

# Vai trò của nano molybdenum trioxide thay thế natri molybdate dehydrat trong môi trường nuôi cấy lên khả năng sinh trưởng và phát triển của cây hoa Cúc nuôi cấy *in vitro*

Phan Lê Hà Nguyễn<sup>1,2</sup>, Dương Tấn Nhựt<sup>2\*</sup>, Nguyễn Thị Thanh Thúy<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Như Mai<sup>2</sup>, Hoàng Thanh Tùng<sup>3</sup>, Hoàng Đắc Khải<sup>2</sup>, Đỗ Mạnh Cường<sup>2</sup>, Vũ Quốc Luận<sup>2</sup>, Hoàng Thị Như Phương<sup>3</sup>, Nguyễn Hoài Châu<sup>4</sup>, Ngô Quốc Bưu<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, Hà Nội, Việt Nam

<sup>2</sup>Viện Khoa học sự sống, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 9/621 Võ Nguyên Giáp, phường Linh Xuân, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

<sup>3</sup>Trường Đại học Đà Lạt, 1 Phù Đổng Thiên Vương, phường Lâm Viên, tỉnh Lâm Đồng, Việt Nam

<sup>4</sup>Viện Công nghệ môi trường, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 25/3/2024; ngày chuyển phản biện 27/3/2024; ngày nhận phản biện 10/4/2024; ngày chấp nhận đăng 15/4/2024

## Tóm tắt:

Nghiên cứu đã thay thế  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  bằng dung dịch nano  $\text{MoO}_3\text{NPs}$  trong môi trường Murashige và Skoog (MS) để đánh giá tác động của loại nano này lên quá trình sinh trưởng, phát triển, khả năng hấp thu các chất dinh dưỡng và hoạt động của các enzyme chống oxy hóa ở cây hoa Cúc nuôi cấy *in vitro*. Kết quả cho thấy, các mẫu chồi đỉnh 1 tháng tuổi (1 cm) được nuôi cấy trên môi trường thay thế  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  bằng  $\text{MoO}_3\text{NPs}$  với tỷ lệ 1:1 (tương ứng với 149  $\mu\text{g/l}$   $\text{MoO}_3\text{NPs}$ ) cho kết quả tối ưu nhất. Sau 30 ngày nuôi cấy, môi trường này cho ra các chỉ tiêu sinh trưởng vượt trội, bao gồm: số chồi/mẫu (3,00), chiều cao chồi (5,40 cm), số lá/chồi (14,00), số đốt/chồi (8,67), chiều dài lá (1,30 cm), SPAD (31,17  $\text{nmol/cm}^2$ ) và khối lượng tươi (0,98 g). Hoạt động của các enzyme chống oxy hóa ở nghiệm thức này cũng tốt hơn so với đối chứng dương (trừ SOD) và các nghiệm thức còn lại; trong đó việc thiếu hoặc dư thừa Mo trong môi trường nuôi cấy cũng gây ra sự suy giảm hoạt động của các enzyme SOD, CAT và APX. Ngoài ra, ở nồng độ 149  $\mu\text{g/l}$   $\text{MoO}_3\text{NPs}$ , chất dinh dưỡng được cây hấp thu hiệu quả và nhanh chóng hơn. Những phát hiện này cho thấy, việc thay thế  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  trong môi trường nuôi cấy bằng  $\text{MoO}_3\text{NPs}$  giúp tăng cường khả năng hấp thu khoáng, cung cấp nguồn dinh dưỡng cho thực vật để hỗ trợ quá trình sinh tổng hợp và các chức năng thiết yếu.

**Từ khóa:** cây hoa Cúc, dư lượng, enzyme chống oxy hóa, khả năng hấp thu khoáng, môi trường Murashige và Skoog, nano molybdenum trioxide.

**Chỉ số phân loại:** 1.6, 4.6

## The role of molybdenum trioxide nanoparticles replacing sodium molybdate dehydrate in the culture medium on the growth and development of *in vitro* cultured Chrysanthemum

Nguyen Phan Le Ha<sup>1,2</sup>, Tan Nhut Duong<sup>2\*</sup>, Thi Thanh Thuy Nguyen<sup>2</sup>, Thi Nhu Mai Nguyen<sup>2</sup>, Thanh Tung Hoang<sup>3</sup>, Dac Khai Hoang<sup>2</sup>, Manh Cuong Do<sup>2</sup>, Quoc Luan Vu<sup>2</sup>, Thi Nhu Phuong Hoang<sup>3</sup>, Hoai Chau Nguyen<sup>4</sup>, Quoc Buu Ngo<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology, 18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Hanoi, Vietnam

<sup>2</sup>Institute of Life Science, Vietnam Academy of Science and Technology, 9/621 Vo Nguyen Giap Street, Linh Xuan Ward, Ho Chi Minh City, Vietnam

<sup>3</sup>University of Da Lat, 1 Phu Dong Thien Vuong Street, Lam Vien Ward, Lam Dong Province, Vietnam

<sup>4</sup>Institute of Environmental Technology, Vietnam Academy of Science and Technology, 18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Hanoi, Vietnam

Received 25 March 2024; revised 10 April 2024; accepted 15 April 2024

## Abstract:

This study replaced sodium molybdate dehydrate ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) with molybdenum trioxide nanoparticles solution ( $\text{MoO}_3\text{NPs}$ ) in Murashige and Skoog (MS) medium to evaluate the impact of these nanoparticles on growth and development, the ability to absorb nutrients, and the activity of antioxidant enzymes in *in vitro* cultured Chrysanthemum. The results of the study showed that one-month-old (1 cm) shoot explants were cultured on a medium replacing  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  with  $\text{MoO}_3\text{NPs}$  at a ratio of 1:1 (corresponding to 149  $\mu\text{g/l}$   $\text{MoO}_3\text{NPs}$ ) was the most optimal. After 30 days of culture, the explants exhibited superior growth parameters, including number of shoots/explant (3.00), shoot height (5.40 cm), number of leaves/shoot (14.00), number of stem nodes/shoot (8.67), leaf length (1.30 cm), SPAD (31.17  $\text{nmol/cm}^2$ ) and fresh weight (0.98 g). The activity of antioxidant enzymes in this treatment was also better than that in the positive control (except for SOD) and all other treatments, whereas the lack or excess of Mo in the culture medium also led to a decrease in the activity of SOD, CAT, and APX enzymes. In addition, at a concentration of 149  $\mu\text{g/l}$   $\text{MoO}_3\text{NPs}$ , plantlets absorb nutrients more effectively and quickly. These findings suggest that replacing  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  in the culture medium with  $\text{MoO}_3\text{NPs}$  will enhance mineral absorption, providing a source of nutrients for plants to support biosynthesis and essential functions.

**Keywords:** antioxidant enzyme, Chrysanthemum, molybdenum trioxide nanoparticles, Murashige and Skoog medium, nutrient absorption, residue.

