته، ولی در ریشه فعالیت این آنزیم‌ها در غلظت‌های بالاتر کاهش یافته‌است. فعالیت پراکسیداز اندام هوایی با تیمار غلظت‌های مختلف مولیبدن بجز در غلظت ۰/۸ میکرومولار مولیبدن افزایش می‌یابد و در ریشه نیز افزایش فعالیت پراکسیداز دیده شده‌است، اما در غلظت‌های بالاتر کاهش یافته‌است. افزایش مقدار مالون دآلدئید در غلظت‌های بالای مولیبدن دیده می‌شود. به‌طوری که مقدار مولیبدن به نسبت افزایش غلظت مولیبدن تیمار شده بیشتر شده‌است. بنابراین تنش مولیبدن مقدار پرولین و آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز را افزایش می‌دهد و در غلظت‌های زیاد مولیبدن علائم سمّیت به‌صورت پراکسیداسیون لیپید ظاهر می‌شود. آنالیز داده‌ها از طریق نرم‌افزار رایانه‌ای spss و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. در هر بررسی از ۳ تکرار استفاده شد.

واژه‌های کلیدی: گل راعی (*Hypericum perforatum* L.)، مولیبدن، پرولین، مالون دآلدئید، پراکسیداز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز.

مقدمه

مولیبدن جزء عناصر پایه معدنی مناسب برای گیاه می‌باشد و عنصر غذایی کم مصرف است. در مقادیر خیلی کم مورد نیاز گیاه است (میلی‌گرم در هکتار) و اغلب ذخیره بذر برای تأمین نیاز به مولیبدن کافی است. مولیبدن یک عنصر ضروریست که نقش مهمی در فرایندهای بیوشیمیایی در میکروارگانیسم‌ها، گیاهان و حیوانات ایفا می‌کند (Williams & Frausto Da Silva, 2002). این عنصر به‌طور

طبیعی در خاک وجود دارد. دامنه غلظت‌های زمینه بین ۰/۲ و ٦ میلی‌گرم بر کیلوگرم است، در حالی‌که خاک‌های غنی از فلز ممکن است ۱۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مولیبدن داشته باشند (He *et al*., 2005). اغلب گونه‌های محلول مولیبدن در خاک آنیون مولیبدات (MoO_4^{-2}) با پروتوناسیون در محلول خاک با pH پایین است (Buekers *et al*., 2010). مولیبدن در آنزیم‌هایی که نقش مهمی در چرخه‌های بیوشیمیایی N، S و P شامل احیاء نیترات، تثبیت نیتروژن و واکنش‌های اکسیداز ایفا می‌کند دخالت دارد (Williams & Frausto Da Silva, 2002). به‌نظر می‌رسد که مولیبدن از لحاظ کاتالیتیکی در سیستم‌های بیولوژیکی تا زمانی‌که با یک کوفاکتور خاص ترکیب شود غیرفعال است. بیش از ٤۰ آنزیم وابسته به مولیبدن واکنش‌های اکسید و احیاء مختلفی را در تمام ارگانیسم‌ها انجام می‌دهند، ولی فقط ٤ تا از این آنزیم‌ها در گیاهان یافت شده‌است (Mendel & Hansch, 2002). در اوایل سال ۱۹٥٤ گزارش شده که با بکارگیری مولیبدن در خاک اسیدی محصول افزایش می‌یابد (Mulder, 1954). جذب مولیبدن در غلظت‌های بالا، موجب اختلالات فیزیولوژیک و تغییر در مسیرهای متابولیک گیاهان می‌شود (Warner & Kleinhofs, 1992). در غلظت‌های بالا، مولیبدن علامت سمّیت مشخصی دارد و رنگ آن روشن به‌صورت پرتقالی درخشان می‌باشد (Meagher *et al*., 1951). در گوجه‌فرنگی و گل‌کلم رشد یافته در غلظت بالای مولیبدن، برگ‌هایشان آنتوسیانین ذخیره می‌کنند و به رنگ ارغوانی در می‌آیند، درصورتی‌که در بقولات برگ‌ها به زردی گراییده‌اند (Gupta, 1997). گل راعی یکی از گیاهان دارویی با ارزش دنیای امروزی بشمار می‌رود، با توجه به نیاز به این محصول، اقدام به تولید و عرضه محصولاتی با عملکرد بالا ضروریست. این پژوهش با هدف بررسی اثر غلظت‌های مختلف مولیبدن بر محتوای پرولین، مالون‌دآلدئید، میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و میزان مولیبدن به اجرا درآمد.

