

Effect of Zinc Deficiency and Excess on the Growth and Photosynthesis of Winter Wheat

N.M. Kaznina*, A.F. Titov

Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Science, Petrozavodsk, Russia

*E-Mail: kaznina@krc.karelia.ru

Received October 05, 2017

Zinc is one of the necessary micronutrients for plants, which performs a number of various functions in their cells. Therefore, the deficiency of this element negatively affects on plants and leads to a significant decrease of their productivity. On the other hand, zinc in high concentrations is toxic to plants, and its accumulation in aerial organs, especially in cereals, represent a real danger to human and animal health. In this investigation the effect of the deficiency (Zn 0 μ M) and the excess of zinc (Zn 1000 μ M) on the growth and photosynthesis of the winter wheat (cv. Mironovskaya 39) was studied. As a result, similarities and differences in the response of plants to these two types of stress were revealed. In particular, both with a lack and with an excess of metal in the nutrient solution, shoot growth and photosynthesis rate are inhibited which leads to a decrease in the accumulation of dry biomass. Excess of metal, in contrast to its deficiency, leads to inhibition of root growth, and also a negative impact on pigment content, including light-harvesting complexes, and on maximum quantum yield of PS II. It is assumed that these changes in the photosynthetic apparatus are the main causes of a decrease of photosynthesis rate in plants under these conditions, whereas in the case of zinc deficiency, an inhibition of the process intensity is most likely due to a change in the activity of zinc-containing enzymes involved in the dark reactions of photosynthesis.

Key words: Triticum aestivum L., zinc stress, growth, photosynthesis

Сокращения: ПДК – предельно допустимые концентрации; ССК – светособирающие комплексы; ФС II – фотосистема II; ФСА – фотосинтетический аппарат

Цинк является одним из наиболее важных микроэлементов, необходимых для нормальной жизнедеятельности растений. Он действует как функциональный, структурный или регуляторный кофактор большого числа ферментов, участвующих в клеточном метаболизме. Цинк также содержится в целом ряде факторов транскрипции в составе домена под названием «цинковые пальцы» (zinc finger proteins). Белки типа «цинковые пальцы» участвуют в связывании ДНК и РНК, белок-белковом узнавании, в процессах передачи сигнала внутри клетки (Agarwal *et al.*, 2007; Figueiredo *et al.*, 2012; Sadeghzadeh, 2013). Важная роль отводится цинку и в защите клеточных мембран от перекисного окисления липидов и белков. Это обусловлено его способностью взаимодействовать с фосфолипидами мембранных белков, что способствует поддержанию структурной и функциональной целостности мембран (Сакмак, 2000). Отметим также участие цинка в синтезе триптофана, который является предшественником ИУК, а следовательно, его непосредственное влияние на рост растений (Alloway, 2004).

Вследствие многообразия функций, которые цинк выполняет в растительной клетке, его дефицит отрицательно сказывается на жизнедеятельности растений и вызывает снижение их продуктивности. Особенно чувствительны к недостатку цинка культурные злаки, у которых даже небольшое снижение концентрации этого металла в растении приводит к значительным потерям урожая. Поскольку почти для 50% территорий в мире, используемых для выращивания злаковых культур, характерно низкое содержание цинка в почве, недостаток этого элемента является серьезной мировой проблемой (Сакмак, 2008). Обычно ее решают за счет использования цинксодержащих минеральных удобрений. Однако бесконтрольное их внесение, а также применение химических средств защиты растений от болезней и вредителей, в состав которых входит цинк, и усиление техногенного загрязнения окружающей среды этим элементом приводит к резкому увеличению его содержания в почве. В результате концентрация цинка на

отдельных территориях может в десятки и даже сотни раз превышать ПДК. Поскольку цинк относится к группе тяжелых металлов, в высоких концентрациях он токсичен для растений. Кроме того, его накопление в больших количествах в наземных органах культурных злаков представляет определенную угрозу здоровью человека и животных. Неудивительно, что к настоящему времени накоплен довольно большой фактический материал, касающийся воздействия высоких концентраций цинка на растения. Гораздо в меньшей степени изучено влияние на растения дефицита этого металла. В сравнительном же плане ответная реакция растений на эти два вида стрессовых воздействий почти не исследована. Поэтому наша задача заключалась в сравнительном изучении влияния недостатка и избытка цинка на рост и фотосинтез озимой пшеницы.

