

硫硒钨对钼酸盐吸收及钼酸盐转运子的影响

秦世玉,孙学成,胡承孝,谭启玲

(华中农业大学 资源与环境学院,微量元素研究中心,湖北 武汉 430070)

摘要:为研究硫酸盐、硒酸盐和钨酸盐对甘蓝型油菜钼吸收及钼转运子的影响,通过溶液培养试验,研究了不同竞争离子对甘蓝型油菜生长及钼含量的影响及对预测钼酸盐转运基因表达的影响。结果表明,缺硫处理显著降低单株干物质重和地上部硫含量,同时提高了地上部和地下部钼含量。施硒处理对钼含量影响不大,施钨处理显著降低了钼含量,说明钨对钼吸收具有更高的抑制作用。同时发现,缺钼处理对硫含量没有显著影响。另外,通过测定拟南芥 *MOT1* 和 *MOT2* 同源基因在甘蓝型油菜中表达可以看出,相对于 *Bol001439* 和 *Bal035189*,基因 *Bra007781*、*Bol020963* 和 *Bra011159* 整体在地上部和地下部都具有较高的表达水平。*Bra007781*、*Bol020963* 和 *Bra011159* 主要在 地上部表达。*Bol001439* 和 *Bal035189* 具有较低的表达,但是缺钼显著影响了根部表达。相对于 + Se, + W 处理对 *Bn-MOT1s* 表达量具有较高的影响,对 *BnMOT2s* 具有低的影响。推测 *Bra007781*、*Bol001439* 是钼高亲和转运子,*Bol020963* 和 *Bra011159* 是钼低亲和转运子,*Bra035189* 不参与钼转运,而 *ST5;1* 是一个硫酸盐和钼酸盐共转运子。通过竞争离子对油菜钼营养进行研究且首次对甘蓝型油菜上钼酸盐转运基因进行推测。

关键词:钼;同源基因;硫酸盐;硒酸盐;钨酸盐;甘蓝型油菜

中图分类号:S143.7 文献标识码:A 文章编号:1000-7091(2015)05-0232-07

doi:10.7668/hbxb.2015.05.036

Sulfur-selenium-tungsten Compete the Molybdate Uptake by Modifying the Gene Expression of Predicted Molybdate Transporters

QIN Shi-yu, SUN Xue-cheng, HU Cheng-xiao, TAN Qi-ling

(College of Resources and Environment, Microelements Research Centre of Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Our objective was to explore the effects of sulfur (S), selenium (Se), and tungsten (W) application on growth and molybdenum (Mo) concentrations of oilseed rape and predicted molybdate transporter gene expression were analyzed using hydroponics. The dry weight and shoot S concentration were decreased with S-deficiency, but the Mo concentration was increased slightly. However, the Mo concentration showed no effect with supplied Se, while the Mo level showed lower Mo levels with W treatment. The S concentration was not affect by Mo deficiency. In addition, expression levels of *Arabidopsis thaliana* *MOT1* and *MOT2* homologous genes in all treatments were reported and indicate *Bra007781*, *Bol020963*, and *Bra011159* had a higher expression levels than *Bol001439* and *Bal035189* in both shoot and root. And the *Bra007781*, *Bol020963*, and *Bra011159* gene were expressed mainly in shoot. *Bol001439* and *Bal035189* were poorly expressed except root under Mo-deficient conditions. *Bra007781* and *Bol001439* were speculated the high-affinity molybdate transporter, and *Bol020963* and *Bra011159* were speculated the low-affinity molybdate transporter. *Bra035189* was not taken into transport process. *ST5;1* was speculated a co-transporter in sulfate and molybdate transporter. In conclusion, competing ions (S, Se, and W) application had a marked impact on Mo distribution and accumulation, which was the first investigation of effect of S, Se, and W on Mo transporter homologous genes expression of rapeseed.

Key words: Molybdenum; Homologous genes; Sulfur; Selenium; Tungsten; *Brassica napus*

钼是高等植物必需的微量元素^[1-2]。钼在植物体内没有生物活性,只有插入到钼蝶呤(MPT)中形

收稿日期:2015-07-22

基金项目:“十二五”国家科技支撑计划课题(2014BAD14B02)

作者简介:秦世玉(1988-),男,河南新乡人,博士,主要从事植物营养机理方面的研究。

通讯作者:孙学成(1974-),男,湖北房县人,副教授,博士,主要从事植物微量元素营养研究。

成钼辅因子,钼辅因子绑定到含钼酶中才能产生催化活性。植物中的含钼酶包括:硝酸还原酶(NR)、亚硫酸盐氧化酶(SO)、黄嘌呤脱氢酶(XDH)、醛氧化酶(AO)和线粒体氨肟还原酶(mARC)^[3-5]。这些含钼酶主要参与了植物体内的 C-、N-和 S-的代谢^[6]。钼的缺乏容易引起茎秆和叶片发育失调、叶片坏死,并能影响到果实产量和品质^[7-10]。土壤中钼的氧化态分布从Ⅱ到Ⅵ,只有 Mo(VI)可以被植物利用。在农业土壤中,钼酸盐的有效性受到土壤酸碱性和氧化还原环境的影响^[9,11-12],常常表现出缺乏现象。