مواد و روشها

به‌منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف مولیبدن بر گیاه گل راعی، بذرهای گل راعی بعد از جمع‌آوری از فریدون‌شهر اصفهان، با سدیم هیپوکلریت ۳۰٪ به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی شده و بعد در گلدان‌های حاوی لیکای ریز کاشته شدند. بعد از جوانه زدن بذرها گلدان‌ها به محیط هوگلند انتقال یافتند (Hogland & Arnon, 1950). آنگاه pH محلول غذایی با استفاده از HCl ۰/۱ نرمال و KOH ۰/۱ نرمال، بر ٦/۸ تنظیم می‌شود. سپس با مولیبدن به شکل مولیبدات‌سدیم ($Na_2MoO_4.2H_2O$) به مدت ٤ هفته در غلظت‌های (شاهد، ۰/۱، ۰/٤، ۰/۸، ۱/٦ μM) تیمار شدند. یک روز بعد قطع تیمار نمونه برگ و ریشه‌های سالم برداشت شده و بلافاصله بعد از قرار دادن در ورقه‌های آلومینیومی، منجمد شده و در فریزر قرار داده شدند، مقداری نیز برای سنجش میزان مولیبدن در گیاه به مدت ٤۸ ساعت جداگانه در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند.

برای تهیه عصاره پروتئینی جهت اندازه‌گیری آنزیم‌ها یک گرم بافت تر اندام هوایی و نیم گرم اندام تر ریشه (منجمد شده) در یک هاون چینی محتوی ٥ میلی‌لیتر بافر تریس–HCl ۰/۰٥ مولار، pH = ۷/٥ به مدت ۳۰ دقیقه و در حمام یخ کاملاً ساییده شد. همگنای حاصل به لوله سانتریفوژ منتقل شد و پس از ۱۰ دقیقه سکون به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور دمای ٤ درجه سانتی‌گراد با استفاده از دستگاه سانتریفوژ یخچال‌دار سانتریفوژ نمونه‌ها

انجام شد (Sudhaker *et al*., 2001). در پایان مرحله سانتریفوژ مرحله رویی از چند لایه پارچه عبور داده شد. فعالیت آنزیم‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل (Jenway Genova) اندازه‌گیری شد. به‌منظور محاسبه فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Mishra و Kar (۱۹۷٦)، میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز طبق روش حدادچی (۱۳٦۵) و فعایت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز براساس روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) تعیین گردید.

برای اندازه‌گیری پرولین ۰/۵ گرم بافت تر اندام هوایی و ریشه را در ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۳٪ سولفوسالیسیلیک‌اسید سائیده، سپس آن را با استفاده از کاغذ واتمن شماره ۲ صاف نموده و از معرف نین‌هیدرین طبق روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. جذب فاز رنگی فوقانی حاوی تولوئن و پرولین در ۵۲۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (Jenway Genova) خوانده شد و مقدار پرولین در هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد و برحسب mM/gFW تعیین گردید.

برای سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی براساس تشکیل کمپلکس مالون دآلدئید ایجاد شده با تیوباربیتوریک‌اسید (TBA) سنجش شد. غلظت مالون دآلدئید با استفاده از روش Heath و Packer (۱۹٦۹) در طول موج ۵۳۲ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل (Jenway Genova) انجام شد. جذب بقیه رنگیزه‌های غیراختصاصی در ٦۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر گردید. برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی معادل $۱۵۵^{Mm-۱}Cm^{-۱}$ استفاده شد.

