

# Molybdenum in plants



S. Koopmans  
July-Augustus 2010  
Laboratory of Plant Physiology  
Dr. L.J. de Kok  
Research Course: Ecophysiology of Plants



rijksuniversiteit  
 groningen

## Samenvatting

Molybdenum (Mo) is een essentieel micronutriënt voor planten en bevindt zich in lage concentraties in de plant. Hoewel deze concentraties erg laag zijn, speelt het toch een belangrijke rol in planten. Het is al jaren bekend hoe molybdenum vervoerd wordt in prokaryoten. Echter is er bij planten nog veel onduidelijkheid over de mogelijke mechanismen. Wel is duidelijk dat molybdenum vervoert wordt via een sulfaattransporter, fosfaattransporter of P-type ATPases. Molybdenum wordt in de meeste gevallen opgenomen in de vorm van molybdaat ( $\text{MoO}_4^{2-}$ ). Eenmaal opgenomen door de wortels, is het molybdaat inactief. Dit verandert in een actieve vorm wanneer er binding plaatsvindt met de molybdenum cofactor (Moco). Moco bindt op zijn plaats weer aan verschillende proteïnen die gebruikt worden voor verschillende oxidatie/reductie reacties. Molybdenum speelt onder andere een belangrijke rol bij de enzymen nitraatreductase, nitrogenase, xanthinedehydrogenase, aldehydeoxidase en sulfietoxidase. Een tekort aan molybdenum in planten kan verschillende gevolgen hebben. Het heeft een negatief effect op de groei en opbrengst van bladeren. Ook verlopen de chemische reacties van de enzymen langzamer of helemaal niet. Hierdoor kan een plant na verloop van tijd afsterven aan een gebrek van molybdenum. Naast een tekort aan molybdenum kunnen er ook toxische effecten optreden bij te hoge molybdenumconcentraties. Enkele symptomen zijn het misvormen van de bladeren, een goudgele verkleuring van de bladeren en remming van de wortel en bladgroei.

## Inhoudsopgave

<b>Inhoud</b>	<b>Bladzijde</b>
<b>Samenvatting</b>	1
<b>Identificatie van molybdenum (inleiding)</b>	3
<b>Opname van molybdenum in planten</b>	4-5
<b>Functie van molybdenum in planten</b>	5-9
- nitrogenase	6
- nitraat reductase	7
- xanthine dehydrogenase	8
- aldehyde oxidase	8
- sulfiet oxidase	9
<b>Molybdenumgebruik</b>	9-11
- molybdenumbehoefte	9
- molybdenum in de grond	11
<b>Effecten van deficiënte molybdenumconcentraties</b>	12-13
- visuele effecten	12
- Metabolische effecten	13
<b>Toxische molybdenumconcentraties</b>	14
<b>Conclusie/Discussie</b>	15
<b>Referenties</b>	16
<b>Dankwoord</b>	16

## Identificatie van molybdenum (inleiding)

Molybdenum (Mo) werd voor het eerst ontdekt in 1778, door de Zweedse chemicus Carl Wilhelm Scheele. Toch heeft het erg lang geduurd voordat men er achter kwam wat molybdenum exact doet en wat het belang er van is bij biologische processen. Hier kwam verandering in toen Bortels in de jaren 30 ontdekte dat molybdenum belangrijk was voor de groei van *Azotobacter* bacterie in medium. Kort erna vond Steinberg ook dat molybdenum noodzakelijk was voor de groei van de schimmel *Aspergillus niger* (Kaiser, 2005).

De daadwerkelijke vondst van molybdenum in planten werd gevonden in het jaar 1939, waarbij Arnon en Stout onderzoek hebben gedaan naar molybdenum in hogere planten. Arnon zag dat een toenemende hoeveelheid molybdenum positief gecorreleerd is met de groei van planten in een cultuur. Ook ontdekte hij dat een groep van zeven metalen, waaronder dus molybdenum, een positieve invloed heeft op de groei van sla (*Lactuca sativa L.*) en asperges (*Asparagus officinalis*). Voor deze studie was bekend dat slechts boor, koper, ijzer, mangaan en zink tot de micronutriënten behoorde. Micronutriënten zijn nutriënten waarbij de plant maar een lage concentratie van nodig heeft. De observatie dat de groei van de plant ook afhankelijk is van andere nutriënten dan de zes micronutriënten, leidde ertoe dat Arnon geloofde dat de lijst van nutriënten niet volledig was. Hij eiste van zichzelf dat hij erachter zou komen of molybdenum ook tot een essentieel nutriënt behoorde.

In het onderzoek van Arnon en Stout onderzochten ze tomaten (*Lycopersicon esculentum Mill.*) op hun molybdenum behoefte. Ze stelden hierbij drie criteria; een onvoldoende concentratie van de essentiële elementen voorkomt een continuïteit van de levenscyclus; de behoefte is specifiek voor één element, waarbij het tekort niet kan worden verklaard bij andere elementen en het element is direct betrokken bij de nutriëntenvoorziening van de plant. Planten groeiden op een cultuur, zonder dat hier molybdenum aan was toegevoegd. Ook werden er planten opgegroeid op een cultuur, waar de omstandigheden exact gelijk bleven, maar hier wel molybdenum aan werd toegevoegd (1,1  $\mu\text{M}$ ). Arnon en Stout zagen al snel verschillen tussen de twee cultures. De planten met molybdenum hadden geen deficiënte symptomen, waarbij de planten zonder molybdenum wel degelijk deficiënte symptomen liet zien (Chatterjee, 1985).

## Opname van molybdenum

### **Mechanismen voor molybdenum opname in planten**

De mechanismen die verantwoordelijk zijn voor het transport van molybdenum in *E. coli* zijn erg goed bestudeerd. In *E. coli* kan molybdaat op drie verschillende manieren in de cel vervoerd worden. De drie variëren in affiniteit voor molybdaat.