植物吸收钼酸盐是一个复杂的过程。先前研究表明,钼酸盐可以通过硫酸盐或者磷酸盐转运系统进行吸收。随着硫酸盐转运子家族基因的克隆和功能特点分析,发现硫酸盐转运家族第 5 族和其他 4 个家族具有结构上的不同,推测可能与钼酸盐积累有关^[13-17]。近年来,在柱花草上发现了硫酸盐转运基因 *SHST1* 具有转运钼酸盐的功能,且钼酸盐的吸收不受硫酸盐浓度的影响^[18]。另外,在拟南芥上发现了 2 个特异性的钼酸盐转运子基因 *MOT1* (*Sultr5;2*)^[19-21] 和 *MOT2* (*Sultr5;1*)^[22-23]。这些钼酸盐转运子的克隆为钼营养研究提供了新的视野。

硒酸盐主要以 SeO_4^{2-} 的形式被植物吸收^[24]。到目前为至,植物中还没有发现特异性硒转运基因,由于硒酸盐和硫酸盐具有相似的化学性质,推测硒酸盐可能通过硫酸盐转运子转运。硫酸盐转运子 *Sultr1;2* 在硒吸收上扮演重要的角色^[25],另有研究表明,硒酸盐可以通过高亲和硫酸盐转运子吸收^[26-28]。由于钼酸盐和硒酸盐在吸收上的相似性,推测硒酸盐存在可能通过竞争钼酸盐吸收位点影响钼酸盐的吸收。钨是一个稀有的过渡元素,属于元素周期表 VI-B 族,和铬、钼和镱同族。钨虽然不是植物必需元素,但广泛分布在生物体中。另外,钼酸盐和钨酸盐具有相似的结构和尺寸,以简单的钼酸盐 Mo(VI)和钨酸盐 W(VI)为例,2 个金属离子都处于四面体金属原子的中心位点。因此,钨酸盐可以通过竞争钼酸盐进入酶复合物导致含钼酶失活^[29]。同样提高钨酸盐含量抑制含钼酶的活性^[30-33]。研究表明,钨酸盐可以显著抑制微生物对钼酸盐的吸收^[34]。因此,推测在植物体中,钨酸盐同样作为钼酸盐的潜在竞争离子。

甘蓝型油菜(*Brassica napus*)是世界第二大可食性油料作物,并且在世界各地广泛被种植^[35]。作为十字花科植物,甘蓝型油菜对缺钼比较敏感。相对于拟南芥钼酸盐转运系统,甘蓝型油菜对钼酸盐吸收转运基因研究较少。本试验通过竞争离子和同源

比对对钼吸收进行研究,旨在探明竞争离子对钼吸收及甘蓝型油菜钼酸盐转运基因表达的影响,为提高油菜钼营养提供技术支持。

1 材料和方法

1.1 试验设计

供试油菜品种为 ZS11(中双 11),种子浸于 10%(V/V) NaClO 溶液进行消毒 30 min,用去离子水冲洗干净。消过毒的种子 4 ℃ 避光处理 2 d,然后放入装有去离子水的育苗盆,室温条件下发芽。7 d 后选取长势一致种子放入 5 组营养液处理:CK(2 mmol/L MgSO_4)、+S+Se(2 mmol/L MgSO_4 + 1 $\mu\text{mol/L}$ Se)、+S+W(2 mmol/L MgSO_4 + 1 $\mu\text{mol/L}$ W)、-S(2 mmol/L MgCl_2)、-Mo(6 nmol/L Mo)。Se、W 和 Mo 分别以分析纯 Na_2SeO_4 、 $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ 为肥源。1/4 改良 Hoagland 营养液培养 4 d,1/2 营养液培养 4 d,完全营养液培养至收获。改良 Hoagland 营养液配方:Ca(NO_3)₂·4H₂O 4 mmol/L、KNO₃ 6 mmol/L、NH₄H₂PO₄ 1 mmol/L、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2 mmol/L(缺硫处理为 2 mmol/L MgCl_2 代替 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)。微量元素全部采用 Arnon 营养液配方:H₃BO₃ 46.2 $\mu\text{mol/L}$ 、MnCl₂·4H₂O 9.1 $\mu\text{mol/L}$ 、ZnSO₄·7H₂O 0.8 $\mu\text{mol/L}$ 、CuSO₄·5H₂O 0.3 $\mu\text{mol/L}$ 、FeNaEDTA 100 $\mu\text{mol/L}$ 、 $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1 $\mu\text{mol/L}$ 。营养液 pH 控制在 5.5 ± 0.2。所有处理重复 4 次。