MATERIALS AND METHODS

Условия выращивания

Объектом исследования служили растения озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) с. Московская 39, которые выращивали в камере искусственного климата в рулонах фильтровальной бумаги при температуре 22 °С, относительной влажности воздуха 60–70%, ФАР 100 мкмоль/(м²·с), 14-часовом фотопериоде, на питательном растворе Хогланда-Арнона с добавлением микроэлементов, в том числе цинка в концентрации 2 мкМ в виде сернокислой соли (контрольный вариант). В опытном варианте с недостатком цинка соль металла не добавлялась (Zn 0), а в варианте с избытком цинка к питательному раствору добавляли металл в концентрации 1000 мкМ (Zn 1000).

Анализ морфологических и физиологических показателей

О влиянии недостатка или избытка цинка на рост растений судили на 8 сут по изменению (по отношению к контролю) следующих показателей: длина наиболее развитого корня и высота побега, их сухая биомасса и площадь 1-го листа. Помимо этого анализировали содержание фотосинтетических пигментов, квантовую эффективность ФС II и

интенсивность фотосинтеза. Сухую биомассу растений измеряли после высушивания при 105°C до постоянного сухого веса. Содержание пигментов определяли спектрофотометрически, экстрагируя 80%-ным ацетоном (Shlyk, 1971). Долю хлорофиллов в светособирающих комплексах (ССК) от их общей суммы рассчитывали исходя из того, что весь хлорофилл *b* находится в ССК, а отношение хлорофиллов *a/b* в ССК равно 1.2 (Lichtenthaler, 1987). Флуоресценцию хлорофилла измеряли с помощью анализатора фотосинтеза с импульсно-модулированным освещением MINI-PAM (Walz, Германия). Максимальный квантовый выход фотохимической активности ФС II (F_v/F_m) определяли после 20-минутной темновой адаптации листьев. Скорость фотосинтеза анализировали по поглощению CO₂ на установке для исследования CO₂-газообмена и водяных паров HCM-1000 (Walz, Германия) при температуре листа 22°C. Биологическая повторность в пределах каждого варианта опыта составляла для разных показателей от 3 до 10 растений, аналитическая повторность 3–4-кратная. Весь опыт повторяли дважды.

Статистическая обработка данных

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Microsoft Excel. Рассчитывали средние арифметические и стандартные отклонения. Достоверность различий между вариантами опыта оценивали, используя критерий Стьюдента (при $p < 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

Проведенные исследования показали, что недостаток цинка не оказывает влияния на рост корня растений пшеницы, тогда как при его избытке он заметно тормозился, о чем свидетельствует существенное уменьшение длины наиболее развитого корня и биомассы корневой системы (табл. 1). В отличие от этого, замедление роста побега наблюдалось в обоих вариантах опыта, хотя при избытке металла и несколько в большей степени. Площадь листовой пластинки при этом достоверно не изменялась.

Необходимо отметить, что отрицательное влияние дефицита цинка на рост побега у злаков

наблюдали ранее и другие исследователи, в частности, у риса (Höller *et al.*, 2014), пшеницы и ржи (Sakmak *et al.*, 1997). В отношении же роста корня в этих условиях, данные противоречивы. В ряде работ показано, что недостаток металла в субстрате не сказывается на размере корней и их биомассе (Wang, Jin, 2007; Höller *et al.*, 2014), что согласуется с полученными нами данными, тогда как другие авторы отмечали ярко выраженный отрицательный эффект (Dong *et al.*, 1995; Zhao *et al.*, 2017). Например, у ячменя при недостатке цинка снижалось число и размеры корневых волосков (Genc *et al.*, 2007), а у риса уменьшались размеры апекса корня (Ricachenevsky *et al.*, 2015). Предполагается, что торможение роста растений при дефиците этого металла, в основном, связано с уменьшением содержания ИУК вследствие снижения синтеза триптофана (Alloway, 2004), а также с нарушением окислительно-восстановительного баланса клеток (Höller *et al.*, 2014). При этом выявлено, что значительная задержка роста в большей степени характерна для менее устойчивых к недостатку цинка видов (сортов) культурных злаков.