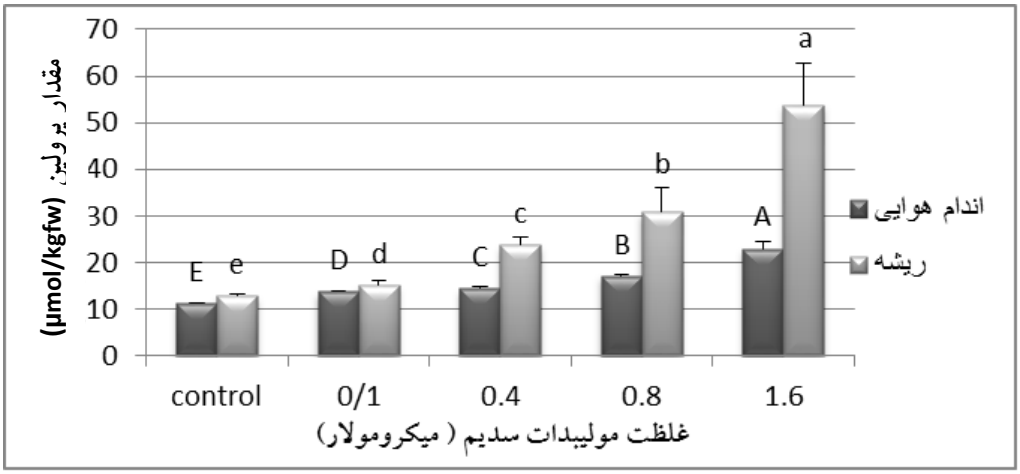
سنجش مولیبدن با هضم به روش تولید خاکستر خشک انجام شد. ۱ گرم از نمونه گیاهی خشک و آسیاب شده (اندام هوایی وریشه به‌صورت مجزا) در کوره الکتریکی قرار داده شد. دمای کوره به تدریج طی ۵ ساعت به ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد رسانده شد. بعد از خنک شدن کوره، بوته‌ها را خارج کرده و برای هضم نمونه‌ها از ۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۲۰٪ استفاده شد. بعد از عصاره‌گیری غلظت مولیبدن توسط دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد (Lozak *et al*., 2002).

آنالیز آماری داده‌ها از طریق نرم‌افزار spss و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. در هر بررسی از ۳ تکرار استفاده شد. رسم نمودارها نیز با کمک نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج

پرولین

در خصوص تأثیر غلظت‌های مختلف مولیبدن بر مقدار پرولین گل راعی نتایج نشان می‌دهد که مولیبدن باعث افزایش تدریجی پرولین موجود در ریشه و اندام هوایی گیاه گل راعی می‌شود، که پرولین ریشه نسبت به اندام هوایی افزایش بیشتری یافته‌است. در غلظت ۱/٦ میکرومولار مولیبدن در ریشه و اندام هوایی مقدار پرولین چند برابر شاهد شده‌است و در ریشه تقریباً دو برابر شاهد است (شکل ۱).

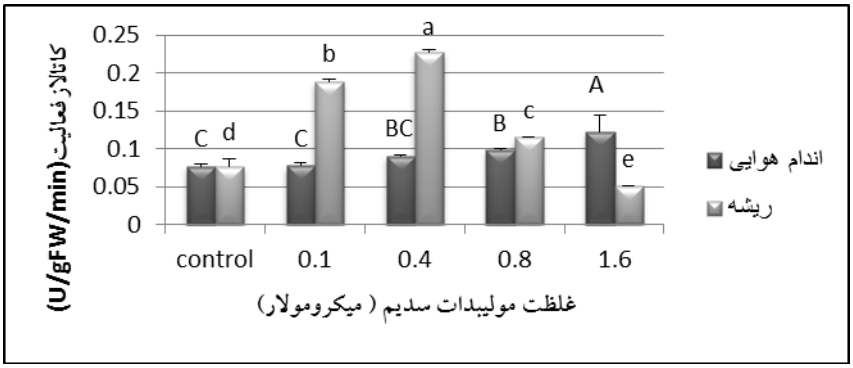


شکل ۱- مقایسه میزان پرولین اندام هوایی و ریشه گیاه گل راعی در غلظت‌های مختلف مولیبدن

(مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد و حروف غیرمشترک تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵٪ نشان می‌دهد.)

فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز

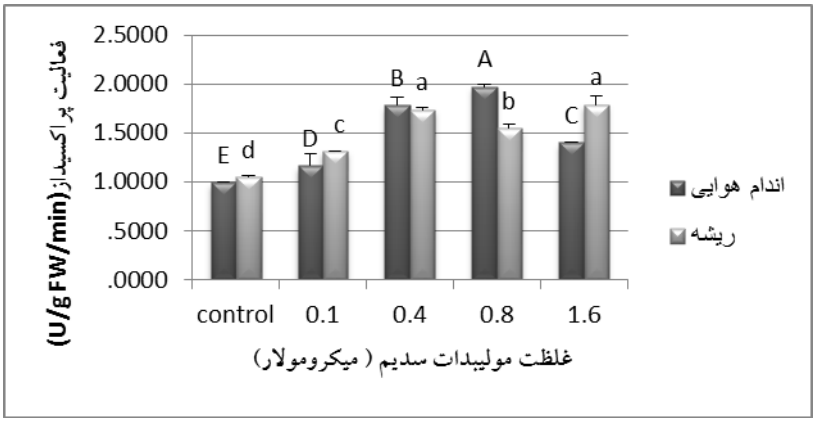
فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌شدت تحت تأثیر فلز مولیبدن قرار می‌گیرد. فعالیت آنزیم کاتالاز در ریشه با تیمار مولیبدن تا غلظت ۰/٤µM در مقایسه با شاهد افزایش می‌یابد، ولی در غلظت‌های بالای مولیبدن کاهش فعالیت کاتالاز ایجاد می‌شود که در غلظت ۱/٦µM میزان فعالیت این آنزیم کمتر از شاهد بوده‌است. فعالیت کاتالاز در اندام هوایی در تمام غلظت‌های مولیبدن به تدریج افزایش یافته که بیشینه میزان فعالیت این آنزیم در غلظت ۱/٦µM می‌باشد (شکل ۲).