材料培养 20 d 后分根和地上部收获。收获时用去离子水将根部营养液冲洗干净。取一部分样品 105 ℃ 杀青 30 min,80 ℃ 烘干至恒重,磨碎测定养分含量。另取一部分样品用液氮取样,-80 ℃ 冰箱保存,测定基因表达量。

1.2 元素分析

称取不同部位样品(约 0.3 g)放入 50 mL 三角瓶,加入 6 mL 硝酸:高氯酸(4:1,V/V)。消化条件为 170 ℃ 2 h,200 ℃ 消化 6 h 直到消化液无色透明。消化液用来分析 S 含量(ICP-AES)和 Mo 含量(AAS,石墨炉法)。

1.3 预测的钼酸盐转运子

通过对比拟南芥 *AtMOT1* 和 *AtMOT2* 发现了 5 个高度同源基因,并命名为 *BnMOT1s* (*Bra007781*、*Bol020963*、*Bra011159*) 和 *BnMOT2s* (*Bol001439*、*Bal035189*)。 *BnST5;1* 为拟南芥 *AtMOT2* 在甘蓝型油菜中的一个同源性比较高的基因(图 1)。

1.4 半定量 RT-PCR

按照 TRIzol (Invitrogen, CA, USA) 说明书提取总 RNA。提取 RNA 和反转录 DNA 质量和浓度由

Nanodrop2000 分光光度计测定。RNA 完整性通过凝胶电泳检测。反转录体系包括(20 μ L):1 μ g RNA、M-MLV 反转录酶(200 U,USA)、Oligo(dT)。反转录程序为:65 $^{\circ}$ C 变性 5 min,然后 42 $^{\circ}$ C 延伸 1 h,12 $^{\circ}$ C 孵育 10 min。反转录 DNA 稀释 5 倍,-20 $^{\circ}$ C 保存。

半定量 RT-PCR 反应引物如表 1。引物特异性

表 1 试验中甘蓝型油菜 RT-PCR 反应引物信息

Tab.1 Oligonucleotide primer name and sequence for primers of rapeseed used in RT-PCR reaction

基因 Gene	正向引物(5'-3') Forward primer(5'-3')	反向引物(5'-3') Reverse primer(5'-3')
<i>Bra007781</i>	TCTCAGACTCAGACTACTC	TGCCTAAATCCAAATCCTT
<i>Bol020963</i>	AGTTAGTTAGAATGAACAAGGCAG	TCAGGGAATAAGTCGTAAGAAAG
<i>Bra011159</i>	GACAACGCTGATATTAC	CTAACACCGATAGAGGAA
<i>Bol001439</i>	GCTTCCAAAGATATGAACACGA	CAAGTAAAGAACAACGCCACAC
<i>Bal035189</i>	GCTAATCGTGTCTTTTGTCT	GACTGGAATCTGAGGAATC
<i>BnST5;1</i>	ATCATGGAGACAACGACCACTC	GAGAGAAAGACGAATTGGCTGAC
<i>Actin</i>	ACAGTGTCTGGATCGGTGTTTC	TGCCTCATCATACTCAGCCTTG

注:ST5;1. 硫酸盐转运子(GenBank ID:AJ311389);Actin(GenBank ID:AF111812.1)。

Note:ST5;1. A sulfate transporter(GenBank ID:AJ311389);Actin(GenBank ID:AF111812.1)。

1.5 数据统计分析

所有数据采用 Microsoft Excel 2003 和 SPSS 12.0 软件进行方差分析,采用单因素试验统计 LSD 法($P<0.05$)分析。采用 MEGA 5.05 软件中的邻接法构建进化树。使用 Clustal W 网站(www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2/)和 DNAMAN 6.0 对序列比对进行分析。

2 结果与分析

2.1 BnMOT1s 和 BnMOT2s 序列分析

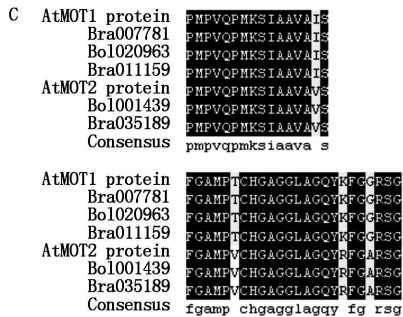
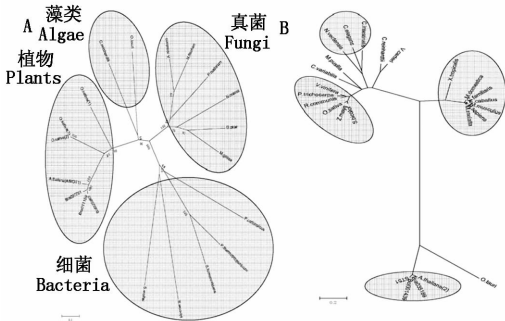
甘蓝型油菜和拟南芥同为十字花科作物,具有相近的进化关系,因此,在甘蓝型油菜数据库中对拟南芥 AtMOT1 和 AtMOT2 及其他物种中具有相似序列进行比对分析如图 1-A、B。进化分析表明,BnMOT1s 和拟南芥 AtMOT1 具有高度的相似性(相似