De mechanismen die betrokken zijn bij de molybdenumopname bij planten zijn complexer. Omdat er een grote vergelijking is tussen molybdenum en andere divalente anionen gaan onderzoekers er vanuit dat molybdenum vervoerd kan worden via fosfaat transporters, of P-type ATPases of sulfaat transporters. Planten nemen anorganische fosfaat op via het Pht1 transporter. In vergelijking met sulfaat transporters in planten, is er weinig bekend de functionele activiteit van fosfaat transporters. Recentelijk is er een gistmutant, genaamd PAM2, beschikbaar gemaakt die de wetenschappers meer informatie kan geven over de functionaliteit. Pht1 transporters zijn in verschillende planten gevonden, zoals in de tomaat en gerst. Experimenten met tomaten hebben opgeleverd dat een tekort van fosfaat een stimulus is voor de opname van molybdenum. Zo is er aangetoond dat de opname van molybdenum tot wel 300% is toegenomen wanneer alle fosfaat verwijderd was. Menig onderzoeker speculeert dat door de gelijke chemische eigenschappen van molybdaat/fosfaat anionen er een negatieve correlatie is. In de afwezigheid van fosfaat wordt de opname van molybdaat juist bevorderd. Het is hierdoor goed mogelijk dat molybdaat via het plasmamembraan van de wortelcellen via een fosfaat transporter wordt opgenomen. (Fitzpatrick, 2008)

P-type ATPases zijn ATP gevulde pompen dat gezamenlijk een enzymatische mechanisme is wat betrokken is bij de gefosforyleerde reactiecyclus. Het is bekend dat P-type ATPases verschillende ionen vervoerd. Zo is er bekend dat deze ATPases protonen, calcium, mangaan, koper en mogelijk ook molybdenum transporteert. P-type ATPases hebben een erg hoge opname-affiniteit. Omdat molybdenum in hele kleine hoeveelheden gebruikt wordt, kunnen zelfs de geringste waardes al toxisch zijn voor de plant. Na deze aanname is het zo dat de opname van molybdenum hoog gereguleerd is. Resultaten van Wang en Harper stellen dat er zandrakketten een accumulatie van molybdenum optreedt via een P-type ATPase pomp (AMA1) Wanneer deze AMA1 pomp wordt gebruikt, is de opname van molybdenum vijf keer zo laag in accumulatie dan bij controlegroepen. Het is hierdoor goed mogelijk dat de P-type ATPasen betrokken zijn bij de opname van molybdenum.

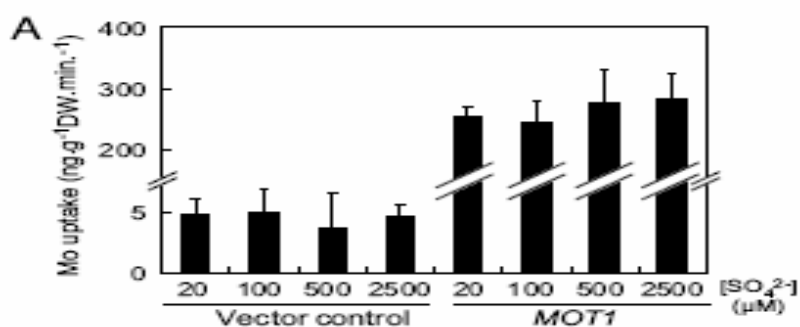
Sulfaat transporters behoren bij een grote genenfamilie omdat er een grote variatie is in de behoefte van sulfaat in planten. Fylogenetische analyses hebben er toe geleid dat er 4 sterk gerelateerde groepen zijn met een vijfde groep die iets minder verwant is. Alleen in groep 1 en 2 is gevonden dat die te maken hebben met het transport activiteit van sulfaat. Maar er wordt verondersteld dat de andere groepen hier ook mee te maken hebben dankzij de grote overeenkomsten. Groep 1 bevat transporters die betrokken zijn bij een hoge affiniteit van worteltransport ( $K_m$  tussen 1,5 en 10  $\mu\text{M}$  sulfaat). Groep 2 codeert voor transporters die een lage affiniteit van worteltransport hebben ( $K_m$  tussen 99  $\mu\text{M}$  en 1,2  $\text{mM}$ ). Er wordt verondersteld dat groep 3 transporters bevatten die geïsoleerd zijn van bladeren en groep 4 transporters bevatten die geïsoleerd zijn van plastiden.

Recentelijk is de minder verwante groep 5 die geassocieerd wordt met het molybdaat transport in zandrakketten. De transporter die hier gevonden is noemt men molybdenum transporter 1 (Mot1) (Tomatsu, 2007).

Sulfaat transport systemen zijn mogelijk ook betrokken bij het vervoeren van molybdaat. Deze veronderstelling is niet nieuw, omdat er in prokaryoten al systemen zijn gevonden van sulfaat transporters die ook molybdaat vervoeren. Tot voor kort is er gedacht dat sulfaat transportsystemen belangrijk zijn voor hoge molybdaataffiniteit transporten. Dit zegt men omdat er inhibitie optreedt bij molybdaatopname bij grote hoeveelheden sulfaat.

Recentelijk is er een transporter gevonden die specifiek is voor molybdaat, de eerder hierboven genoemde MOT1. MOT1 komt tot expressie in zowel de wortels als de bladeren. In figuur 1 is goed te zien de enorme verschillen tussen molybdenumopname wanneer MOT1 wel of niet gebruikt wordt. Er is onderzocht dat deze transporter alleen betrokken is bij molybdaat, en niet bij sulfaat. Voor deze bevindingen dachten onderzoekers dat sulfaat transporters de mogelijkheid hadden om ook molybdaat te vervoeren. Maar na dit onderzoek is er nog veel twijfel over hoe molybdenum, in de vorm van molybdaat vervoerd in de plant wordt. Hiervoor is nog verder onderzoek nodig (Tomatsu, 2007).