شکل ۲- مقایسه میزان فعایت آنزیم کاتالاز اندام هوایی و ریشه گیاه گل راعی در غلظت‌های مختلف مولیبدن

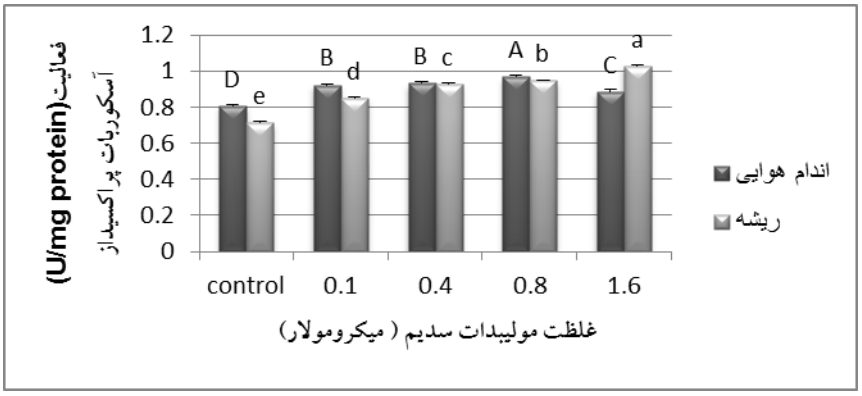
(مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد و حروف غیرمشترک تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵٪ نشان می‌دهد.)

فعالیت آنزیم پراکسیداز در اندام هوایی تا غلظت ۰/۸µM افزایش یافته و در غلظت بالاتر از ۱/٦µM کاهش فعالیت این آنزیم دیده شده‌است، و در ریشه نیز همانند کاتالاز به تدریج افزایش یافته‌است و بیشینه فعالیت در غلظت ۰/٤µM و ۱/٦µM است و در غلظت ۰/۸µM کاهش مختصری در فعالیت این آنزیم دیده می‌شود (شکل ۳).



شکل ۳- مقایسه میزان فعایت آنزیم پراکسیداز اندام هوایی و ریشه گیاه گل راعی در غلظت‌های مختلف مولیبدن (مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد و حروف غیرمشترک تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵٪ نشان می‌دهد.)

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در اندام هوایی تا غلظت ۰/۸μM افزایش ناچیزی یافته‌است و در غلظت ۱/٦μM کاهش اندکی ایجاد شده‌است. در ریشه فعالیت این آنزیم با افزایش غلظت مولیبدن افزایش تدریجی یافته‌است، به‌طوری که غلظت ۱/٦μM حداکثر فعالیت آنزیم را نشان می‌دهد (شکل ٤).

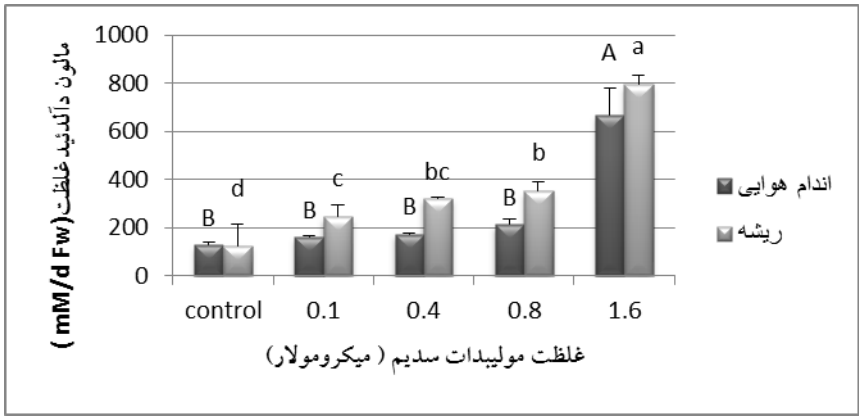


شکل ٤- مقایسه میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز اندام هوایی و ریشه گیاه گل راعی در غلظت‌های مختلف مولیبدن

(مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد و حروف غیرمشترک تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵٪ نشان می‌دهد.)