使用半定量 PCR 仪(Bio-Rad iQ5)检测,使用 SYBR I 荧光染料,PCR 条件为:95 $^{\circ}$ C 30 s;95 $^{\circ}$ C 10 s,(55 \pm 15) $^{\circ}$ C 20 s,72 $^{\circ}$ C 30 s,44 个循环;55 $^{\circ}$ C 10 s,最终延伸 95 $^{\circ}$ C 10 s。通过获得溶解曲线确定引物的特异性及退火温度。同时测定不同基因的扩增效率。

性分别为 61.36%,61.79%,62.5%),并被聚为一类。同样 BnMOT2s 和拟南芥 AtMOT2(相似性分别为 62.93% 和 60.65%)聚为一类,ST5;1 与 AtMOT2 具有高的相似性(62.93%)。另外,在甘蓝型油菜 BnMOT1s 中发现了共同存在的 2 个保守序列。而 BnMOT2s 中没有发现这 2 个保守序列(图 1-C)。

2.2 不同试验处理下干物质质量

不同处理对甘蓝型油菜干物质质量的影响不同(图 2)。相对于 CK,-S 处理显著降低了单株干物质质量,降低幅度高达 37%。+Se 和 +W 处理降低了单株干物质质量积累,表现出抑制作用,降低幅度分别为 14% 和 16%。同时,-Mo 处理也降低了干物质质量积累,相对于 CK 处理,-Mo 处理干物质质量降低幅度为 11%。



A 和 B. 通过甘蓝型油菜、拟南芥基因和其他 MOT1 和 MOT2 同源蛋白进行多重比对分析,进化树使用 Mega 5 软件绘制;C. MOT1 家族的 2 个保守序列。序列比对使用 Clustal W 程序。序列中基因登录号为:AtMOT1. NP_180139.1;AtMOT2. NP_178147.1;其他序列登录号参考 Tejada 等^[20,22]。A and B. Neighbor-joining trees from the multiple alignments of the proteins of rapeseed, Arabidopsis and other MOT1 or MOT2 homologous proteins;the trees were drawn by using the Mega 5 software;C. Alignment of two motifs conserved specifically in the MOT1 family. The alignment was performed using the Clustal W program. The accession numbers shown on the phylogenetic tree were:AtMOT1. NP_180139.1;AtMOT2. NP_178147.1 and other fragments were determined as described^[20,22]。

图 1 进化分析

Fig.1 Phylogenetic analysis

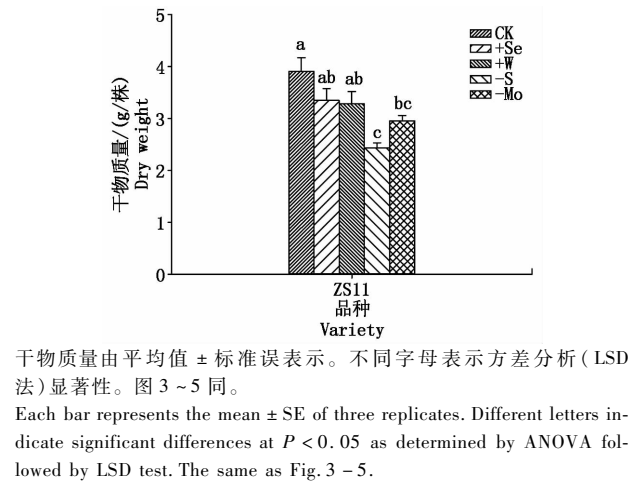


图2 品种 ZS11 在不同处理下干物质量

Fig.2 The dry weight production of ZS11 treated with sulfate,tungstate and selenate

2.3 植物组织中钼和硫含量

由图3可知,植株在 - S 处理下可显著提高地上部和根部的钼含量(13.47,17.04 mg/kg),地上部钼含量是CK处理的3.1倍,根部钼含量为CK处理的2.6倍。+ Se 处理对地上部和根部钼含量没有显著影响。相反,+ W 处理显著降低了地上部和根部钼含量,同样,缺钼也显著降低了地上部和根部钼含量,降低幅度分别为77.78%和58.24%。