**Fig. 1: Effect van sulfaat op de molybdaatopname in *S. cerevisiae* die met MOT1 tot expressie komen (Tomatsu, 2007).**



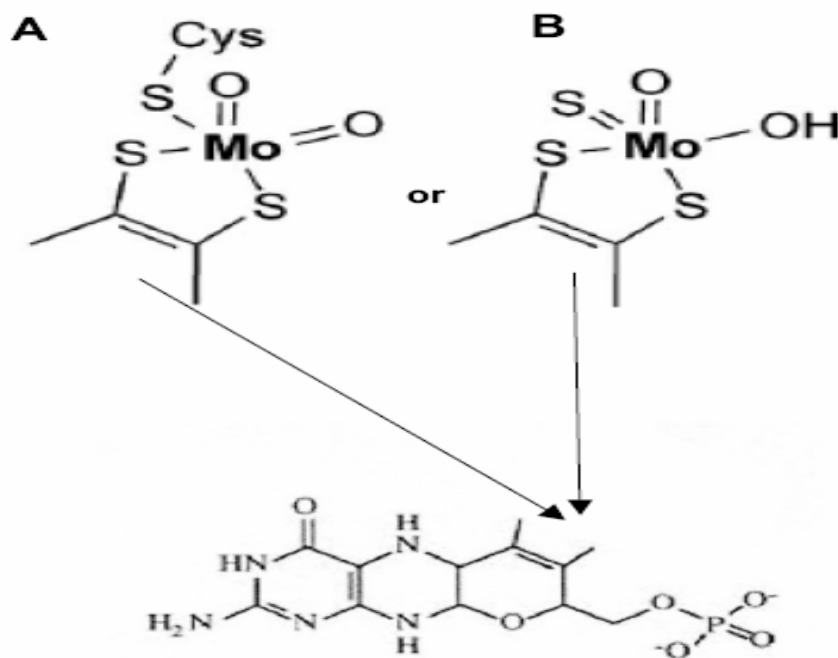
## Functies van molybdenum in planten

Molybdenum is één van de micronutriënten die essentieel is in hogere planten. Het speelt een proces bij meer dan 60 verschillende enzymen die als katalysator functioneren bij diverse oxidatie/reductie reacties. Hoewel het molybdenummolecuul in zes verschillende oxidatiestappen kan optreden, zijn alleen de drie hoogste oxidatielevels (4, 5, 6) van belang bij biologische processen.

Met uitzondering van nitrogenase bij de bacteriën, hebben alle enzymen die molybdenum bevatten een gezamenlijk molybdopterin-gedeelte aan hun katalytische kant. Dit pterin is een molybdenum cofactor (Moco) wat zorgt voor de gewenste positie van het centrum waardoor het enzym een interactie kan aangaan met andere delen van het elektronentransport. Moco wordt gesynthetiseerd uit GTP door een biosynthetische route waarbij vier stappen worden onderschreven. Deze vier stappen bestaan uit de intermediaire biosynthesecyclus, pyranopterin monofosfaat en twee molybdopterins. In een vijfde stap resulteert een formatie van molybdenum en een proteïne in twee verschillende katalyserende molybdenumcentrums (Schwarz et al., 2006).

De chemische structuur van de cofactor staat weergegeven in figuur 2 op de volgende bladzijde. In figuur 2a is het molybdenumcentrum van de enzymen sulfiet oxydase en nitraat reductase te zien. In figuur 2b is het molybdenumcentrum van de enzymen xanthinedehydrogenase en aldehydeoxidase te zien. Het enzym nitrogenase maakt geen gebruik van de cofactor. Een belangrijke taak van de cofactor is er voor te zorgen dat molybdenum in een actieve vorm komt, want zonder de cofactor blijft molybdenum inactief (Hamlin, 2007).

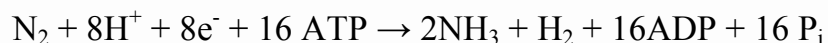
**Fig. 2: De chemische structuur van de molybdenum cofactor (Moco) in nitraatreductase en sulfietoxidase (A) en xanthinedehydrogenase en aldehydeoxidase (B; Fitzpatrick, 2008).**



Verschillende molybdenum-enzymen spelen een rol bij hogere planten. De vijf belangrijkste enzymen zijn: nitrogenase, nitraatreductase, xanthinedehydrogenase, aldehydeoxidase en sulfietoxidase. Molybdenum speelt een cruciale rol in het stikstof metabolisme van planten. Het is ondermeer belangrijk bij processen als stikstoffixatie, nitraatreductie en het transport van stikstof compartimenten in planten. De vijf hierbovengenoemde enzymen worden nu behandeld (Hamlin, 2007).

### Nitrogenase

De eerste tekenen dat molybdenum belangrijk is voor verschillende biologische processen kwam met de observatie van Bortels. Hij zag dat molybdenum belangrijk was voor de groei van *Azotobacter*. Tegenwoordig is men het erover eens dat molybdenum nodig is voor de biologische stikstoffixatie, waarbij het molybdenum bevattende enzym nitrogenase een rol speelt. Verschillende typen van bacteriën zijn in staat om atmosferisch stikstof te fixeren. Nitrogenases van verschillende organismen reageren allemaal hetzelfde in de natuur; het versnellen van de reductie van stikstof ( $N_2$ ) tot ammonia ( $NH_3$ ). Dit gebeurt in de volgende reactie:



Een nog altijd onbegrepen verschijnsel is hoe het mogelijk is dat het proces van stikstoffixatie plaats kan vinden bij normale temperatuur en druk. Volgens het Haber-Bosch proces kan de fixatie alleen plaatsvinden bij temperaturen van minimaal 300 graden en een druk van meer dan 300 atmosfeer.