Хорошо известно и о негативном влиянии избытка цинка на рост растений, которое отмечалось ранее в наших исследованиях и в работах других авторов. Так, при действии цинка в концентрации 1000 мкМ заметно уменьшались размеры корня и побега у ячменя (Kaznina *et al.*, 2010), а при концентрации металла 2000 мкМ – у сахарного тростника (Jain *et al.*, 2010). Содержание цинка в питательном растворе равное 1200 мкМ приводило к уменьшению скорости роста корней и побегов у пшеницы и кукурузы (Rachmancylova *et al.*, 2008). Полагают, что замедление роста растений в этих условиях в основном связано с ингибирующим действием металла на деление и растяжение клеток. В частности, в присутствии цинка обнаружено увеличение продолжительности клеточного цикла, а также уменьшение размеров клеток корня (Seregin *et al.*, 2011). Кроме того, отрицательный эффект высоких концентраций этого металла в отношении ростовых показателей может быть вызван нарушениями в водном обмене, минеральном питании и фотосинтезе растений.

Интересным является и тот факт, что как при недостатке, так и при избытке цинка площадь листовой пластинки у пшеницы не изменяется. Аналогичный факт был выявлен нами ранее у ячменя и овса при действии на растения свинца (Kaznina *et al.*, 2005). Очевидно, способность злаков сохранять в неблагоприятных условиях минерального питания размеры ассимиляционной поверхности является одним из способов, обеспечивающих высокую продуктивность растений.

Как известно, снижение продуктивности злаков в стрессовых условиях во многом связано с нарушениями в ФСА, одним из видимых проявлений которых является хлороз листьев. В наших опытах хлороз был обнаружен только при избытке цинка в корнеобитаемой среде, что связано с заметным уменьшением содержания хлорофиллов (*a* и *b*) (табл. 2). В отличие от этого, при недостатке металла несколько снижалось содержание только хлорофилла *b*. Более сильное воздействие изученных стресс-факторов на количество хлорофилла *b*, явилось причиной некоторого увеличения отношения хлорофиллов *a* и *b* в обоих вариантах опыта. Это приводило к снижению доли хлорофиллов в ССК фотосистем, а следовательно, к ухудшению светопоглощающих свойств ФСА. Поддержание же у растений при недостатке цинка высокого уровня каротиноидов, очевидно, позволяет частично компенсировать эти потери, благодаря способности желтых пигментов выполнять роль дополнительных «светосборщиков».

При оценке воздействия неблагоприятных условий среды на ФСА информативными считаются показатели, отражающие эффективность работы фотосистем, в частности, ФС II, поскольку именно она играет ключевую роль в генерировании и регуляции электронного транспорта в хлоропластах и она же наиболее чувствительна к стрессорам (Rubin, 2005). Наши опыты выявили отрицательное воздействие избытка цинка на максимальный квантовый выход фотохимической активности ФС II, что свидетельствует об определенных нарушениях или изменениях в ее функционировании, хотя при недостатке цинка это не происходило (табл. 2). Что касается интенсивности фотосинтеза, то она

снижалась в обоих вариантах опыта, причем примерно в равной степени (в среднем на 14% по отношению к контролю).

В литературе имеются сведения о том, что у злаков дефицит цинка может вызывать уменьшение содержания фотосинтетических пигментов, которое проявляется у них в виде межжилкового хлороза. Это, в частности, наблюдали у пшеницы (Сакмак, Браун, 2001), риса (Frei *et al.*, 2010) и ячменя (Genc *et al.*, 2003). Тем не менее, как показывают исследования, указанные симптомы наблюдаются при довольно сильном дефиците этого микроэлемента. При меньшей же интенсивности стрессового воздействия они могут отсутствовать и выявляются лишь на уровне отдельных физиолого-биохимических процессов (Alloway, 2004). В наших опытах у растений при недостатке цинка заметно снижалась скорость фотосинтеза. Однако при этом существенных изменений в содержании фотосинтетических пигментов не наблюдалось, лишь несколько уменьшалось содержание хлорофилла *b*, не было обнаружено и нарушений в ФС II. По-видимому, в этом случае замедление интенсивности процесса в большей степени было связано с реакциями темновой фазы фотосинтеза. В пользу этого свидетельствуют и полученные рядом авторов данные о снижении при недостатке цинка активности цинксодержащего фермента карбоангидразы, который способствует более эффективной работе рибулозобисфосфат-карбоксилазы/оксигеназы путем увеличения концентрации CO₂ – основного субстрата карбоксилазной активности фермента (Hacisalihoglu *et al.* 2003; Ricachenevsky *et al.*, 2015), а также триозофосфатдегидрогеназы (Singh, 2005).