图4显示,相对于钼含量变化,- S 处理显著降低了地上部硫含量(以干质量计)(0.13 mg/kg),降低幅度达到96%,对根部硫含量影响不大。+ Se 和

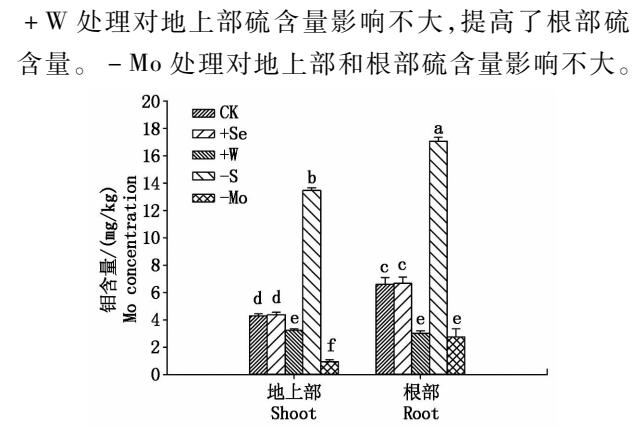


图3 不同处理下地上部和根部钼含量

Fig.3 Mo concentration in shoot and root of the two cultivars of rapeseed treated with sulfate,tungstate and selenate, followed by LSD test

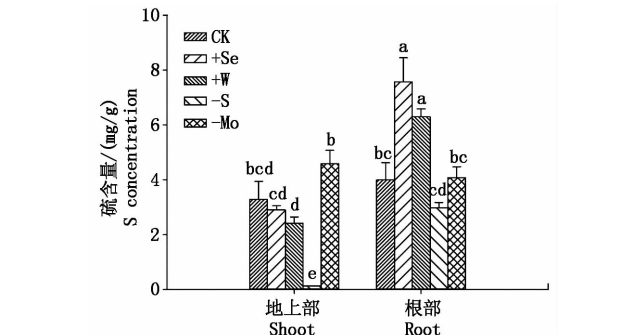


图4 不同处理下地上部和根部硫含量

Fig.4 S concentration in shoot and root of the two cultivars of rapeseed treated with sulfate,tungstate and selenate

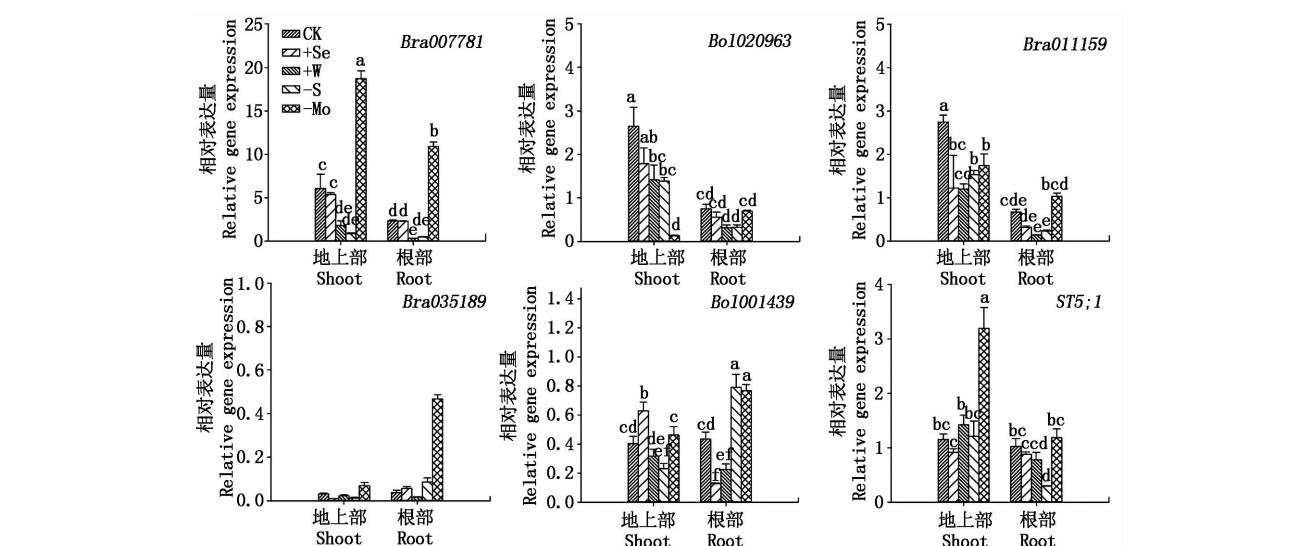


图5 不同处理下甘蓝型油菜基因相对表达

Fig.5 Relative gene expression (shoot and root transcript accumulation) of Bra007781 (A), Bol020963 (B), Bra011159 (C), Bra035189 (D), Bol001439 (E) and ST5;1 (F)

2.4 同源基因 Bra007781、Bol020963、Bra011159、Bra035189、Bol001439 和 ST5;1 在植物体中的表达量

不同处理条件下甘蓝型油菜基因表达量呈现不同趋势(图5)。Bra007781 在地上部和根部都有表

达,且在地上部具有更高的表达水平。和CK处理相比,- Mo 处理显著提高了 Bra007781 的表达量,+ Se、+ W 和 - S 处理则降低 Bra007781 的表达量。Bol020963 和 Bra011159、Bra007781 基因具有相似