مالون دآلدئید

نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار مالون دآلدئید در بافت‌های شاهد و تحت تیمار نشان داد که افزایش مولیبدن سبب افزایش پراکسیداسیون لیپید می‌شود، به‌طوری که ۱/٦μM در ریشه و اندام هوایی در تشکیل کمپلکس مالون دآلدئید- باربیتوریک اسید افزایش معنی‌داری را نسبت به نمونه‌های شاهد نشان می‌دهند (شکل ۵).

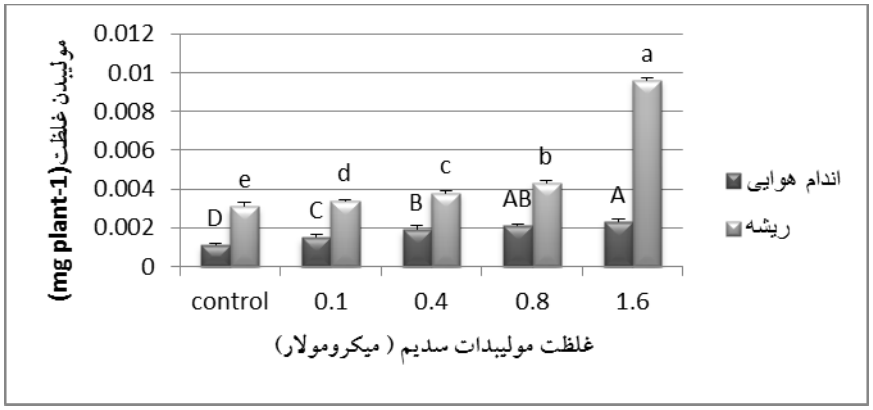


شکل ۵- مقایسه میزان مالون دآلدئید اندام هوایی و ریشه گیاه گل راعی در غلظت‌های مختلف مولیبدن

(مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد و حروف غیرمشترک تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵٪ نشان می‌دهد.)

مولیبدن

میزان مولیبدن ریشه و اندام هوایی با افزایش غلظت مولیبدن افزایش یافته‌است و غلظت مولیبدن ریشه بیشتر از اندام هوایی می‌باشد. در اندام هوایی افزایش ناچیزی با افزودن مولیبدن مشاهده شده ولی در ریشه افزایش بیشتر و به تدریج ایجاد شده‌است (شکل ٦).



شکل ٦- مقایسه غلظت مولیبدن اندام هوایی و ریشه گیاه گل راعی در غلظت‌های مختلف مولیبدن

(مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد و حروف غیرمشترک تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵٪ نشان می‌دهد.)

بحث

تغذیه مولیبدن از ترکیب‌های ضروری برای رشد گیاه است. در این تحقیق اثر غلظت‌های مختلف مولیبدن بر گیاه گل راعی مورد بررسی قرار گرفته و نتایج نشان می‌دهد که با افزایش مولیبدن مقدار پرولین گیاه افزایش می‌یابد، نظرات بسیاری تجمع پرولین را در گیاهان در مقاومت به تنش فلزی دخیل می‌دانند (Gupta & Basuchaudhuri, 1974؛ Sun *et al*., 2006). تجمع معنی‌دار و وابسته به غلظت مولیبدن و نقش محافظتی آن در تحمل به تنش فلزی مشخص شده‌است. مطالعات