Об ингибирующем действии высоких концентраций цинка на фотосинтез растений хорошо известно. Многие авторы полагают, что снижение интенсивности процесса в этих условиях связано, в первую очередь, с негативным влиянием металла на фотосинтетические пигменты, в частности, с замедлением их синтеза и/или с усилением деградации (Khudsar *et al.*, 2004; Vassilev *et al.*, 2011). Не менее важной причиной замедления скорости процесса в присутствии избытка металла является нарушение структурной целостности ФС II, что

приводит к нарушениям транспорта электронов (Rashid *et al.*, 1991; Ouni *et al.*, 2016).

Table 1. Влияние недостатка (Zn 0 мкМ) и избытка (Zn 1000 мкМ) цинка в корнеобитаемой среде на рост растений пшеницы с. Мироновская 39

Показатель	Варианты опыта		
	контроль	Zn 0	Zn 1000
Длина корня, см	10.9±0.3	10.7±0.3	6.6±0.3*
Сухая биомасса корней, мг	4.6±0.2	4.2±0.3	3.6±0.1*
Высота побега, см	18.0±0.5	16.3±0.6*	14.3±0.5*
Сухая биомасса побега, мг	14.5±0.5	13.5±0.1*	11.9±0.7*
Биомасса растения, мг	19.1±0.3	16.7±0.2*	15.5±0.3*
Площадь листа, см ²	3.0±0.1	2.8±0.2	2.6±0.2

Примечание. * различия между опытными вариантами и контролем достоверны при $p < 0.05$.

Table 2. Влияние недостатка (Zn 0 мкМ) и избытка (Zn 1000 мкМ) цинка в корнеобитаемой среде на ФСА у растений пшеницы с. Мироновская 39

Показатель	Вариант опыта		
	контроль	Zn 0	Zn 1000
Содержание хлорофилла <i>a</i> , мг/г сырой массы	1.623±0.007	1.578±0.005	1.240±0.008*
Содержание хлорофилла <i>b</i> , мг/г сырой массы	0.713±0.007	0.672±0.003*	0.519±0.004*
Отношение хлорофиллов <i>a/b</i>	2.28±0.01	2.35±0.01*	2.39±0.004*
Содержание хлорофиллов в ССК, %	67.2±0.3	65.7±0.2*	64.8±0.1*
Содержание каротиноидов, мг/г сырой массы	0.416±0.005	0.432±0.004	0.339±0.002*
<i>Fv/Fm</i>	0.790±0.002	0.790±0.001	0.780±0.002*
Интенсивность фотосинтеза, мкМ CO ₂ /м ² ·с	6.931±0.050	5.890±0.170*	6.140±0.040*

Примечание. * различия между опытными вариантами и контролем достоверны при $p < 0.05$.

Table 3. Характер изменения показателей роста и параметров ФСА у растений пшеницы с. Мироновская 39 при недостатке (Zn 0 мкМ) и избытке (Zn 1000 мкМ) цинка в корнеобитаемой среде после 8 дней экспозиции

Процесс/показатель	Вариант воздействия	
	Zn 0	Zn 1000
Рост корня	Не изменяется	Замедляется
Рост побега	Замедляется	Замедляется
Площадь листа	Не изменяется	Не изменяется
Сухая биомасса растения	Уменьшается	Уменьшается
Содержание хлорофилла <i>a</i>	Не изменяется	Уменьшается
Содержание хлорофилла <i>b</i>	Уменьшается	Уменьшается
Содержание хлорофилла в ССК	Уменьшается	Уменьшается
Содержание каротиноидов	Не изменяется	Уменьшается
Квантовая эффективность ФС II	Не изменяется	Уменьшается
Интенсивность фотосинтеза	Уменьшается	Уменьшается