的表达趋势,在地上部和根部都有表达,且在地上部具有高的表达量,+Se、+W和-S处理降低了表达量。和 *Bra007781* 不同,-Mo 处理有降低 *Bol020963* 和 *Bra011159* 表达趋势。另外,*AtMOT2* 同源基因 *Bra035189* 在甘蓝型油菜中几乎没有表达。*Bol001439* 在地上部表达不受钨酸盐、硫酸盐和钼酸盐处理的影响,相反在根部+Se和+W处理降低了其表达量,-S和-Mo处理上调了其表达量。

ST5;1 是一个被推测具有硫酸盐转运功能的基因,同样是甘蓝型油菜 *BnMOT2* 同源基因。不同处理对其表达量如图 5。相对于 CK 处理,*ST5;1* 在地上部表达量不受+Se、+W和-S处理影响,-Mo处理反而提高了其表达量。在根部,+Se、+W和-Mo处理不影响 *ST5;1* 的表达,-S处理降低了 *ST5;1* 的表达水平。

3 讨论与结论

生物量是植物生长的重要指标,不同处理下生物量变化表明其对生物生长的影响。本试验中,微量元素 Se、W 和 Mo 对干物质积累影响不大,施 S 处理则可以显著影响干物质的积累。植物组织钼积累量的提高对人类钼营养有积极作用。竞争离子 Se 和 W 的存在及 S 的缺乏可以显著影响植物对 Mo 的吸收和积累。以往研究也表明,S、Se 可以显著降低 Mo 含量,而 W 则通过竞争含钼酶活性位点来抑制其活性^[36-38],进而影响 Mo 吸收。从试验中可以看出,在甘蓝型油菜上硒酸盐对钼酸盐没有表现出抑制性,这可能由于钼硒竞争关系受到物种的影响,同时低浓度条件下钼硒不存在竞争关系。另有研究表明,在一定浓度条件下,植物 Mo 含量随着 W 浓度处理提高而增加^[38]。试验中同样 W 对 Mo 吸收存在一个显著的抑制作用。推测 W 可能竞争钼酸盐吸收位点和代谢酶活性位点对 Mo 吸收产生抑制作用。试验中-S处理条件下,植物钼含量都呈现显著增加的结果,这表明在 S 缺乏植株上可以提高植物对 Mo 的吸收积累,同样结果在小麦上被发现^[40],可能由于钼酸盐通过硫酸盐转运系统进行吸收运输。试验发现,-Mo 处理对地上部和根部 S 含量没有显著影响,因此进一步推测证明了钼酸盐可以通过硫酸盐转运系统进行运输。然而-S处理显著降低了地上部 S 含量,对根部 S 含量影响不大,说明了 S 缺乏主要影响了植物硫酸盐向地上部的运输,相似研究表明,+Se和+W处理增加了根部 S 含量^[41]。Yoshimoto 等^[17]也报道了在 0.1 mmol/L 硒酸盐处理下,叶片部位 S 含量增加,而根部呈现降

低趋势。

在植物中,硫酸盐、硒酸盐和钨酸盐可以影响钼酸盐的吸收,但是对于钼酸盐转运系统的影响并不清楚。硒酸盐可以通过硫酸盐转运系统进行运输^[26-27],钨酸盐和钼酸盐具有相似的吸收转运特性^[36],Schiavon 等^[41]研究表明,钼酸盐可能通过硫酸盐转运系统进行运输,但是没有显著证据表明 S、W 和 Se 在转录水平上存在抑制关系。因此,Se、W 或 S 都可能影响钼酸盐转运子的表达进而影响钼酸盐的吸收。

甘蓝型油菜 *BnMOT1s*、*BnMOT2s* 和 *AtMOT1*、*AtMOT2* 的高度同源性及存在相同的保守序列表明 *BnMOT1s* 和 *BnMOT2s* 可能具有钼酸盐转运功能。在缺钼条件下 *Bra007781* 和 *Bol001439* 表达量提高,推测其可能是钼高亲和转运子。而缺钼处理下调了 *Bol020963* 和 *Bra011159* 的表达量,推测其可能是钼低亲和转运子。除了在根部缺钼处理检测到 *Bal035189* 具有低的表达量,其他处理及部位几乎没有表达,推测其可能不参与植物钼酸盐的吸收转运。*ST5;1* (登录号 AJ311389) 是一个未报道的甘蓝型油菜 *BnMOT2* 同源基因。-Mo 处理上调了 *ST5;1* 在地上部表达量,-S 处理下调了 *ST5;1* 在根部的表达,因此推测 *ST5;1* 是一个硫酸盐和钼酸盐共转运子。