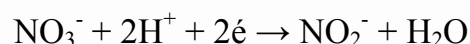
Bijna alle nitrogenases bevatten twee proteïnen: Mo-Fe proteïne en een Fe-proteïne. De eerste bevat twee molybdenum atomen en heeft een oxidatie-reductiecenter voor twee typen; twee ijzer-molybdenum cofactors (FeMoco) en vier Fe-S (4Fe-4S) centrums. Het FeMoco gedeelte bestaat uit een actieve kant van de nitrogenase proteïne in stikstoffixerende organismes.

Hoewel molybdenum belangrijk is voor stikstoffixerende organismen en hun stikstofkringloop, ligt de essentie van Mo bij planten niet bij de stikstoffixatie. Volgens Arnon en Stout hun criteriums (eerder aangegeven) gaat het om de essentie dat veel planten de mogelijkheid missen om atmosferisch stikstof te fixeren en daardoor geen gebruik maken van molybdenum voor de nitrogenase (Fitzpatrick, 2008).

### Nitraatreductase

De belangrijkste rol die voor molybdenum is vastgelegd in planten is de betrokkenheid bij het enzym nitraatreductase. Hierbij wordt nitraat omgezet in nitriet. Het enzym heeft een werking in bijna alle plantensoorten, maar ook in schimmels en bacteriën. Wanneer er molybdenum aanwezig is in de plant, zal de activiteit van het enzym nitraatreductase hoger liggen. Dit wordt geïllustreerd in figuur 4 op de volgende bladzijde. Er is een significant verschil tussen bladeren die onvoldoende Mo bevatten en bladeren die wel voldoende Mo bevatten. Hoewel de behoefte van molybdenum voor de nitrogenase activiteit groter moet zijn in wortels dan bij de behoefte van molybdenum voor de activiteit van nitraatreductie, is de nitraatreductie toch de belangrijkste taak van Mo. Dit komt doordat nitraat de hoofdvorm van stikstof in de bodem is wat opgenomen kan worden door de wortels (Fitzpatrick, 2008).

Net zoals alle andere enzymen is de nitraatreductase een homodimeric proteïne. Dat wil zeggen dat elk identiek deel van de proteïne onafhankelijk van de anderen kan functioneren bij de nitraatreductie. Ook bestaat elk deel uit drie functionele domeinen; N terminal (de cofactor), het centrale domein (cytochrome b557) en de C-terminal FAD domein. Het enzym zit in het cytoplasma en werkt als een katalysator op de reductie van nitraat tot nitriet. Hoe dit precies gebeurd is te zien in figuur 3. Ook kan dit met de volgende reactievergelijking verduidelijkt worden:



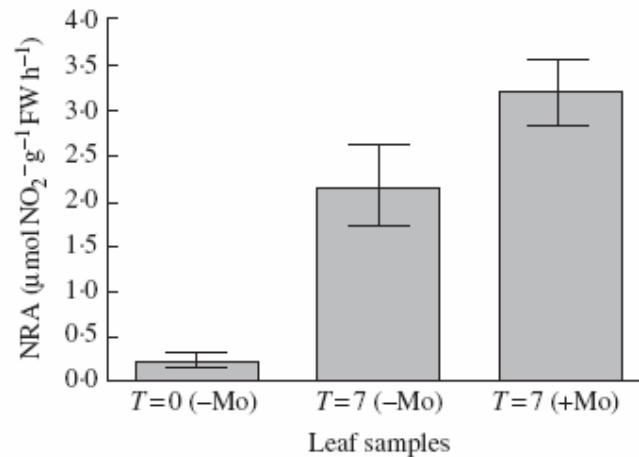
Nitraat en molybdenum zijn beide nodig voor het activeren van de nitraatreductase in planten. Het enzym is danwel afwezig of gereduceerd of de nutriënt is niet voldoende aanwezig. In planten die een gebrek aan de nutriënt hebben is de inductie van het enzym nitraatreductase bij nitraat erg laag. Dit verandert al snel wanneer molybdenum aanwezig is; de enzymactiviteit is veel hoger. Het is aangetoond dat de molybdenumbehoefte in planten hoger is bij nitraat opname dan bij ammonium opname. Dit effect heeft alles te maken met de aanwezigheid van molybdenum in het enzym nitraatreductase (Campbell, 2001).

**Fig. 3: De nitraatreductie in de plant. Met behulp van het enzym nitraatreductase (bestaande uit het middengedeelte) wordt nitraat omgezet in nitriet. Ook is te zien dat hierbij NADH wordt omgezet in NAD<sup>+</sup>.**



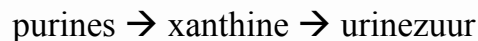


**Fig. 4: De invloed van molybdaat op de nitraatreductase activiteit (NRA) gemeten na zeven dagen in druivenbladeren (Kaiser, 2005).**



### **Xanthinedehydrogenase**

Nu is bekend dat molybdenum een rol speelt bij de enzymen nitrogenase en nitraatreductase. Maar molybdenum is ook belangrijk bij een ander enzym, namelijk de xanthine dehydrogenase, wat betrokken is bij de ureïde synthese en purine katabolisme in planten. Ook dit enzym is een homodimeric proteïne, bestaande uit één FAD molecuul, vier Fe-S groepen, en een molybdenum complex wat heen en weer springt tussen oxidatielevels Mo(IV) en Mo(VI). Xanthine dehydrogenase functioneert als een katalysator bij de omzetting van purines tot urinezuur. De reactievergelijking is als volgt:



In sommige groenten gebeurt het vervoer van gefixeerd stikstof, van wortel tot blad, in de vorm van ureïdes, allantoïne en allantoïce zuren, welke zijn gesynthetiseerd van urinezuur. Hoewel xanthine dehydrogenase niet essentieel is voor planten, speelt het wel een grote rol bij het stikstofmetabolisme van bepaalde groenten. De slechte groei van groenten met te weinig molybdenum kan toegerekend worden aan de slechte opwaartse vervoering (van wortel naar blad) van stikstof vanwege het verstoorde catabolisme van xanthine (Mendel, 2007).