В целом проведенное нами исследование показало, что как при дефиците, так и при избытке цинка в корнеобитаемой среде у пшеницы происходят определенные изменения, затрагивающие рост и фотосинтез растений. При этом в ответных реакциях растений на эти стрессы

имеются как черты сходства, так и определенные различия, причем не только количественного, но и качественного характера (табл. 3). И при недостатке, и при избытке цинка у пшеницы тормозится рост побега и замедляется скорость фотосинтеза, что приводит к уменьшению накопления ими сухой биомассы. При этом более сильное ингибирующее действие избытка металла на биомассу растений во многом объясняется торможением в этих условиях роста корня. Практически же равное при обоих типах стрессового воздействия уменьшение интенсивности фотосинтеза, по-видимому, вызвано разными причинами. При избытке цинка оно в значительной степени связано с уменьшением содержания пигментов, в том числе в ССК, и снижением квантовой эффективности ФС II, тогда при его недостатке, вероятно, с изменением активности ферментов, участвующих в темновых реакциях фотосинтеза.

ACKNOWLEDGEMENT

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (тема №0221-2014-0032).

Исследования выполнены на научном оборудовании ЦКП ИБ КарНЦ РАН «Комплексные фундаментальные и прикладные исследования особенностей функционирования живых систем в условиях Севера».

REFERENCES

- Agarwal P., Arora A., Ray S., Singh A.K., Singh V.P., Takatsuji H., Kapoor S., Tyagi A.K. (2007) Genome-wide identification of C₂H₂ zinc-finger gene family in rice and their phylogeny and expression analysis. *Plant Mol. Biol.*, **65**, 467-485.
- Alloway B.J. (2004) Zinc in Soil and Crop Nutrition. International Zinc Association. Brussels, Belgium.
- Cakmak I., Ekiz H., Yilmaz A., Torun B., Köleli N., Gültekin I., Alkan A., Eker S. (1997) Differential response of rye, triticale, bread and durum wheats to zinc deficiency in calcareous soils. *Plant Soil*, **188**, 1-10.
- Cakmak I. (2000) Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species. *New Phytol.*, **146**, 185-205.
- Cakmak I., Braun H.J. (2001) Genotypic variation for zinc efficiency. In: Reynold M.P., Ortiz-Monasterio J.I., McNab A. (eds.) Application of physiology in wheat breeding. D.F.CIMMYT, Mexico, pp. 183-189.
- Cakmak I. (2008) Zinc deficiency in wheat in Turkey. In Alloway, B.J. (ed.), *Micronutrient Deficiencies in Global Crop Production*. Springer, Springer Science + Business Media, B.V., pp. 181-200.
- Dong B., Rengel Z. and Graham R. D. (1995) Root morphology of wheat genotypes differing in zinc efficiency. *J. Plant Nutr.*, **18**, 2761-2773.
- Figueiredo D.D., Barros P.M., Cordeiro A.M., Serra T.S., Lourenço T., Chander S., Oliveira M.M., Saibo N.J. (2012) Seven zinc-finger transcription factors are novel regulators of the stress responsive gene OsDREB1B. *J. Exp.Bot.*, **63**, 3643-3656.
- Frei M., Wang YX, Ismail AM, Wissuwa M. (2010) Biochemical factors conferring shoot tolerance to oxidative stress in rice grown in low zinc soil. *Functional Plant Biol.*, **37**, 74-84.
- Genc Y., Huang CY, Langridge P. (2007) A study of the role of root morphological traits in growth of barley in zinc-deficient soil. *J. Exp. Bot.* **58**, 2775-2784.
- Genc Y., Shepherd K.W., McDonald G.K., Graham R.D. (2003) Inheritance of tolerance to zinc deficiency in barley. *Plant Breeding*, **122**, 283-284.
- Hacisalihoglu G., Hart J. J., Wang Y.H., Cakmak I., Kochian L.V. (2003). Zinc efficiency is correlated with enhanced expression and activity of zinc-requiring enzymes in wheat. *Plant Physiol.*, **131**, 595-602.
- Höller S., Meyer A., Frei M. (2014) Zinc deficiency differentially affects redox homeostasis of rice genotypes contrasting in ascorbate level. *J. Plant Physiol.*, **171**, 1748-1756.
- Jain R., Strivastava S., Solomon S., Chrivastava A.K., Chandra A. (2010) Impact of excess zinc on growth parameters, cell division, nutrient accumulation, photosynthetic pigments and oxidative stress of sugarcane (*Saccharum* spp.). *Acta Physiol. Plant.*, **32**, 979-986.
- Kaznina N.M., Laidinen G.F., Titov A.F., Talanov A.V. (2005) Effect of lead on the photosynthetic