**Classification numbers:** 1.6, 4.6

\*Tác giả liên hệ: Email: duongtannhut@gmail.com

## 1. Đặt vấn đề

Hoa Cúc được biết đến là một loại hoa cắt cành có giá trị thẩm mỹ và kinh tế cao nên được ưa chuộng trên toàn thế giới [1]. Tại Việt Nam, hoa Cúc được trồng ở nhiều tỉnh, thành phố. Đặc biệt, thành phố Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng (trước sáp nhập) là nơi nghiên cứu nhân giống và trồng tập trung với quy mô và số lượng lớn nhất cả nước. Theo số liệu của Cục Hải quan, xuất khẩu hoa của Việt Nam năm 2021 đạt 61,8 triệu USD, tăng 27% so với 2020; trong đó, hoa Cúc có giá trị xuất khẩu đạt gần 55,2 triệu USD, tăng 11,3% so với năm 2020. Hoa Cúc đã trở thành mặt hàng có giá trị xuất khẩu cao nhất, chiếm 82,4% tổng kim ngạch xuất khẩu nhóm hàng hoa tươi của nước ta năm 2022 [2]. Chính vì vậy, việc tạo ra số lượng lớn cây hoa Cúc có chất lượng tốt để đáp ứng được nhu cầu của người dùng trong và ngoài nước là vấn đề cấp thiết cần được thực hiện. Tuy nhiên, các phương pháp nhân giống truyền thống thường mất nhiều thời gian để tạo ra số lượng lớn cây giống, chất lượng cây kém, không đồng đều và dễ nhiễm bệnh. Vì vậy, việc ứng dụng công nghệ nuôi cấy mô, tế bào thực vật vào nhân giống cây hoa Cúc là điều cần thiết. Từ lâu, nhân giống cây hoa Cúc trong điều kiện nuôi cấy *in vitro* đã được nghiên cứu rộng rãi để phục vụ nhu cầu về sản xuất cây giống Cúc sạch bệnh, có chất lượng đồng đều với giá cả hợp lý [3]. Gần đây, một số nghiên cứu đã ứng dụng công nghệ nano trong nuôi cấy *in vitro* cây hoa Cúc như sử dụng nano đồng (Cu), vàng (Au) và bạc (Ag) để loại bỏ sự nhiễm nấm và vi khuẩn trong môi trường nuôi cấy cây hoa Cúc [4, 5].

Vi lượng là một trong những nhóm dinh dưỡng có ảnh hưởng trực tiếp đến hình thái, khả năng sinh trưởng và phát triển của cây trồng [6]. Molybdenum (Mo) là nguyên tố vi lượng thiết yếu trong chức năng trao đổi chất của thực vật [7]. Trong cơ thể thực vật, Mo được sử dụng để tổng hợp đồng yếu tố molybdenum (Moco), tạo thành các vị trí hoạt động của molybdoenzyme như sulfite oxidase (SOX), aldehyde oxidase (AO), xanthine dehydrogenase (XDH) và nitrat reductase (NR) [8]. Những enzyme này tham gia vào nhiều quá trình trao đổi chất quan trọng, bao gồm sinh tổng hợp phytohormone, chuyển hóa purine, giải độc sulfite và đồng hóa nitrat [9]. Bên cạnh đó, Mo cũng có vai trò chính trong việc thúc đẩy sự vận chuyển các sản phẩm quang hợp từ lá đến các cơ quan dự trữ làm tăng hiệu quả của chu trình quang hợp [10]. Do đó, sự thiếu hụt hoặc dư thừa Mo đều có thể ảnh hưởng tiêu cực đến sự sinh trưởng, phát triển và năng suất cây trồng [11].

Trong những năm gần đây, sự tương tác giữa vật liệu nano và thực vật đã thu hút sự quan tâm của nhiều nhà khoa học trên thế giới. Các nghiên cứu đã cho thấy cả ảnh hưởng tích cực và tiêu cực của vật liệu nano đến sự sinh trưởng và phát triển của thực vật, tùy thuộc vào thành phần, cấu trúc, nồng độ hạt nano và loài thực vật sử dụng [6, 12]. Trong lĩnh vực nuôi cấy mô tế bào thực vật, gần đây có một số nghiên cứu về tác động tích cực của nano kim loại lên thực vật nuôi cấy *in vitro*, như tăng tỷ lệ nảy mầm [13], gia tăng sinh trưởng [4, 5], tăng cường chuyển hóa các hợp chất thứ cấp như phenol, flavonoid hay alkaloid [14]. Molybdenum trioxide ở kích thước nano ( $\text{MoO}_3\text{NPs}$ ) đã được chứng minh giúp cải thiện sự phát triển và tăng khả năng sử dụng nitrat trên cây lúa [15]. Bên cạnh đó,  $\text{MoO}_3\text{NPs}$  đã được chứng minh dễ hấp thu, tích lũy,

chuyển vị và chuyển hóa nhanh trong cơ thể thực vật [8, 9]. Tuy nhiên, so với các nano kim loại khác, các nghiên cứu ứng dụng  $\text{MoO}_3\text{NPs}$  trong khoa học thực vật nói chung và vi nhân giống thực vật nói riêng vẫn còn hạn chế.

Đặc biệt, cho đến nay vẫn chưa có các nghiên cứu ứng dụng hạt nano kim loại nói chung và  $\text{MoO}_3\text{NPs}$  nói riêng vào vi nhân giống cây hoa Cúc với vai trò như một nguồn dinh dưỡng thay thế có lợi cho sự sinh trưởng và phát triển của cây. Do đó, trong nghiên cứu này, lần đầu tiên thay thế muối natri molybdate dehydrat ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) bằng  $\text{MoO}_3\text{NPs}$  trong môi trường nuôi cấy MS [15] nhằm đánh giá tác động của  $\text{MoO}_3\text{NPs}$  lên khả năng sinh trưởng và phát triển của cây hoa Cúc được ghi nhận. Ngoài ra, nghiên cứu này còn đánh giá khả năng hấp thu khoáng và hoạt động của các enzyme chống oxy hóa.

## 2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Vật liệu thực vật

Chồi *in vitro* một tháng tuổi của cây hoa Cúc được nuôi cấy trên môi trường trong nghiên cứu của T. Murashige và cs (1962) [16] (Sigma-Aldrich, Mỹ) được bổ sung 8 g/l agar (Việt Xô, Việt Nam), 30 g/l sucrose và không có chất điều hòa sinh trưởng thực vật (PGRs) được sử dụng làm vật liệu ban đầu.

### 2.2. Dung dịch nano molybdenum trioxide

Dung dịch  $\text{MoO}_3\text{NPs}$  (kích thước hạt nano trung bình từ 20 đến 60 nm) được cung cấp bởi Viện Công nghệ Môi trường. Nồng độ của dung dịch  $\text{MoO}_3\text{NPs}$  ban đầu là 500 mg/l.

### 2.3. Ảnh hưởng của $\text{MoO}_3\text{NPs}$ lên khả năng sinh trưởng và phát triển của chồi cây hoa Cúc nuôi cấy *in vitro*

Chồi ngọn của cây hoa Cúc *in vitro* 1 tháng tuổi (1 cm) với 1 cặp lá được nuôi cấy trên môi trường MS thay thế  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  bằng  $\text{MoO}_3\text{NPs}$  ở các nồng độ khác nhau (37,25; 74,5; 149; 223,5 và 298  $\mu\text{l/l}$  tương ứng với 1/4, 1/2, 1, 3/2 và 2 lần nồng độ  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  có trong môi trường MS cơ bản). Đối chứng âm (-) là môi trường MS đã loại bỏ muối  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  và đối chứng dương (+) là môi trường MS cơ bản. Các chỉ tiêu như số lượng chồi/mẫu, chiều cao chồi (cm), số lá, số đốt, chiều dài lá (cm), SPAD ( $\text{nmol/cm}^2$ ) và khối lượng tươi (g) được ghi nhận sau 30 ngày nuôi cấy.