### **Aldehydeoxidase**

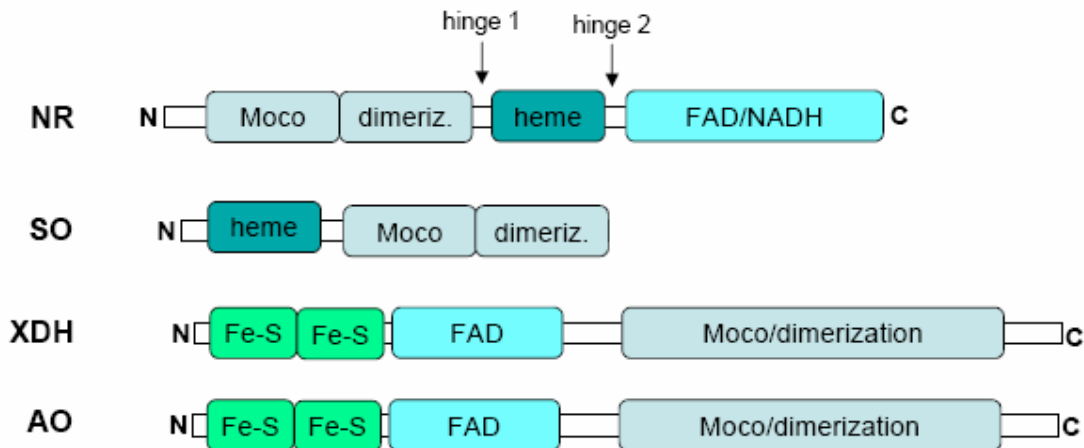
Het vierde enzym waar molybdenum een belangrijke rol bij speelt is het aldehydeoxidase enzym. In dieren is dit enzym al veel beschreven, maar bij planten is dit pas voor kort geleden gedaan. Het enzym zit in het cytoplasma, waarbij het de laatste stap van de biosynthese van de hormonen indoleaczuur (IAA) en abscisinezuur (ABA) versneld. Deze hormonen beïnvloeden veel processen waaronder de ontwikkeling van de zaden en de regulatie van fototropisch gedrag. Molybdenum speelt hierdoor een belangrijke rol in de ontwikkeling van de plant. Ook is het belangrijk voor de adaptatie tegen stressfactoren uit de omgeving. Dit komt doordat molybdenum een effect heeft op de activiteit van het enzym aldehydeoxidase (Seo, 2002).

### Sulfietoxidase

De laatste functie van molybdenum heeft te maken met sulfietoxidase, een enzym waarbij molybdenum is ingebouwd. In biologische processen speelt sulfietoxidase een rol in de oxidatie van sulfiet tot sulfaat. Dit enzym is goed onderzocht in dieren, maar het is nog vrij onbekend in de wereld van de planten. Marschner beweert dat de oxidatie van sulfiet toegewezen kan worden op andere enzymen zoals peroxidases en cytochroom oxidasen. Hierdoor is het niet duidelijk of een specifieke sulfietoxidase betrokken is in de oxidatie van sulfiet in hogere planten. Met als gevolg, dat het ook niet duidelijk is of molybdenum een essentiële rol speelt bij de sulfiet oxidatie (Hamlin, 2007).

Hierboven zijn enkele enzymen beschreven die veel te maken hebben met molybdenum. In figuur 5 staan vier van de vijf enzymen (uitgezonderd nitrogenase) weergegeven, waarbij de positie van de cofactor (Moco) is weergegeven.

**Fig. 5: De positie waarin Moco is gevonden in de vier plantenzymen (Fitzpatrick, 2008).**



### Molybdenumgebruik

#### Molybdenumbedoefte

Molybdenum is een micronutriënt. De hoeveelheid concentratie die een plant nodig heeft is uitermate klein (zie tabel 1 op de volgende bladzijde). In deze tabel is te zien dat molybdenum bovenaan de lijst staat. Dit betekent dat molybdenum het element is waarvan de minste hoeveelheid nodig is die voldoende is voor een optimale groei van de plant. Er is echter nog een ander element, namelijk nikkel, waar nog minder van nodig is. Maar deze staat niet aangegeven in de tabel omdat van nikkel nog niet bekend is of het een essentieel element is. Ter vergelijking, een plant heeft een miljoen keer zoveel stikstof nodig dan molybdenum (Burton et al., 1987).

**Tabel 1: Gemiddelde concentraties van nutriënten. Deze waarden zijn minimaal nodig voor een plant om optimaal te groeien (Burton et al., 1987).**

Element	Abbreviation	$\mu\text{mol/g}$ dry wt	mg/kg (ppm)	%	Relative number of atoms
Molybdenum	Mo	0.001	0.1	---	1
Copper	Cu	0.10	6.0	---	100
Zinc	Zn	0.30	20.0	---	300
Manganese	Mn	1.0	50.0	---	1,000
Iron	Fe	2.0	100.0	---	2,000
Boron	B	2.0	20.0	---	2,000
Chlorine	Cl	3.0	100.0	---	3,000
Sulfur	S	30	---	0.1	30,000
Phosphorus	P	60	---	0.2	60,000
Magnesium	Mg	80	---	0.2	80,000
Calcium	Ca	125	---	0.5	125,000
Potassium	K	250	---	1.0	250,000
Nitrogen	N	1000	---	1.5	1,000,000

**Average Concentrations of Mineral Nutrients in Plant Shoot Dry Matter that are Sufficient for Adequate Growth**

Planten verschillen in de mogelijkheid om molybdenum op te nemen vanuit de wortels. Echter zitten er geen grote verschillen qua molybdenumbedoefte tussen planten. De meeste planten zitten met hun behoefte tussen de 0,21 tot 2,1  $\mu\text{mol}$  molybdenum per kg. Bij deze waarden kunnen de desbetreffende planten optimaal groeien. Komkommers zitten met hun behoefte tussen de 0,2 en 2,0  $\mu\text{mol}$  molybdenum per kg, en zonnebloemen zitten tussen de 0,25 en 0,75  $\mu\text{mol}$  molybdenum per kg. Ook zijn de deficiënte concentraties weergegeven. Wanneer de planten minder dan deze hoeveelheden tot hun beschikking hebben, kunnen ze niet meer optimaal groeien. Meer hierover later in deze scriptie (Hamlin, 2007).