另外,*BnMOT1s* 在地上部具有高的表达量,而 *BnMOT2s* 在根部具有较高的表达量。这种部位表达并不同于拟南芥 *AtMOT1/AtMOT2* 的表达规律^[19,21]。基因表达部位上的分歧表明不同基因在功能上的差异性和不清楚的功能。本研究主要阐述了不同竞争离子 (Se、W 和 S) 对油菜钼营养的影响,并第一次对甘蓝型油菜钼转运同源基因进行研究。对于甘蓝型油菜中钼酸盐转运基因的研究还需更多的探索和深入的研究。

硒、钨、硫和钼及钼酸盐之间存在复杂的交互作用。试验表明,硒酸盐和钨酸盐可以影响甘蓝型油菜钼酸盐的吸收活性,且钨酸盐显示出更高的抑制性。此外,预测的钼酸盐转运基因对缺钼、缺硫、加钨和加硒有特殊的反应。因此,推测硫酸盐、硒酸盐、钨酸盐和钼酸盐可能通过引发不同信号调节钼酸盐的吸收转运。

参考文献:

- [1] Sigel R K. Molybdenum and tungsten; their roles in biological processes [M]. Dekker, 2002.
- [2] Zhang Y, Gladyshev V N. Molybdoproteomes and evolution of molybdenum utilization [J]. Journal of Molecular

- Biology, 2008, 379(4): 881 – 899.
- [3] Havemeyer A, Bittner F, Wollers S, *et al.* Identification of the missing component in the mitochondrial benzamidoxime prodrug-converting system as a novel molybdenum enzyme [J]. Journal of Biological Chemistry, 2006, 281(46): 34796 – 34802.
 - [4] Mendel R R, Kruse T. Cell biology of molybdenum in plants and humans [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research, 2012, 1823(9): 1568 – 1579.
 - [5] Schwarz G, Mendel R R, Ribbe M W. Molybdenum cofactors, enzymes and pathways [J]. Nature, 2009, 460(7257): 839 – 847.
 - [6] Hille R. The mononuclear molybdenum enzymes [J]. Chemical Reviews, 1996, 96(7): 2757 – 2816.
 - [7] Liu H, Hu C, Sun X, *et al.* Interactive effects of molybdenum and phosphorus fertilizers on photosynthetic characteristics of seedlings and grain yield of *Brassica napus* [J]. Plant and Soil, 2010, 326(1 – 2): 345 – 353.
 - [8] Liu H, Hu C, Sun X, *et al.* Interactive effects of molybdenum and phosphorus fertilizers on grain yield and quality of *Brassica napus* [J]. J Food Agric Environ, 2009, 7: 266 – 269.
 - [9] Kaiser B N, Gridley K L, Brady J N, *et al.* The role of molybdenum in agricultural plant production [J]. Annals of Botany, 2005, 96(5): 745 – 754.
 - [10] 张 木, 胡承孝, 刘金山, 等. 叶面喷施微量元素和氨基酸对不同氮水平小白菜产量及品质的影响 [J]. 长江蔬菜, 2011(10): 53 – 58.
 - [11] Gupta U C. Soil and plant factors affecting molybdenum uptake by plants [J]. Molybdenum in Agriculture, 1997: 71 – 91.
 - [12] Reddy K J, Munn L C, Wang L. Chemistry and mineralogy of molybdenum in soils [J]. Molybdenum in Agriculture, 1997: 4 – 22.
 - [13] Bolchi A, Petrucco S, Tenca P L, *et al.* Coordinate modulation of maize sulfate permease and ATP sulfurylase mRNAs in response to variations in sulfur nutritional status: stereospecific down-regulation by L-cysteine [J]. Plant Molecular Biology, 1999, 39(3): 527 – 537.
 - [14] Buchner P, Takahashi H, Hawkesford M J. Plant sulphate transporters: co-ordination of uptake, intracellular and long-distance transport [J]. Journal of Experimental Botany, 2004, 55(404): 1765 – 1773.
 - [15] Howarth J R, Fourcroy P, Davidian J, *et al.* Cloning of two contrasting high-affinity sulfate transporters from tomato induced by low sulfate and infection by the vascular pathogen *Verticillium dahliae* [J]. Planta, 2003, 218(1): 58 – 64.
 - [16] Yoshimoto N, Inoue E, Saito K, *et al.* Phloem-localizing sulfate transporter, Sultr1; 3, mediates re-distribution of sulfur from source to sink organs in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology, 2003, 131(4): 1511 – 1517.
 - [17] Yoshimoto N, Takahashi H, Smith F W, *et al.* Two distinct high-affinity sulfate transporters with different inducibilities mediate uptake of sulfate in *Arabidopsis* roots [J]. The Plant Journal, 2002, 29(4): 465 – 473.
 - [18] Fitzpatrick K L, Tyerman S D, Kaiser B N. Molybdate transport through the plant sulfate transporter SHST1 [J]. FEBS letters, 2008, 582(10): 1508 – 1513.
 - [19] Baxter I, Muthukumar B, Park H C, *et al.* Variation in molybdenum content across broadly distributed populations of *Arabidopsis thaliana* is controlled by a mitochondrial molybdenum transporter (MOT1) [J]. PLoS Genetics, 2008, 4(2): e1000004.
 - [20] Tejada – Jiménez M, Llamas Á, Sanz-Luque E, *et al.* A high-affinity molybdate transporter in eukaryotes [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2007, 104(50): 20126 – 20130.
 - [21] Tomatsu H, Takano J, Takahashi H, *et al.* An *Arabidopsis thaliana* high-affinity molybdate transporter required for efficient uptake of molybdate from soil [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2007, 104(47): 18807 – 18812.
 - [22] Tejada-Jiménez M, Galván A, Fernández E. Algae and humans share a molybdate transporter [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2011, 108(16): 6420 – 6425.
 - [23] Gasber A, Klaumann S, Trentmann O, *et al.* Identification of an *Arabidopsis* solute carrier critical for intracellular transport and inter - organ allocation of molybdate [Z]. 2011; 13, 710 – 718.
 - [24] Ellis D R, Salt D E. Plants, selenium and human health [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2003, 6(3): 273 – 279.
 - [25] Shibagaki N, Rose A, McDermott J P, *et al.* Selenate - resistant mutants of *Arabidopsis thaliana* identify Sultr1; 2, a sulfate transporter required for efficient transport of sulfate into roots [J]. The Plant Journal, 2002, 29(4): 475 – 486.
 - [26] El Kassis E, Cathala N, Rouached H, *et al.* Characterization of a selenate-resistant *Arabidopsis* mutant. Root growth as a potential target for selenate toxicity [J]. Plant Physiology, 2007, 143(3): 1231 – 1241.
 - [27] Terry N, Zayed A M, De Souza M P, *et al.* Selenium in higher plants [J]. Annual review of plant biology. 2000, 51(1): 401 – 432.
 - [28] Sors T G, Ellis D R, Salt D E. Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants [J]. Photosynthesis Research, 2005, 86(3): 373 – 389.