### 2.4. Xác định hoạt tính enzyme chống oxy hóa bằng phương pháp quang phổ tử ngoại (UV-Vis)

#### 2.4.1. Chuẩn bị dung dịch thử

Đầu tiên, 0,3 g mẫu chồi cây hoa Cúc tươi được nghiền thành bột bằng nitor lỏng, sau đó đồng nhất hóa bằng cách phân tán siêu âm trong 2 ml dung dịch đệm photphat 0,1 M (pH 7,4) chứa 0,1 mM Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid (EDTA) để chiết xuất superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) và ascorbate peroxidase (APX). Sau khi chuyển sang ống ly tâm, mỗi chất đồng nhất được ly tâm ở tốc độ 15.000×g trong 20 phút ở 4°C. Chất nổi phía trên được thu thập và bảo quản trên đá lạnh để đánh giá hoạt động của các enzyme chống oxy hóa.

#### 2.4.2. Hoạt động SOD

Phân tích hoạt độ SOD được thực hiện bằng phương pháp được mô tả bởi S. Marklund và cs (1974) [17], trong đó pyrogallol trải qua quá trình oxy hóa trong môi trường kiềm với sự có mặt của oxy trong không khí, tạo ra sản phẩm hấp thụ tối đa ở bước sóng 320 nm. Để ngăn pyrogallol tự oxy hóa, SOD trong mẫu xúc tác cho phản ứng phân hủy các gốc peroxide (-O-O-). Hoạt tính SOD trong mẫu được biểu thị bằng tỷ lệ ức chế. Sự thay đổi độ hấp thụ ở bước sóng 320 nm được sử dụng để tính toán đơn vị hoạt động của enzyme (U), tương đương với mức ức chế 50% quá trình tự oxy hóa pyrogallol. Điều này được tính toán bằng công thức sau: đơn vị enzyme (U/g protein) = (% bị ức chế/50) × tỷ lệ pha loãng.

#### 2.4.3. Hoạt động CAT

Phân tích hoạt độ CAT của mẫu thử được thực hiện theo phương pháp của L. Goth (1991) [18], mẫu thử tiếp xúc với 100 μl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 65 mM trong 2 phút, sau đó phần H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> còn sót lại được trộn với 100 μl NH<sub>4</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> để tạo ra phức hợp màu vàng ổn định có khả năng hấp thụ tốt nhất ở nhiệt độ 405 nm (một đơn vị hoạt tính CAT U/g prot tương đương với 1 μmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> thủy phân trong 1 phút).

#### 2.4.4. Hoạt động APX

Phương pháp của Y. Nakano và cs (1981) [19] được sử dụng để tính toán hoạt độ APX. Sự hấp thụ APX tối đa ở bước sóng 290 nm bị giảm và bị oxy hóa bởi APX trong mẫu. Độ hấp thụ APX tối đa (290 nm) trong 3 phút với sự có mặt của 0,5 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> được sử dụng để xác định đơn vị hoạt độ APX (U). Lượng APX bị oxy hóa được xác định trực tiếp bằng hệ số hấp thụ 2,8 mM/cm. Lượng APX cần thiết để oxy hóa 1 m ascorbate trong 1 phút trong điều kiện thí nghiệm được gọi là đơn vị hoạt độ enzyme (U/g prot).

### 2.5. Ảnh hưởng của dư lượng MoO<sub>3</sub>NPs trong mẫu cây lên khả năng ra rễ của cây hoa Cúc nuôi cấy *in vitro*

Chồi cây hoa Cúc thu được từ thí nghiệm trước được chuyển sang môi trường MS không có Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O và PGRs, để đánh giá ảnh hưởng của dư lượng MoO<sub>3</sub>NPs đến khả năng ra rễ. Chiều cao cây (cm), số lá, số rễ, chiều dài rễ (cm), SPAD (nmol/cm<sup>2</sup>) và khối lượng tươi (mg) được ghi nhận sau 15 ngày nuôi cấy.

### 2.6. Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử

Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS) được sử dụng để đánh giá sự hấp thụ kali (K), canxi (Ca), magie (Mg), sắt (Fe), đồng (Cu) và dư lượng Mo của chồi cây hoa Cúc sau 30 ngày nuôi cấy theo quy trình của Y. Kojuncu và cs (2004) [20]. Các mẫu phân tích được chuyển hóa thành các nguyên tử tự do hoặc hơi ion bằng nguồn năng lượng phù hợp sau khi môi trường nuôi cấy được thu gom và phân hủy bằng axit HNO<sub>3</sub>/HCl (tỷ lệ 3:1). Phương pháp vô cơ ướt được sử dụng để phân tích dư lượng khoáng chất đa lượng và được đo bằng AAS-6650 (Shimadzu, Nhật Bản). Dư lượng trong môi trường nuôi cấy quyết định lượng chất dinh dưỡng và hạt nano được hấp thụ. Lớp vỏ bên ngoài của vật liệu nano giúp ổn định chúng, khiến chúng trở thành vật liệu có cấu trúc tương đối ổn định. Do đó, các phương pháp vô cơ ướt đã được sử dụng để tách MoO<sub>3</sub>NPs thành dạng nguyên tử, nhằm đánh

giá dư lượng hạt nano trong môi trường nuôi cấy. Tiếp theo, cường độ hấp thụ của các nguyên tử Mo được đo, số lượng dư lượng hạt nano trong môi trường được xác định và tốc độ hấp thụ MoO<sub>3</sub>NPs của hoa Cúc được tính toán.

### 2.7. Ảnh hưởng của dư lượng MoO<sub>3</sub>NPs lên quá trình ra rễ của cây hoa Cúc nuôi cấy *in vitro*

Chồi cây hoa cúc có nguồn gốc từ nuôi cấy trên môi trường thay thế Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O bằng MoO<sub>3</sub>NPs được chuyển sang môi trường MS không có Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O và PGRs, để đánh giá ảnh hưởng của dư lượng MoO<sub>3</sub>NPs lên khả năng hình thành rễ *in vitro* và sinh trưởng của cây con. Số ngày cảm ứng ra rễ, số rễ, chiều dài rễ (cm), trọng lượng tươi (g), trọng lượng khô (g) và tỷ lệ tích lũy chất khô được ghi nhận sau 15 ngày nuôi cấy.

$$\text{Tỷ lệ tích lũy chất khô (\%)} = \frac{\text{Trọng lượng khô (g)}}{\text{Trọng lượng tươi (g)}} \times 100\%$$

### 2.8. Điều kiện nuôi cấy

Các mẫu được nuôi cấy *in vitro* trong điều kiện được kiểm soát trong phòng nuôi cấy có nhiệt độ 25±2°C và độ ẩm tương đối 55-60%. Ánh sáng huỳnh quang cung cấp cường độ 40-45 μmol m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> với chu kỳ quang học là 12 giờ mỗi ngày.