Molybdenum wordt door de wortels van de plant opgenomen. Dit gebeurt grotendeels in de vorm van het molybdaat ion ( $\text{MoO}_4^{2-}$ ). Wanneer het molybdenum van de wortels naar de bladeren wordt vervoerd, gebeurt dit via het xyleem en het floëem. Dat deze route wordt afgelegd is bekend, maar in welke vorm dit gebeurt is nog altijd niet duidelijk. Wel wordt verondersteld, dankzij de chemische eigenschappen van het molybdenum, dat dit ook gebeurt in de vorm  $\text{MoO}_4^{2-}$ . Het meeste molybdenum wordt vervoerd naar de enzymen waar molybdenum voor nodig is. Deze enzymen worden later nog precies beschreven. Wanneer de enzymen over voldoende molybdenum beschikken, en er is nog extra molybdenum in de plant aanwezig, dan wordt de overmaat aan molybdenum opgeslagen in de vacuoles van de cellen van de plant.

Het gehalte van het molybdenum verschilt sterk per plant, maar in de meeste gevallen zijn de hoogste concentraties te vinden in zaden en knoppen. Wanneer er minder molybdenum beschikbaar is, blijft het meeste molybdenum in de wortels aanwezig, waardoor er dus een lager gehalte in de bladeren en knoppen is (Hamlin, 2007).

## Molybdenum in de grond

Het molybdenumgehalte in de grond is afhankelijk van verschillende factoren. Het hangt af van de structuur van de grond, de pH-gehalte, het organisch materiaal van de bodem, de interactie met andere nutriënten en de plek waar het gelegen is (Anderson, 1956). De concentraties verschillen sterk per land en per grond. Gronden bevatten normaal gesproken gehalten tussen de 0,14 en 180  $\mu\text{mol/kg}$  grond. De molybdenumgehalten in zandvlaktes verschillen sterk over de wereld. Zo kan het zijn dat er in Polen zes keer zoveel molybdenum in de grond dan in Rusland. Ook zijn er uitschieters gevonden van wel 3,1 mmol/kg grond. Dit zijn meestal gronden die erg veel organisch materiaal bevatten. De meeste agrarische gronden hebben een relatief lage hoeveelheid molybdenum in de grond zitten. De beschikbare hoeveelheid molybdenum neemt normaal gesproken toe wanneer de alkaliniteit van de grond toeneemt. In andere woorden, er is vaak een gebrek aan molybdenum in gronden die zuur zijn. Ook de gronden die erg vochtig zijn, hebben vaak te maken met een gebrek aan molybdenum.

Het type grond is verantwoordelijk voor de plek waar molybdenum aanwezig is in de grond. Waar in zure gronden het meeste molybdenum vaak in de toplaag van de grond zit, is het vaak bij de basische gronden er net iets onder. Molybdenum kan in vier verschillende vormen voorkomen in de grond; opgeloste molybdenum in de grond, geoxideerd molybdenum, molybdenum als organisch materiaal en als mineraal (Hamlin 2007).

De pH-gehalte is een factor die de hoeveelheid molybdenum in de bodem bepaald. Wanneer het bodemwater een pH van boven de 5,0 heeft, bestaat molybdenum voornamelijk uit de vorm  $\text{MoO}_4^{2-}$ . Is de pH lager dan 5,0, dan zijn de  $\text{HMoO}_4^-$  vorm en de  $\text{H}_2\text{MoO}_4$  vorm dominant. Hoe hoger de pH is, des te meer oplosbaar molybdenum erin de grond zit. Dit wordt beschreven in tabel 2. Hoe hoger de pH wordt, des te meer molybdenum er beschikbaar is. Het is zelfs zo, dat er bij elke unit pH stijging er 100 keer zoveel molybdenumconcentratie aanwezig is. Dus de concentratie van molybdenum kan erg snel stijgen of dalen naarmate de pH verandert. Planten hebben een voorkeur qua opname. Het liefst nemen ze molybdenum op in de vorm van  $\text{MoO}_4^{2-}$ . (Hamlin 2007)

**Tabel 2: Effecten van pH-wisselingen op de Mo-concentratie in verschillende planten op twee gronden (Hamlin 2007).**

Soil pH <sup>a</sup>	Mo concentration (mg kg <sup>-1</sup> )					
	Cauliflower		Alfalfa		Bromegrass	
	No Mo	Mo (2.5 mg kg <sup>-1</sup> )	No Mo	Mo (2.5 mg kg <sup>-1</sup> )	No Mo	Mo (2.5 mg kg <sup>-1</sup> )
<i>Silty clay loam</i>						
5.0	Trace	0.02	Trace	0.43	0.11	0.95
5.5	Trace	0.21	0.51	4.40	0.30	1.80
6.0	0.11	1.62	0.91	4.63	0.27	1.67
6.5	0.56	6.43	1.48	4.93	0.62	2.30
<i>Culloden sandy loam</i>						
5.0	Trace	0.39	Trace	0.11	0.02	0.35
5.5	Trace	1.34	Trace	2.04	0.02	1.09
6.0	Trace	3.15	Trace	2.01	0.04	3.59
6.5	Trace	3.58	Trace	3.32	0.05	3.77