Kumar و Aery (۲۰۱۰) روی گیاه لوبیا چشم بلبلی تحت ٤ غلظت مختلف مولیبدن نشان داده که غلظت‌های پایین مولیبدن ($\mu g\ g^{-1}$ ۲/۵–۰/۱) منجر به کاهش مقدار پرولین می‌شود و غلظت‌های بالاتر ($\mu g\ g^{-1}$ ٦۲/۵–۱۲/۵) مقادیر پرولین گیاه را افزایش می‌دهد. در تنش فلزی فعالیت کاتالاز و پراکسیداز افزایش می‌یابد که در گونه‌های مختلف متفاوت است (Rout & Das, 2002). تسریع در فعالیت آنزیم‌هایی مانند کاتالاز و پراکسیداز نشان‌دهنده یک نقش متابولیکی در شرایط تنش فلزی می‌باشد (Assche & Clijsters, 1990). القای فعالیت پراکسیداز پاسخ عمومی گیاهان به جذب مقادیری از فلزات است که موجب آسیب به عمل طبیعی گیاه می‌شود (Andrson, 2003). در حقیقت فعالیت این آنزیم به‌عنوان شاخص زیستی در برابر سمّیت غیرکشنده فلزات محسوب می‌شود (Radotic *et al*., 2000). گزارش‌های اخیر حکایت از این داشت که افزایش مولیبدن با افزایش آنتی‌اکسیدانت‌ها ارتباط دارد. Li و Li (۲۰۰۲) افزایش فعالیت پراکسیداز و کاتالاز را تحت تیمار مولیبدن در برگ‌های سیب‌زمینی گزارش کردند. همچنین Liu و همکاران (۲۰۰۵) با انجام تحقیقاتی بر روی گیاه سویا نشان دادند که تیمار مولیبدن باعث افزایش فعالیت پراکسیداز و کاتالاز می‌شود. در پژوهش حاضر نیز فعالیت آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز مشخص گردید، به‌طوری که میزان فعالیت این آنزیم‌ها در تیمار مولیبدن افزایش می‌یابد، که تأییدکننده نتایج گزارش‌های قبلی است. پاسخ آنزیم‌ها به مولیبدن متفاوت می‌باشد، گرچه ارزش‌های معین فعالیت آسکوربات پراکسیداز تغییر قابل‌توجهی در تیمارهای مختلف مولیبدن ندارند، اما افزایشی در فعالیت این آنزیم از کم به مناسب دیده می‌شود که موافق با نظر Nicholas (۱۹۵۷) می‌باشد که طبق گفته او افزایش فعالیت کاتالاز و پراکسیداز از کم به مناسب است. طبق تحقیقات سرمدی و ایرانی (۱۳۸۷) فعالیت پراکسیداز در واریته Glandulifera گیاه شیرین‌بیان در تمام تیمارهای مولیبدن افزایش معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان داد، اما در واریته Glabra آن، افزایش فقط در غلظت‌های ۲۵۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار مشاهده گردید. Nashikkar و Chakrabarti (۱۹۹٤) گزارش کرده‌اند که فعالیت کاتالاز و پراکسیداز نشان‌دهنده سمّیت فلز سنگین و وضعیت تنش پس از آن در گیاهان می‌باشد. چندین پیشنهاد در مکانیسم مقاومت فلزی گیاهان شده‌است که شامل تولید ترکیب‌های فلزی درون سلولی باند شده، تغییر الگوهای فلزی، تغییر متابولیسم سلولی و ساختار غشایی می‌باشد (Verkleij & Schat, 1990)؛ البته پس از جذب فلزات سمّی کاملاً بی‌اثر نیستند و فعالیت آنزیم‌های خاص را تحریک می‌کنند (Assche & Clijsters, 1990؛ Vangronsfeld & Clijsters, 1994). Rout و Das (۲۰۰۲) در تحقیقی که بر روی کولتیوارهای مختلف برنج انجام دادند، نشان دادند که با تیمار این گیاه با غلظت‌های مختلف مولیبدن سمّیت مولیبدن با فعالیت افزایش‌یافته پراکسیداز و کاتالاز کولتیوارهای برنج همبستگی یافته‌است. سرمدی و ایرانی (۱۳۸۷) دو واریته از گیاه شیرین‌بیان را مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که مولیبدن سبب پراکسیداسیون لیپید می‌شود. افزایش مقدار مالون دآلدئید که به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید می‌باشد با افزایش غلظت مولیبدن افزایش می‌یابد. این اثر احتمالاً به دلیل اثرات سمّی مولیبدن در غلظت‌های بالا می‌باشد که با ایجاد رادیکال‌های آزاد واکنش‌پذیر، باعث پراکسیداسیون اسیدهای چرب شده و مالون دآلدئید