### 2.9. Phân tích thống kê

Tất cả các thí nghiệm trong nghiên cứu này được lặp lại 3 lần với 30 mẫu/nghiệm thức. Tất cả số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2016 và phần mềm phân tích thống kê SPSS 20.0 theo phương pháp Duncan's test với p<0,05 [21].

## 3. Kết quả và bàn luận

### 3.1. Khả năng sinh trưởng và phát triển của chồi cây hoa Cúc nuôi cấy trên môi trường thay thế Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O bằng MoO<sub>3</sub>NPs

Sau 30 ngày nuôi cấy, kết quả cho thấy, ở nghiệm thức (-), sự vắng mặt của Mo đã gây ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của chồi cây hoa Cúc; chồi thu được từ nghiệm thức này có kích thước nhỏ, hình thành mô sẹo dưới gốc, lá nhỏ, cụp và vàng (hình 1). Khi nồng độ MoO<sub>3</sub>NPs trong môi trường tăng lên (37,25-149 μg/l) thì khả năng sinh trưởng và phát triển của các chồi cây hoa Cúc cũng tốt hơn. Đặc biệt, ở nghiệm thức 149 μg/l MoO<sub>3</sub>NPs, các chỉ tiêu như chiều cao chồi (5,4 cm), số lá (14,00 lá/chồi), số đọt (8,67 đọt/chồi), chiều dài lá (1,30 cm), SPAD (31,17 nmol/cm<sup>2</sup>) và khối lượng tươi (0,98 g) thu được tối ưu nhất khi so sánh với các nghiệm thức khác. Tuy nhiên, khi nồng độ MoO<sub>3</sub>NPs quá cao (223,5-298 μg/l), khả năng sinh trưởng của các chồi Cúc lại giảm dần (bảng 1).



Hình 1. Ảnh hưởng của MoO<sub>3</sub>NPs lên khả năng sinh trưởng và phát triển của các chồi cây hoa Cúc sau 4 tuần nuôi cấy [(-); (+); 37,25; 74,5; 149; 223,5 và 298 μg/l; trái sang phải]. Thanh bar = 2 cm; (-) Đối chứng âm: môi trường MS loại bỏ muối Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O; (+) Đối chứng dương: môi trường MS cơ bản.

**Bảng 1.** Ảnh hưởng của MoO<sub>3</sub>NPs lên khả năng sinh trưởng và phát triển của chồi cây hoa Cúc sau 30 ngày nuôi cấy.

Nghiệm thức (µg/l)	Số chồi	Cao chồi (cm)	Số lá	Số đốt	Chiều dài lá (cm)	SPAD (nmol/cm <sup>2</sup> )	Khối lượng tươi (g)
(-)	1,00a*	3,17b	8,67bc	3,67c	1,10ab	14,00b	0,23b
(+)	1,67a	4,90a	12,00ab	4,67c	1,17ab	29,07a	0,63ab
37,25	1,67a	3,67b	7,67c	7,00b	1,17ab	15,00b	0,26b
74,5	1,67a	5,13a	10,33ab	8,00ab	1,20ab	29,60a	0,74a
149	3,00a	5,40a	14,00a	8,67a	1,30a	31,17a	0,98a
223,5	1,00a	3,10b	8,67bc	5,00c	1,07ab	25,93ab	0,51ab
298	1,00a	2,93b	6,67c	4,33c	0,97b	24,07ab	0,19b

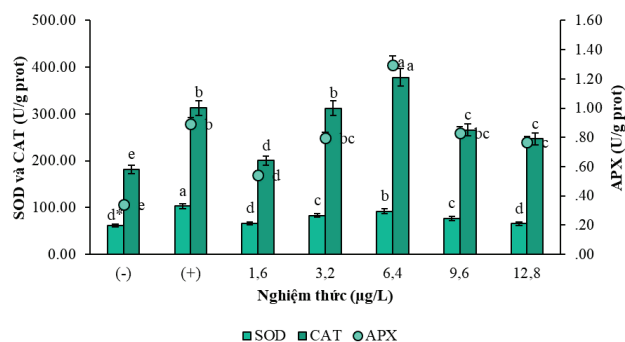
\*Các chữ cái khác nhau (a, b...) trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p<0,05 (Duncan's test); (-) Đối chứng âm: môi trường MS loại bỏ muối Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O; (+) Đối chứng dương: môi trường MS cơ bản.

Mo, một ion kim loại thiết yếu được thực vật hấp thụ tự nhiên, là thành phần quan trọng của các enzyme như nitrat reductase, xanthine dehydrogenase và aldehyde oxidase trong thực vật [7]. Nồng độ của Mo trong đất nông nghiệp dao động từ 0,2 đến 5,0 mg/kg [22] và nồng độ cao hơn 1000 mg/kg (hoặc 1000 ppm) trong khối lượng khô có thể gây độc và làm giảm chất lượng cây trồng [23]. Thiếu Mo gây ra sự tích tụ nitrat trong thực vật [24]. Hơn nữa, các nghiên cứu trước đây cho thấy rằng, MoO<sub>3</sub>NPs có thể được sử dụng làm phân bón bổ sung các nguyên tố vi lượng để dễ dàng cung cấp Mo cho cây trồng trong điều kiện thiếu hụt chất vi lượng này [25]. Mặc dù có rất ít nghiên cứu về MoO<sub>3</sub>NPs, nhưng chúng đã cho thấy tác dụng tích cực đối với sự nảy mầm của hạt, hoạt động của enzyme chống oxy hóa [26], sự đa dạng của hệ vi sinh vật vùng rễ [27], phát sinh hình thái, tăng khả năng hấp thu dinh dưỡng và cân bằng ion của thực vật [28].

Những phát hiện của nghiên cứu này đã góp phần củng cố và làm rõ tác động của MoO<sub>3</sub>NPs đối với sự sinh trưởng và phát triển của cây con, làm sáng tỏ vai trò tiềm năng của MoO<sub>3</sub>NPs trong việc thay thế cho Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O trong môi trường nuôi cấy truyền thống (hình 1), từ đó giúp bổ sung vi lượng ở dạng nano nhằm cải thiện khả năng sinh trưởng và phát triển của cây trồng trong điều kiện nuôi cấy *in vitro*.

### 3.2. Enzyme chống oxy hóa

Tác động tối ưu của MoO<sub>3</sub>NPs trong việc tăng cường hoạt động của các enzyme chống oxy hóa cũng được ghi nhận trong nghiên cứu này. Hoạt tính của enzyme chống oxy hóa ở nghiệm thức bổ sung 149 µg/l MoO<sub>3</sub>NPs tốt hơn so với nghiệm thức đối chứng (+) (trừ SOD) và các nghiệm thức khác. Sự tăng trưởng của cây cũng giảm tương tự khi Mo không được bổ sung vào môi trường dinh dưỡng cũng phản ánh hoạt động của hệ enzyme chống oxy hóa giảm mạnh. Ngoài ra, hoạt động của các enzyme này bị ức chế khi có quá nhiều Mo (hình 2). Kết quả này cho thấy, tác dụng tích cực không chỉ đối với sự tăng trưởng mà còn đối với hoạt độ enzyme chống oxy (hình 2). Cụ thể, tác dụng tích cực của Mo cao hơn đáng kể khi nó ở dạng hạt nano so với dạng ion.