## Effecten van een tekort aan molybdenum

### Visuele effecten van een tekort aan molybdenumconcentraties

Te lage concentraties molybdenum zorgen ervoor dat een plant niet meer optimaal kan functioneren. Bepaalde processen verlopen hierdoor trager of minder goed. Ook zijn er visuele gevolgen van een tekort aan molybdenum. Één van die gevolgen is het verminderen van de groei van de plant (Chatterjee, 2001). Ook het aantal zaden en het gewicht ervan neemt sterk af. Deze gevolgen zijn goed te zien in tabel 3. Het drooggewicht van de planten en zaden neemt toe naarmate het aanbod van molybdenum toeneemt. Dit geldt voor de waardes oplopend van  $2 \times 10^{-5}$  tot 0,2 mg molybdenum. Het hoogste aanbod, namelijk 2 mg molybdenum, leidt weer tot een daling van de drooggewichten. Dit heeft misschien te maken met de toxiciteit van molybdenum. Meer hierover later in deze scriptie, maar hier is nog erg weinig over bekend. (Kaiser, 2005)

**Tabel 3: Effecten van molybdenumbeschikbaarheid in mustardplanten (*Brassica campestris*) (Agarwala, 1985).**

Molybdenum supply (mg l <sup>-1</sup> )	Dry weight (g per plant)		Number of pods per plant	Dry weight of seeds (g per plant)	Tissue molybdenum, $\mu\text{g g}^{-1}$ dry matter
	34 d	100 d			34 d
$2 \times 10^{-5}$	0.054	2.73	19	0.025 (0.158)	0.03 (0.17)
$2 \times 10^{-4}$	0.061	3.26	29	0.045 (0.212)	0.11 (0.33)
$2 \times 10^{-3}$	0.157	4.86	57	0.499 (0.706)	0.30 (0.55)
$2 \times 10^{-2}$	0.206	12.20	70	1.686 (1.298)	1.17 (1.08)
$2 \times 10^{-1}$	0.319	14.43	79	1.978 (1.406)	2.17 (1.47)
2	0.246	8.11	33	1.549 (1.245)	18.10 (4.25)
LSD <sub>0.05</sub>	0.030	1.83	13	(0.071)	(0.09)

Een ander mogelijk visueel effect ten gevolge van onvoldoende beschikbaarheid van molybdenum zit hem in de kleur van de bladeren. Waar de kleur van zonnebloemen met voldoende Mo aanwezig vaak donkergroen zijn, zijn zonnebloemen die niet genoeg van deze nutriënt kunnen gebruiken een stuk lichter. Dit is goed te zien bij zonnebloemen in figuur 6 op de volgende bladzijde (Weir, 2004).

**Fig. 6: De invloed van molybdenumgebrek op de kleur en ontwikkeling van zonnebloembladeren (Weir, 2004).**



Ook ontstaan in jonge planten de volgende effecten vaak door deficiëntie in molybdenum; vlekken op het bladoppervlak, opkrulling en slap worden van het blad. Dit kan zelfs zover gaan dat het blad op den duur kan afsterven. (Heuwinkel, 1992)

In oudere planten treden deze symptomen ook op. Maar bij de oudere planten kunnen ook nog de volgende symptomen optreden; verliezen van een echte laminaontwikkeling, taaie bladeren en het verliezen van het meristeem (Kaiser, 2005).

#### **Metabolische effecten van te lage molybdenumconcentraties**

Molybdenum deficiëntie heeft op verschillende niveaus een effect op de metabolisme van een plant. De reacties zijn sterk gecorreleerd aan de behoefte van molybdenum voor de verschillende enzymen waar molybdenum betrokken bij is. Deze belangrijkste enzymen zijn nitraat reductase, nitrogenase, xanthine dehydrogenase, aldehyde oxidase en sulfiet oxidase (voor details, zie eerdere bladzijdes). Sinds het bekend is dat molybdenum betrokken is bij een aantal verschillende enzymatische processen, is het moeilijk om te zeggen hoe een plant reageert op een tekort aan molybdenum. Het kan erg complex zijn waardoor het lastig is om uit te vinden waar de precieze oorzaak ligt. Het is wel aangetoond dat molybdoenzymen, die betrokken zijn bij de stikstof metabolisme, invloed hebben op de plantontwikkeling, het vermogen tot aanpassen en de fruitontwikkeling (Hamlin, 2007).

Molybdenum tekort wordt in verband gebracht met een slecht stikstofmetabolisme. Dit gebeurt omdat nitraat de belangrijkste vorm van stikstof is die verantwoordelijk is voor de groei van de plant. Het onvermogen om Moco te synthetiseren leidt tot een daling van zowel de nitraat reductase als de xanthine dehydrogenase activiteit. In de meeste planten wordt het verlies van activiteit geassocieerd met een toename van nitraatconcentraties in het weefsel en een afname van plantengroei en opbrengst. Zo is er een voorbeeld waarbij spinazie planten, onder molybdenum deficiënte condities, een lagere enzymactiviteit en opbrengst hebben dan controleplanten die opgroeien bij adequate molybdenum concentraties. Wel is het zo dat planten zich kunnen herstellen, waarbij de enzymactiviteit weer kan oplopen tot het maximum (Evans, 1977).

## Toxische molybdenumconcentraties

De meeste planten zijn niet gevoelig voor grote hoeveelheden molybdenum in het medium, en de kritische toxische concentratie van molybdenum verschilt sterk per plantensoort. Ter vergelijking; bij gerst is molybdenum al toxisch bij aanwezigheid van 135 mg per kilo Mo in het bladweefsel, terwijl bloemkolen en uien nog in staat zijn om te accumuleren bij waarden van 600 mg Mo zonder enige symptomen van toxiciteit te vertonen. In het algemeen geldt dat bladweefsels die boven de 500 mg Mo bevatten toxisch kunnen zijn voor een plant.