افزایش می‌یابد. در این تحقیق نیز به نتایج مشابهی دست یافتیم. ذخیره مولیبدن در گل راعی با افزایش غلظت مولیبدن بیشتر می‌شود، در این تحقیق مشاهده شده که مولیبدن در ریشه‌های گیاه بیشتر از اندام هوایی است که این موافق با نظر Butnariu و همکاران (۲۰۰۸) می‌باشد که این امر به این علت است که در ریشه‌های گیاهان فعالیت نیتروژناز و نیترات ردوکتاز بیشتر از اندام هوایی است و در اندام هوایی بیشترین مقدار مولیبدن در برگ‌ها می‌باشد و در گل‌ها و ساقه‌ها به کمترین مقدار خود می‌رسد. مولیبدن موجود در دانه‌ها از یک خاک به خاک دیگر متفاوت است، بنابراین در خاک‌های دارای کمبود مولیبدن، مقدار فلز دانه‌ها می‌تواند مقیاس فرضی از کمبود مولیبدن باشد. ریشه‌های گیاهان در تمام موارد فلزات سنگین بیشتری را در مقایسه با بخش‌های هوایی گیاهان دارند. زمانی‌که مولیبدن در نهال‌های نخودفرنگی ذخیره شد، عناصر شیمیایی دیگر به‌صورت نرمال کاهش یافته‌اند (Butnariu *et al*., 2008)؛ که این مخالف با نظر Rout و Das (۲۰۰۲) می‌باشد. آنها گزارش کرده‌اند که ذخیره مولیبدن در اندام هوایی بیشتر از ریشه است.

منابع مورد استفاده

- حدادچی، غ.ر.، ۱۳۶۵. بیوشیمی و فیزیولوژی گیاهی (عملی). انتشارات جهاد دانشگاهی، ۲۸۶ صفحه.
- سرمدی، م. و ایرانی، م.،۱۳۸۷. اثر تنش مولیبدن بر مقدار آنتوسیانین، پروتئین، مالون دآلدئید و فعالیت پراکسیداز در دو واریته گیاه شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) در شرایط کشت درون شیشه. ویژه‌نامه منابع طبیعی، ۸: ۲۰-۱۳.
- Andrson, S., 2003. Basic Information About Molybdenum As Plant Nutrient. Available: Http:// Cocemmerce.Uvex.Edu.
- Assche, F. and Clijsters, H., 1990. Effects of metals on enzyme activity in plants. Plant, Cell and Envirment, 13(3): 195-206.
- Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil, 39: 205-207.
- Buekers, J., Mertens, J. and Smolders, E., 2010. Toxicity of the molybdate anion in soil is partially explained by the effects of the accompanying cation or by soil pH. Environmental Toxicology and Chemistry, 29(6): 1274-1278.
- Butnariu, M., Robert, A. and Tonea, E., 2008. Quantity determination of molybdenum from *Pisum sativum* plants and the influence of heavy metal to chemical elements accumulation. Lucrări Stiinńifice Zootehnie Si Biotehnologii, 41: 735-743.
- Gupta, D.K.D. and Basuchaudhuri, P., 1974. Effect of molybdenum on the nitrogen metabolism of rice. Experimental Agriculture, 10(4): 251-255.
- Gupta, U.C., 1997. Symptoms of molybdenum deficiency and toxicity in crops: 160-170. In: Gupta, U.C., (Ed.). Molybdenum in Agriculture. Cambridge: Cambridge University Press, 276p.
- He, Z.L.L., Yang, X.E. and Stoffella, P.J., 2005. Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 19(2-3): 125-140.
- Heath, R.L. and Packer, L., 1969. Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics, 125: 189-198.
- Hogland, D.R. and Arnon, D.I., 1950. The Water-Culture Method for Growing Plants without Soil. California Agricultural Experiment Station Circular, 31p.
- Kumar, A. and Aery, N.C., 2010. Effect of various concentrations of molybdenum on the growth and biochemical constituents of Cowpea (*Vigna unguiculata* L.). http://www.agriculturejournals. cz/publicFiles/50061.pdf.
- Li, J. and Li, X.D., 2002. Effect of copper and molybdenum on quality in Pakchoi. Fujian Agricultural Science and Technology, 3: 13-14.
- Liu, P., Yang, Y.S., Xu, G.D., Fang, Y.H. and Yang, Y.A., 2005. The response of antioxidant enzymes of three Soybean varieties to molybdenum and boron in soil with a connection to plant quality. Plant, Soil and Environment, 51(8): 351-359.
- Lozak, A., Soltyk, K., Ostapczuk, P. and Fijalek, Z., 2002. Determination of selected trace elements in herbs and their infusions. Science of The Total Environment, 289: 33-40.
- Meagher, W.R., Johnson, C.M. and Stout, P.R., 1951. Molybdenum requirement of leguminous plants supplied with fixed nitrogen. Plant Physiology, 27(2): 223-230.
- Mendel, R.R. and Hansch, R., 2002. Molybdoenzymes and molybdenum cofactor in plants. Journal of Experimental Botany, 53(375): 1689-1698.
- Mishra, D. and Kar, M., 1976. Catalase peroxidase and

polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. Plant Physiology, 57: 315-319.
- Mulder, E.G., 1954. Molybdenum in relation to growth of higher plants and micro-organisms. Plant and Soil, 5(4): 368-415.
- Nakano, Y. and Asada, K., 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant and Cell Physiology, 22(5): 867-880.
- Nashikkar, V.J. and Chakrabarti, T., 1994. Catalase and peroxidase activity in plants an indicator of heavy metal toxicity. Indian Journal of Experimental Biology, 32(7): 520-521.
- Nicholas, D.J.D., 1957. The effect of molybdenum deficiency on the catalase and peroxidase content of *Neurospora crassa*. Journal of general microbiology, 17(3): 689-698.
- Radotic, K., Dučić, T. and Mutavdžić, D., 2000. Changes in peroxidase activity and isoenzymes in spruce needles after exposure to different concentrations of cadmium. Environmental and Experimental Botany, 44(2): 105-113.
- Rout, G.R. and Das, P., 2002. Rapid hydroponic screening form molybdenum tolerance in rice through morphological and biochemical analysis. Rostlinná Výroba, 48(11): 505-512.
- Sudhaker, C., Lakshmi, A. and Giridarakumar, S., 2001. Changes in the antioxidant enzyme efficiency in two high yielding genotype of mulberry (*Morus Alba* L.) under NaCl salinity. Plant Science, 161: 619-673.
- Sun, X.C., Hu, C.X. and Tan, Q.L., 2006. Effects of molybdenum on antioxidative defense system and membrane lipid peroxidation in winter wheat under low temperature stress. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology, 32(2): 175-182.
- Vangronsfeld, J. and Clijsters, H., 1994. Toxic effects of metals: 149-178. In: Farago, M.E., (Ed.). Plants and the Chemical Elements. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, Germany, 302p.
- Verkleij, J.A.C. and Schat, H., 1990. Mechanism of metal tolerance in higher plants: 179-193. In: Shaw, A.J., (Ed.). Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects. CRC Press, 355p.
- Warner, R.L. and Kleinhofs, A., 1992. Genetics and molecular biology of nitrate metabolism in higher plants. Physiologia Plantarum, 85(2): 245-252.
- Williams, R.J.P. and Frausto Da Silva, J.J.R., 2002. The involvement of molybdenum in life. Biochemical and Biophysical Research Communications, 292(2): 293-299.

Effect of different concentrations of molybdenum on some physiological and biochemical parameters in *Hypericum perforatum* L.

M. Ghorbanli[1*], A. Alibabaee[2] and M. Payvandi[2]

1*- Corresponding author, Department of Biology, Islamic Azad University, Gorgan Branch, Gorgan, Iran
E-mail: mghorbanli@goganiau.ir
2- Department of Biology, Islamic Azad University, Tehran North Branch, Tehran, Iran

Received: August 2011 Revised: February 2012 Accepted: February 2012

Abstract

Hypericum perforatum L. is a valuable medicinal species. The plant geneus includes 17 species in Iran, but *H. perforatum* is the only valuable species.The species plays an essential role in the treatment of depression. In this study, *Hypericum perforatum* was treated with different concentrations of molybdenum including (control, 0.1, 0.4, 0.8, 1.6 µM) in Hoagland solution at 6.8 pH and then samples were used to measure biochemical parameters. Molybdenum significantly increased proline content. The shoot catalase and ascorbate peroxidase activities increased in all treatments of molybdenum, but in root, it was reduced in higher concentrations. Shoot peroxidase activities increased by treatments of molybdenum, except at a concentration of 0.8µM. The increase in peroxidase activity was also observed in roots but it was reduced at higher concentrations. The malondealdehyde and molybdenum content increased in higher concentrations of molybdenum. Molybdenum content increased by increasing treated molybdenum. Therefore, molybdenum stress increased the proline content and peroxidase, catalase and ascorbate peroxidase activities, and toxicity symptoms were observed in high concentrations of molybdenum as lipid peroxidation. Data were analyzed by SPSS and mean comparisons was performed by Duncan's multiple range test. In each experiment, 3 replications were used.

Key woreds: *Hypericum perforatum* L., molybdenum, proline, malondealdehyde, peroxidase, catalase, ascorbate peroxidase.