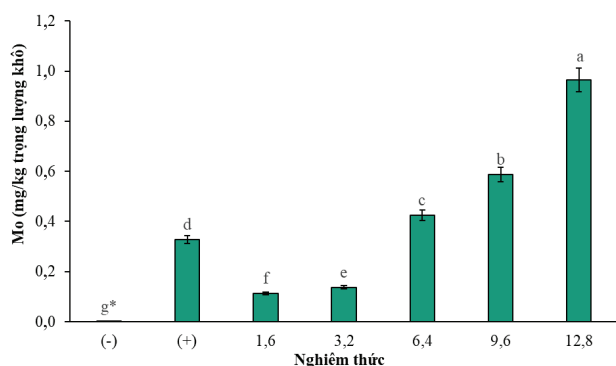
**Hình 2.** Hoạt tính của enzyme chống oxy hóa SOD, APX và CAT trong chồi cây hoa Cúc sau 30 ngày nuôi cấy trên môi trường MS thay thế muối Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O bằng MoO<sub>3</sub>NPs. (-) Đối chứng âm: môi trường MS loại bỏ muối Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O; (+) Đối chứng dương: môi trường MS cơ bản; \*Các giá trị với các chữ cái khác nhau có sự khác biệt đáng kể giữa các nghiệm thức.

Trong quá trình nuôi cấy thực vật, các yếu tố môi trường bất lợi tồn tại và tạo ra một lượng lớn các loại oxy phản ứng (ROS) bao gồm hydro peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), oxy nhóm đơn (<sup>-</sup>O<sub>2</sub>) và các gốc hydroxyl (<sup>•</sup>OH). ROS phá vỡ nhiều quá trình sinh học bằng cách thay đổi đường truyền tín hiệu nội bào [29]. Ví dụ, ROS gây ra quá trình peroxid hóa lipid làm tổn thương màng tế bào. Nghiêm trọng hơn, ROS có thể làm hư tổn cấu trúc của chuỗi DNA bằng cách phản ứng với các phân tử sinh học tạo ra DNA [30]. Do đó, cải thiện hoạt động của hệ thống enzyme chống oxy hóa là một quá trình sinh học quan trọng để cải thiện sự phát triển của thực vật; hơn nữa, sự cải thiện này đặc biệt quan trọng đối với khả năng chống chịu stress của cây con *in vitro* trong giai đoạn thích nghi ở điều kiện *ex vitro*. Mo có tác động lên các enzyme chịu trách nhiệm cho quá trình dị hóa purine, sinh tổng hợp ureide, acid abscisic và oxy hóa sulfite trong cây họ Đậu [11, 31]. Việc sử dụng phân bón Mo thông thường, chẳng hạn như ammonium heptamolybdate, ammonium dimolybdate và natri molybdate, gây lo ngại do độ tinh khiết của chúng thấp, từ đó đưa các hợp chất khác vào đất gây sự tích tụ và gây tác động có hại đến cây trồng. Trong khi đó, MoO<sub>3</sub>NPs có độ tinh khiết 99%, làm giảm khả năng tích lũy các yếu tố không mong muốn như các hợp chất Mo khác [32, 33]. Ngoài ra, Mo cũng cần thiết cho quá trình sinh tổng hợp Moco và enzyme molybdo, ảnh hưởng đến quá trình chuyển đổi năng lượng và điều chỉnh biểu hiện gen [34, 35].

### 3.3. Dư lượng Mo và khả năng hấp thụ khoáng của các chồi cây hoa Cúc nuôi cấy trên môi trường thay thế Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O bằng MoO<sub>3</sub>NPs

Kết quả phân tích cho thấy, dư lượng Mo trong chồi cây hoa Cúc tăng dần theo nồng độ Mo có trong môi trường nuôi cấy (hình 3). Trong nghiệm thức (-), Mo vẫn được phát hiện ngay cả khi mẫu được nuôi cấy trên môi trường không có Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O; điều này cho thấy sự tích tụ Mo vẫn còn sót lại từ giai đoạn nuôi cấy trước đó. Tuy nhiên, nồng độ Mo này không đủ cho quá trình sinh trưởng và phát triển của chồi

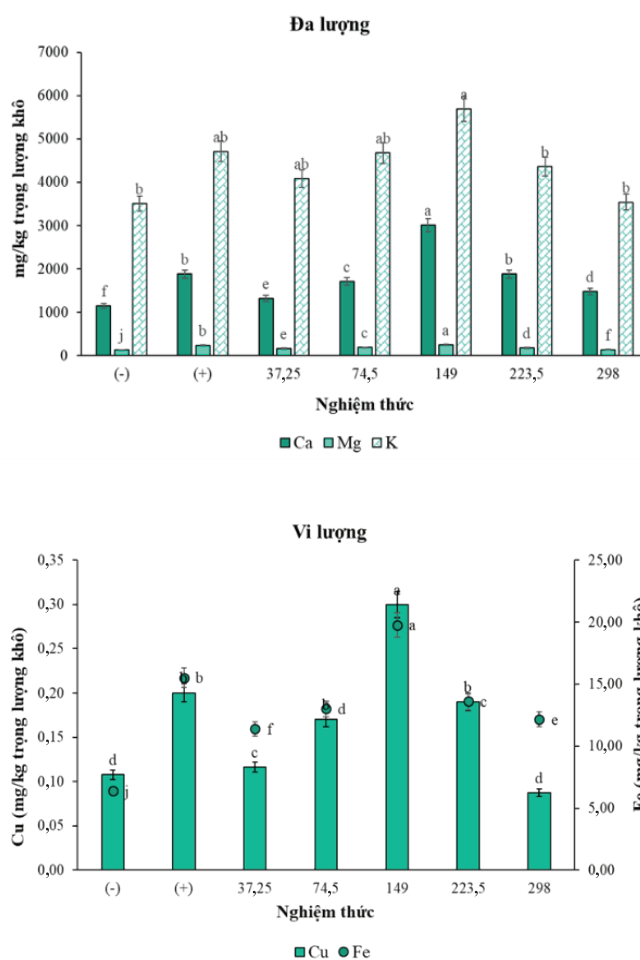
cây hoa Cúc (hình 1). Ngoài ra, nghiên cứu này còn chứng minh rằng các chất dinh dưỡng được hấp thụ hiệu quả và nhanh chóng hơn bởi các mẫu thực vật khi ở kích thước hạt nano (hình 3). Những phát hiện này cho thấy rằng, việc thay thế muối  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  bằng  $\text{MoO}_3\text{NPs}$  trong môi trường nuôi cấy đã giúp tăng cường khả năng hấp thụ, cung cấp nguồn dinh dưỡng vi lượng cho thực vật để hỗ trợ quá trình sinh trưởng và các hoạt động quan trọng khác.



**Hình 3.** Dư lượng Mo trong mẫu chồi ngọn cây hoa Cúc được nuôi cấy trên môi trường MS thay thế muối  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  bằng  $\text{MoO}_3\text{NPs}$ . (-) Đối chứng âm: môi trường MS loại bỏ muối  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; (+) Đối chứng dương: môi trường MS cơ bản.