- [29] Hille R. Molybdenum and tungsten in biology [J]. Trends in Biochemical Sciences (Regular Edition) , 2002 , 27 (7) : 360 – 367 .
- [30] Mendel R R. Biology of the molybdenum cofactor [J]. Journal of Experimental Botany , 2007 , 58 (9) : 2289 – 2296 .
- [31] Mendel R R. Molybdenum : biological activity and metabolism [J]. Dalton Transactions , 2005 (21) : 3404 – 3409 .
- [32] Mendel R R , Hänsch R. Molybdoenzymes and molybdenum cofactor in plants [J]. Journal of Experimental Botany , 2002 , 53 (375) : 1689 – 1698 .
- [33] Zimmer W , Mendel R. Molybdenum metabolism in plants [J]. Plant Biology , 1999 , 1 (2) : 160 – 168 .
- [34] Chan M K , Mukund S , Kletzin A , *et al.* Structure of a hyperthermophilic tungstopterin enzyme , aldehyde ferredoxin oxidoreductase [J]. Science , 1995 , 267 (5203) : 1463 – 1469 .
- [35] Foley J A , Ramankutty N , Brauman K A , *et al.* Solutions for a cultivated planet [J]. Nature , 2011 , 478 (7369) : 337 – 342 .
- [36] Adamakis I D S , Panteris E , Eleftheriou E P. Tungsten toxicity in plants [J]. Plants , 2012 , 1 (2) : 82 – 99 .
- [37] Zhang M , Hu C , Zhao X , *et al.* Impact of molybdenum on Chinese cabbage response to selenium in solution culture [J]. Soil Science and Plant Nutrition , 2012 , 58 (5) : 595 – 603 .
- [38] Harris J , Schneberg K A , Pilon – Smits E A. Sulfur – selenium – molybdenum interactions distinguish selenium hyperaccumulator *Stanleya pinnata* from non-hyperaccumulator *Brassica juncea* (Brassicaceae) [J]. Planta , 2014 , 239 (2) : 479 – 491 .
- [39] Kumar A , Aery N C. Effect of tungsten on growth , biochemical constituents , molybdenum and tungsten contents in wheat [J]. Plant Soil Environ , 2011 , 57 (11) : 519 – 525 .
- [40] Shinmachi F , Buchner P , Stroud J L , *et al.* Influence of sulfur deficiency on the expression of specific sulfate transporters and the distribution of sulfur , selenium , and molybdenum in wheat [J]. Plant Physiology , 2010 , 153 (1) : 327 – 336 .
- [41] Schiavon M , Pittarello M , Pilon-Smits E , *et al.* Selenate and molybdate alter sulfate transport and assimilation in *Brassica juncea* L. Czern . ; Implications for phytoremediation [J]. Environmental and Experimental Botany , 2012 , 75 : 41 – 51 .