Enkele symptomen zijn het misvormen van de bladeren, een goudgele verkleuring van de bladeren en remming van de wortel en bladgroei. Deze symptomen zijn het resultaat van de remming van de ijzermetabolisme in de plant, wat veroorzaakt wordt door de hoge molybdenumconcentraties (Gupta, 1997).

## Conclusie/Discussie

Molybdenum (Mo) is een essentieel micronutriënt voor planten. In bijna alle planten wordt molybdenum in hele lage concentraties gevonden. Hoewel deze concentraties erg laag zijn, kan er wel degelijk een gebrek aan molybdenum in planten optreden. Te lage concentraties molybdenum zorgen ervoor dat een plant niet meer optimaal kan functioneren. We kunnen twee soorten effecten onderscheiden; visuele effecten en metabolische effecten. Molybdenum is betrokken bij veel enzymatische processen, waaronder nitraat reductase, nitrogenase, xanthine dehydrogenase, aldehyde oxidase en sulfiet oxidase. Sinds deze invloed van molybdenum bekend is, is er veel onderzoek gedaan naar wat een tekort aan molybdenum voor invloed heeft op deze reacties. Dit is erg lastig om te bepalen, omdat de reacties erg complex zijn. Wel is er bekend dat de enzymen invloed hebben op de plantontwikkeling en het vermogen tot aanpassen aan bepaalde situaties. Om meer duidelijkheid te krijgen is verder onderzoek noodzakelijk. Wellicht wordt er dan meer duidelijk over de gevolgen van een tekort aan molybdenum. Naast een tekort aan molybdenum kan er ook een overschot van molybdenum aanwezig zijn. Enkele symptomen die kunnen optreden bij toxische waarden van molybdenum zijn het misvormen van de bladeren, een goudgele verkleuring van de bladeren en remming van de wortel en bladgroei. Over dit aspect van molybdenum is ook nog weinig over bekend. Daarnaast bestaat er nog veel onduidelijkheid over de opname van molybdenum. Dit aspect is de laatste jaren veelal onderzocht, maar onderzoekers kunnen hier nog geen duidelijkheid over geven. Waarschijnlijk houdt dit verschijnsel de onderzoekers het meest bezig, omdat bepaalde uitkomsten over de opname ook iets kunnen zeggen over andere aspecten van molybdenum. Het zou dan ook verstandig zijn dat hier het meeste onderzoek aan wordt gedaan.

## Referenties

- Anderson A.J. (1956) Molybdenum deficiencies in legumes in Australia. *Soil Science* 81: 173-182.
- Ataya F.S., Wittes C.P., Galván A., Igenos M.I. (2003) The molybdenum cofactor carrier protein *Chlamydomonas reinhardtii* and participates in protection, binding, and storage functions of the cofactor. *The Journal of Biological Chemistry* 278: 10885-10890.
- Barker A.V., Pilbeam D.J. (2007) *Handbook of Plant Nutrition*. CRC, Taylor & Francis: 375-389.
- Campbell W.H. (2001) Structure and function of eukaryotic nitrate reductase. *Cellular and Molecular Life Sciences* 58: 194-204.
- Chatterjee C., Nautiyal N., Agarwala S.C. (1985) Metabolic changes in mustard plants associated with molybdenum deficiency. *New Phytol* 100: 511-518.
- Fitzpatrick K.L. (2008) Molybdenum transport in plants. *The Plant Journal* 10: 1508-1513.
- Gupta U.C. (1997) Molybdenum in agriculture. *Principles of Plant Nutrition* 10: 160-170.
- Hamlin R.L., (2007) *Handbook of Plant Nutrition*, Science 12: 375-389.
- Hänsch R., Mendel R.R. (2002) Molybdoenzymes and molybdenum cofactor in plants. *Journal of Experimental Botany* 375: 1689-1698.
- Heuwinkel H., Kirkby E.A., Le Bot J., Marschner H. (1992) Phosphorus deficiency enhances molybdenum uptake by tomato plants. *Journal of Plant Nutrition* 15: 549-568.
- Kaiser B.N., Gridley K.L., Brady J.N., Philips T., Tyerman S.D. (2005) The role of molybdenum in agricultural plant production. *Trends in Plant Science* 142: 745-754.
- Mahler R.L. (1997) Essential plant and animal micronutrients: Molybdenum in Idaho. *Field Crop Research* 60: 11-26.
- Mendel R.R. (2007) Biology of the molybdenum cofactor. *Journal of Experimental Botany* 58: 2289-2296.
- Seo M., Koshiha T. (2002) Complex regulation of ABA biosynthesis in plants. *Trends in Plant Science* 7: 41-48.
- Schwarz G., Mendel R.R. (2006) Molybdenum cofactor biosynthesis and molybdenum enzymes. *Plant Biology* 57: 623-647.
- Tomatsu H., Takano J., Takahashi H.M., Watanabe-Takahashi A., Shibagaki N., Fujiwara T. (2007) An *Arabidopsis thaliana* high-affinity molybdate transporter required for efficient uptake of molybdate from soil. *The Plant Journal* 34: 1222-1234.
- Vergnes A., Pommler J., Toel R., Blasco F., Glordano G., Magalon A., (2005) NarJ chaperone binds on two distinct sites of the aponitrate reductase of *Escherichia coli* to coordinate molybdenum cofactor insertion and assembly. *The Journal of Biological Chemistry* 281: 2170-2176.
- Evans H., Purvis E., Bear F., (1951) Effect of soil reaction on availability of molybdenum. *Soil Science* 71: 117-124.
- Weir R.G. (2004) Molybdenum deficiency in plants. *The Plant Journal* 94: 532-536.

## Dankwoord

Deze scriptie is gemaakt onder begeleiding van dr. L.J. de Kok, Laboratorium voor Plantenfysiologie, Rijksuniversiteit Groningen.