Hơn nữa, tác động tích cực của Mo đối với khả năng hấp thụ chất dinh dưỡng đã được quan sát thấy trong nghiên cứu này (hình 4). Kết quả cho thấy, khả năng hấp thụ dinh dưỡng của chồi cây hoa Cúc ở nghiệm thức (-) là thấp nhất so với các nghiệm thức còn lại. Ngoài ra, khả năng hấp thụ khoáng Ca, Mg, K, Cu, Fe tăng dần theo nồng độ  $\text{MoO}_3\text{NPs}$  trong môi trường nuôi cấy (37,25-149  $\mu\text{g/l}$ ). Kết quả tối ưu nhất được quan sát thấy ở nghiệm thức 149  $\mu\text{g/l}$   $\text{MoO}_3\text{NPs}$ . Mặc dù nồng độ Mo trong nghiệm thức (+) tương đương với nghiệm thức 149  $\mu\text{g/l}$   $\text{MoO}_3\text{NPs}$ , tuy nhiên hiệu quả hấp thụ chất dinh dưỡng trong nghiệm thức này lại không tối ưu (hình 4). Vì vậy, ở kích thước nano, Mo có tác động tối ưu hơn đến khả năng hấp thụ khoáng của cây trồng. Tuy nhiên, nồng độ  $\text{MoO}_3\text{NPs}$  quá cao (223,5 và 298  $\mu\text{g/l}$ ) lại gây độc đối với chồi cây hoa Cúc, làm giảm khả năng hấp thụ chất dinh dưỡng ở đối tượng thực vật này (hình 4).

Các chất dinh dưỡng thiết yếu bao gồm N, P, K, Cu, Fe, Mn, Zn và Mo rất quan trọng cho sự phát triển và năng suất tối ưu của cây trồng [36, 37]. Sự thiếu hụt các chất dinh dưỡng đa lượng và vi lượng này làm gián đoạn sự phát triển của cây trồng, dẫn đến sản lượng cây trồng giảm đáng kể [38]. Mo làm tăng hoạt động của enzyme chống oxy hóa, sản xuất ABA, đồng hóa N và Fe, dẫn đến cải thiện sự phát triển của thực vật và khả năng chống lại stress oxy hóa [39, 40]. Nồng độ Mo không đủ có thể làm giảm hiệu quả của phân bón nitơ (N), dẫn đến năng suất cây trồng và trái cây giảm, đặc trưng là lá bất thường và tăng trưởng còi cọc [41]. Mo không thể thiếu trong quá trình chuyển hóa N, bao gồm

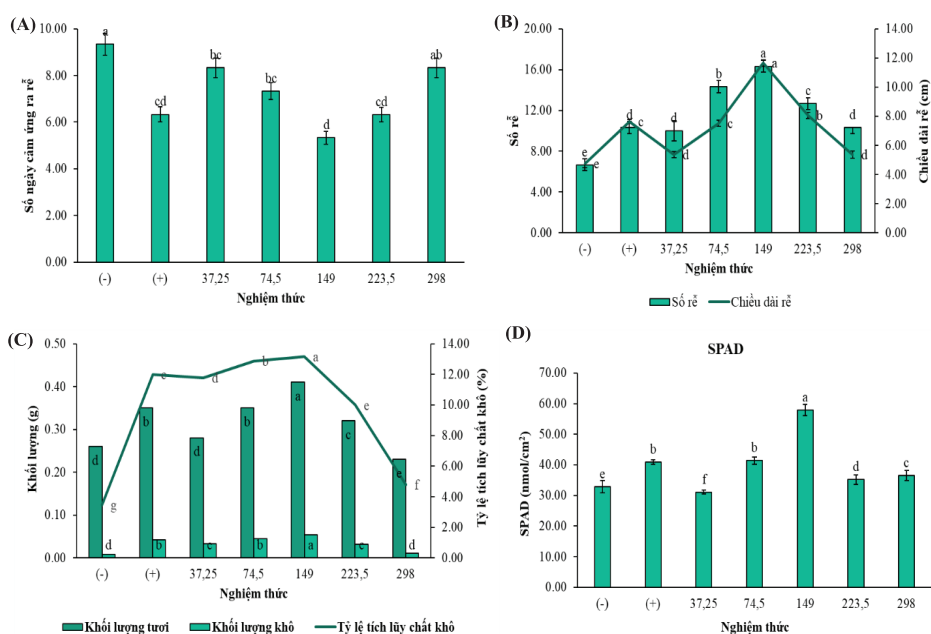


**Hình 4.** Khả năng hấp thụ đa lượng (Ca, Mg, K) và vi lượng (Cu, Fe) của chồi cây hoa Cúc nuôi cấy trên môi trường MS thay thế muối  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  bằng  $\text{MoO}_3\text{NPs}$ . (-) Đối chứng âm: môi trường MS loại bỏ muối  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; (+) Đối chứng dương: môi trường MS cơ bản.

cố định N, khử nitrat và đồng hóa N [29]. Ở cây Cà chua, Mo hỗ trợ hấp thụ Fe; trong khi đó, ở cây Lúa, khi được phát triển trong môi trường giàu Fe sẽ tăng cường khả năng hấp thụ Mo [34, 35]. Ngoài ra, vai trò của Mo lên sự sinh trưởng, phát triển và ra hoa của cây hoa Cúc trong điều kiện *ex vitro* cũng đã được nghiên cứu [42]. Ở hoa Cúc, lượng Mo thích hợp sẽ hỗ trợ sự phát triển của hạt giống khỏe mạnh. Hơn thế nữa, Mo ảnh hưởng đến quá trình chuyển hóa N, có tác động gián tiếp đến quá trình quang hợp của thực vật [43].

### 3.4. Đánh giá quá trình ra rễ của cây hoa Cúc từ nuôi cấy trên môi trường bổ sung $\text{MoO}_3\text{NPs}$

Sau 15 ngày nuôi cấy, dư lượng  $\text{MoO}_3\text{NPs}$  còn lại trong mẫu chồi đã ảnh hưởng đến giai đoạn ra rễ *in vitro* của cây hoa Cúc (hình 5 và 6). Ở tất cả các chỉ tiêu (chiều cao cây, số rễ, chiều dài rễ, SPAD, khối lượng tươi, khối lượng khô và tỷ lệ tích lũy chất khô) của nghiệm thức 149  $\mu\text{g/l}$   $\text{MoO}_3\text{NPs}$  vẫn cho thấy ưu thế ở giai đoạn ra rễ. Điều thú vị là, mặc dù dư lượng Mo trong mẫu ở nghiệm thức (+) cao hơn so với các nghiệm thức 37,25



**Hình 5. Ảnh hưởng của dư lượng MoO<sub>3</sub>NPs lên khả năng ra rễ của cây hoa Cúc sau 15 ngày nuôi cấy.** (A) Số ngày cảm ứng ra rễ; (B) Số rễ và chiều dài rễ; (C) Khối lượng tươi, khô và tỷ lệ tích lũy chất khô; (D) SPAD. (-) Đối chứng âm: môi trường MS loại bỏ muối Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O; (+) Đối chứng dương: môi trường MS cơ bản.

và 74,5 µg/l, khả năng ra rễ và sinh trưởng của những cây này không tốt bằng những cây có nguồn gốc từ môi trường thay thế Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O bằng MoO<sub>3</sub>NPs. Cây con ở nghiệm thức (+) có màu vàng, lá nhỏ, cụp; trong khi đó, ở các nghiệm thức thay thế Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O bằng MoO<sub>3</sub>NPs cây con có màu xanh đậm, lá to (hình 6).