- apparatus of annual grasses. *Biology bull.* **32(2)**, 147-150.
- Kaznina N.M., Titov A.F., Laidinen G.F., Batova Y.V. (2010) Vlijanie tsinka na produktivnost' jarovogo jachmenja v vegetatsionnom opyte. *Agrochimija*, **8**, 72-76. [In Russian].
- Khudsar T., Mahmooduzzafar, Iqbal M., Sairam R.K. (2004) Zinc-induced changes in morpho-physiological and biochemical parameters in *Artemisia annua*. *Biol. Plant.*, **48**, 255-260.
- Lichtenthaler H.K. (1987) Chlorophylls and carotenoids – pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in enzymology*, **148**, 350–382.
- Ouni Y., Mateos-Naranjo E., Abdely C., Lakhdar A. (2016) Interactive effect of salinity and zinc stress on growth and photosynthesis responses of the perennial grass, *Polypogon monspeliensis*. *Ecol. Engineering*, **95**, 171-179.
- Rachmanculova Z.F., Fediaev V.V., Abdullina O.A., Usmanov I.U. (2008) Formirovanie adaptacionnih mehanizmov u phenizi i kukuruzi k povishennomu codershaniu zinca. *Vestnik Bahkirskogo yuniversiteta*, **13(1)**, 43-46. [In Russian].
- Rashid A., Bernier M., Pazdernick L., Carpentier R. (1991) Regular paper interaction of Zn ²⁺ with the donor side of photosystem II. *Photosynthesis Res.*, **30**, 123-130.
- Ricachenevsky F.K., Menguer P.K., Sperotto R.A., Fett J.P. (2015) Got to hide your Zn away: molecular control of Zn accumulation and biotechnological applications. *Plant Sci.*, **236**, 1-17.
- Rubin A.B. Biophysica fotosinteza I metodi ekologicheskogo monitoring. (2005) *Technologii zhivich cicem.* 2, 47-68. [In Russian].
- Sadeghzadeh B. (2013) A review of zinc nutrition and plant breeding. *J. Soil Sci. Plant Nutr.*, **13(4)**, 905-927.
- Seregin I.V., Kozhevnikova A.D., Gracheva E.I., Bystrova E.I., Ivanov V.B. (2011) Tissue zinc distribution in maize seedling roots and its action on growth. *Rus. J. Plant Physiol.*, **58(1)**, 109-117.
- Shlyk A. A. (1971) Opredelenie khlorofillov i karotinoidov v ekstraktakh zelenykh list'ev. *Biologicheskie metody v fiziologii rastenii*, Nauka, Moskva, Russia, pp. 154-170. [In Russian].
- Singh V.P. (2005) Toxic metals and environmental issues. Publ. SARUP&SOIS, New Delhi, India, 360 p.
- Vassilev A., Nikolova A., Koleva L., Lidon F. (2011) Effects of excess Zn on growth and photosynthetic performance of young bean plants. *J. Physiol.*, **3(6)**, 5-62.
- Wang H., Jin J. (2007) Effect of zinc deficiency and drought on plant growth and metabolism of reactive oxygen species in maize (*Zea mays* L.). *Agricul.Sci. in China*. **6(8)**. 988-995.
- Zhao K., Wu Y. (2017) Effects of Zn deficiency and bicarbonate on the growth and photosynthetic characteristics of four plant species. *Plos one*, **12(1)**: e0169812.