Sự phát triển của hệ thống rễ rất quan trọng để cây lấy nước, hấp thụ chất dinh dưỡng từ các nguồn phân bố không đều, duy trì sự ổn định về cấu trúc và phản ứng với các yếu tố sinh học và phi sinh học. Sự phát triển của hệ thống rễ bị ảnh hưởng đáng kể bởi các tín hiệu N khác nhau và nguồn N có trong vùng rễ. Mo rất quan



**Hình 6. Ảnh hưởng của dư lượng MoO<sub>3</sub>NPs lên khả năng ra rễ của cây hoa Cúc sau 15 ngày nuôi cấy.** Thanh bar = 2 cm. (-) Đối chứng âm: môi trường MS loại bỏ muối Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O; (+) Đối chứng dương: môi trường MS cơ bản.

trọng cho quá trình đồng hóa và chuyển hóa nitơ. Nghiên cứu của M. Imran và cs (2021) [44] đã chỉ ra rằng, Mo góp phần đáng kể vào việc tăng cường sự phát triển của hệ thống rễ cây Lúa mì bằng cách thúc đẩy sản xuất oxit nitric, tạo điều kiện cho sự hấp thụ và đồng hóa N hiệu quả, cũng như điều chỉnh các biểu hiện gen nitrate transporter.

#### 4. Kết luận

Nghiên cứu này đã chứng minh được vai trò của MoO<sub>3</sub>NPs trong việc thay thế cho Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O trong môi trường nuôi cấy cây hoa Cúc trong các giai đoạn sinh trưởng, phát triển và ra rễ. Tùy thuộc vào từng giai đoạn sinh trưởng, nồng độ MoO<sub>3</sub>NPs tối ưu (149 µg/l) sẽ tăng cường khả năng sinh trưởng, sự hấp thụ các chất dinh dưỡng và hoạt động của enzyme chống oxy hóa của mẫu nuôi cấy hoa Cúc *in vitro*.

#### LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được hỗ trợ kinh phí bởi Chương trình phát triển nhóm nghiên cứu xuất sắc hạng I về “Nghiên cứu ảnh hưởng của một số hạt nano kim loại lên sự phát sinh hình thái, sinh trưởng - phát triển, sinh lý - sinh hóa và tích lũy hợp chất thứ cấp của một số cây trồng có giá trị kinh tế nuôi cấy *in vitro*” theo số mã số đề tài NCXS01.03/22-24 của Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] M. Mekapogu, O.K. Kwon, H.Y. Song, et al. (2022), “Towards the improvement of ornamental attributes in chrysanthemum: Recent progress in biotechnological advances”, *International Journal of Molecular Sciences*, **23**(20), DOI: 10.3390/ijms232012284.

[2] A. Tam (2023), “Earned more than 55 million USD from selling chrysanthemums to foreign customers”, *VietNamNet.vn*, <https://vietnamnet.vn/thu-hon-55-trieu-usd-tu-ban-hoa-cuc-cho-khach-tay-2109695.html>, accessed 15 May 2023 (in Vietnamese).

[3] N. Miler, I. Jedrzejczyk, S. Jakubowski, et al. (2021), “Ovaries of chrysanthemum irradiated with high-energy photons and high-energy electrons can regenerate plants with novel traits”, *Agronomy*, **11**, DOI: 10.3390/agronomy11061111.

[4] H.T. Tung, N.B. Nam, N.P. Huy, et al. (2018), “A system for large scale production of chrysanthemum using microponics with the supplement of silver nanoparticles under light-emitting diodes”, *Scientia Horticulturae*, **232**, pp.153-161, DOI: 10.1016/j.scienta.2017.12.063.

[5] A. Tymoszyk, N. Miler (2019), “Silver and gold nanoparticles impact on *in vitro* adventitious organogenesis in chrysanthemum, gerbera and Cape Primrose”, *Scientia Horticulturae*, **257**, DOI: 10.1016/j.scienta.2019.108766.

[6] D.H. Kim, J. Gopal, I. Sivanesan (2017), “Nanomaterials in plant tissue culture: The disclosed and undisclosed”, *The Royal Society of Chemistry*, **7**, pp.36492-36505, DOI: 10.1039/C7RA07025J.

- [7] A.V. Barker, D.J. Pilbeam (2015), *Handbook of Plant Nutrition*, CRC Press, pp.110-121.
- [8] T. Kruse, C. Gehl, M. Geisler, et al. (2010), "Identification and biochemical characterization of molybdenum cofactor-binding proteins from *Arabidopsis thaliana*", *Journal of Biological Chemistry*, **285**(9), pp.6623-6635, DOI: 10.1074/jbc.M109.060640.
- [9] R.R. Mendel, S. Leimkühler (2015), "The biosynthesis of the molybdenum cofactors", *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, **20**, pp.337-347, DOI: 10.1007/s00775-014-1173-y.
- [10] F.J. Maathuis, E. Diatloff (2013), "Roles and functions of plant mineral nutrients", *Methods in Molecular Biology*, pp.1-21, DOI: 10.1007/978-1-62703-152-3\_1.
- [11] B.N. Kaiser, K.L. Gridley, B.J. Ngaire, et al. (2005), "The role of molybdenum in agricultural plant production", *Annals of Botany*, **96**(5), pp.745-754, DOI: 10.1093/aob/mci226.
- [12] M.H. Siddiqui, M.H.A. Whaibi, F. Mohammad (2015), *Nanotechnology and Plant Sciences*, Springer, pp.289-311 (in Switzerland).
- [13] K. Gopinath, S. Gowri, V. Karthika, et al. (2014), "Green synthesis of gold nanoparticles from fruit extract of Terminalia arjuna, for the enhanced seed germination activity of *Gloriosa superba*", *Journal of Nanostructure in Chemistry*, **4**(3), pp.1-11, DOI: 10.1007/s40097-014-0115-0.
- [14] J.P. Giraldo, M.P. Landry, S.M. Faltermeier, et al. (2014), "Plant nanobionics approach to augment photosynthesis and biochemical sensing", *Nature Materials*, **13**(5), pp.400-408, DOI: 10.1038/nmat3947.
- [15] H. Zhang, R. Wang, Z. Chen, et al. (2022), "Nanoscale molybdenum oxide improves plant growth and increases nitrate utilisation in rice (*Oryza sativa* L.)", *Food and Energy Security*, **11**(2), DOI: 10.1002/fes3.383.
- [16] T. Murashige, F. Skoog (1962), "A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures", *Physiologia Plantarum*, **15**(3), pp.473-497, DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.
- [17] S. Marklund, G. Marklund (1974), "Involvement of the superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase", *European Journal of Biochemistry*, **47**(3), pp.469-474, DOI: 10.1111/j.1432-1033.1974.tb03714.x.
- [18] L. Goth (1991), "A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range", *Clinica Chimica Acta*, **196**(2-3), pp.143-151, DOI: 10.1016/0009-8981(91)90067-M.
- [19] Y. Nakano, K. Asada (1981), "Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts", *Plant Cell Physiology*, **22**(5), pp.867-880, DOI: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232.
- [20] Y. Kojuncu, J.M. Bundalevska, Ü. Ay, et al. (2004), "Atomic absorption spectrometry determination of Cd, Cu, Fe, Ni, Pb, Zn, and TI traces in seawater following flotation separation", *Separation Science and Technology*, **39**(11), pp.2751-2765, DOI: 10.1081/SS-200026751.
- [21] D.B. Duncan (1955), "Multiple range and multiple F tests", *Biometrics*, **11**(1), pp.1-42, DOI: 10.2307/3001478.
- [22] F. Scheffer, P. Schachtschabel (2002), *Textbook of Soil Science*, Auflage Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, German, **15**, 593pp.
- [23] H. Marschner (2012), *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*, 3<sup>rd</sup> Edition, Academic Press, DOI: 10.1016/C2009-0-63043-9.
- [24] M.G. Moussa, X. Sun, M.A. Ismael, et al. (2022), "Molybdenum-induced effects on grain yield, macro-micro-nutrient uptake, and allocation in Mo-inefficient winter wheat", *Journal of Plant Growth Regulation*, **41**(4), pp.1516-1531, DOI: 10.1007/s00344-021-10397-0.
- [25] P.K. Sharma, A.S. Raghubanshi, K. Shah (2021), "Examining the uptake and bioaccumulation of molybdenum nanoparticles and their effect on antioxidant activities in growing rice seedlings", *Environmental Science and Pollution Research International*, **28**, pp.13439-13453, DOI: 10.1007/s11356-020-11511-7.
- [26] N. Taran, L. Batsmanova, O. Kosyuk, et al. (2016), "Colloidal nanomolybdenum influence upon the antioxidative reaction of chickpea plants (*Cicer arietinum* L.)", *Nanoscale Research Letters*, **11**, pp.1-5, DOI: 10.1186/s11671-016-1690-4.
- [27] E. Thomas, I. Rathore, J. Tarafdar (2017), "Bioinspired production of molybdenum nanoparticles and its effect on chickpea (*Cicer arietinum* L.)", *Journal of Bionanoscience*, **11**(2), pp.153-159, DOI: 10.1166/jbns.2017.1425.
- [28] T. Ahmed, M. Noman, M. Rizwan, et al. (2022), "Green molybdenum nanoparticles-mediated bio-stimulation of *Bacillus* sp. strain ZH16 improved the wheat growth by managing in planta nutrients supply, ionic homeostasis and arsenic accumulation", *Journal of Hazardous Materials*, **423**, DOI: 10.1016/j.jhazmat.2021.127024.
- [29] R. Mittler (2002), "Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance", *Trends in Plant Science*, **7**(9), pp.405-410, DOI: 10.1016/s1360-1385(02)02312-9.
- [30] W. Józwiak, B. Politycka (2019), "Effect of selenium on alleviating oxidative stress caused by a water deficit in cucumber roots", *Plants*, **8**(7), DOI: 10.3390/plants8070217.
- [31] R.R. Mendel, G. Schwarz (2011), "Molybdenum cofactor biosynthesis in plants and humans", *Coordination Chemistry Reviews*, **255**(9-10), pp.1145-1158, DOI: 10.1016/j.ccr.2011.01.054.
- [32] A. Heidarzade, M. Esmaeili, M. Bahmanyar, et al. (2016), "Response of soybean (*Glycine max*) to molybdenum and iron spray under well-watered and water deficit conditions", *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, **4**(1), pp.37-46, DOI: 10.18006/2015.4(1).37.46.8.
- [33] L.V. Trong, B.B. Thinh, N. Hung (2020), "Impacts of molybdenum on drought tolerance of some maize (*Zea mays* L.) cultivars at seedling stage", *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, **21**(19-20), pp.70-77.
- [34] M.T. Jiménez, A.C. Ampudia, A. Galván, et al. (2013), "Molybdenum metabolism in plants", *Metalomics*, **5**(9), pp.1191-1203, DOI: 10.1039/c3mt00078h.
- [35] F. Bittner (2014), "Molybdenum metabolism in plants and crosstalk to iron", *Frontiers of Plant Science*, **28**(5), DOI: 10.3389/fpls.2014.00028.
- [36] S. Kumar, S. Kumar, T. Mohapatra (2021), "Interaction between macro- and micro-nutrients in plants", *Frontiers of Plant Science*, **12**, DOI: 10.3389/fpls.2021.665583.
- [37] S. Guha, H. Sharma, G.K. Deshwal, et al. (2021), "A comprehensive review on bioactive peptides derived from milk and milk products of minor dairy species", *Food Production, Processing and Nutrition*, **3**(1), DOI: 10.1186/s43014-020-00045-7.
- [38] D.K. Tripathi, S. Singh, S. Singh, et al. (2015), "Micronutrients and their diverse role in agricultural crops: Advances and future prospective", *Acta Physiologiae Plantarum*, **37**, DOI: 10.1007/s11738-015-1870-3.
- [39] M. Zhang, C. Hu, X. Zhao, et al. (2012), "Molybdenum improves antioxidant and osmotic-adjustment ability against salt stress in Chinese cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. *Pekinensis*)", *Plant Soil*, **355**, pp.375-383, DOI: 10.1007/s11104-011-1109-z.
- [40] M.H. Wu, L. Li, N. Liu, et al. (2018), "Molybdenum disulfide (MoS<sub>2</sub>) as a co-catalyst for photocatalytic degradation of organic contaminants: A review", *Process Safety and Environmental Protection*, **118**, pp.40-58, DOI: 10.1016/j.psep.2018.06.025.
- [41] Y. Gao, C. Chen, X. Tan, et al. (2016), "Polyaniline-modified 3D-flower-like molybdenum disulfide composite for efficient adsorption/photocatalytic reduction of Cr (VI)", *Journal of Colloid and Interface Science*, **476**, pp.62-70, DOI: 10.1016/j.jcis.2016.05.022.
- [42] K.R.T. Wood, E.J. Flaherty, A.J. Donetz, et al. (2023), "Improving boron and molybdenum use efficiencies in contrasting cultivars of subirrigated greenhouse-grown pot chrysanthemums", *Plants*, **12**(12), DOI: 10.3390/plants12122348.
- [43] S. Jayakumar, A.K. Abhangrao, R.A. Sarje, et al. (2024), "Critical analysis on effect of micronutrients on flowering plants: A review", *International Journal of Plant & Soil Science*, **36**(6), pp.776-782, DOI: 10.9734/ijpps/2024/v36i64683.
- [44] M. Imran, X. Sun, S. Hussain, et al. (2021), "Molybdenum supply increases root system growth of winter wheat by enhancing nitric oxide accumulation and expression of NRT genes", *Plant Soil*, **459**, pp.235-248, DOI: 10.007/s11104-020-04765-0.