

EFFECT OF OXYGEN DEFICIENCY ON GROWTH COMPONENTS OF LETTUCE DURING GROUND BASED EXPERIMENT IN SVET-2 SPACE GREENHOUSE

Iliana Ilieva¹, Romyana Dikova², Tania Ivanova¹, Snejana Doncheva²

¹*Space Research Institute, Bulgarian Academy of Sciences*

²*Institute of Plant Physiology, Bulgarian Academy of Sciences,
e-mail: iliana_ilieva@space.bas.bg*

ВЛИЯНИЕ НА НЕДОСТИГА НА КИСЛОРОД ВЪРХУ РАСТЕЖА НА САЛАТЕНИ РАСТЕНИЯ ПРИ НАЗЕМЕН ЕКСПЕРИМЕНТ В КОСМИЧЕСКА ОРАНЖЕРИЯ СВЕТ-2

Илияна Илиева¹, Румяна Дикова², Таня Иванова¹, Снежана Дончева²

¹*Институт за космически изследвания, Българска академия на науките*

²*Институт по физиология на растенията, Българска академия на науките
e-mail: iliana_ilieva@space.bas.bg*

Ключови думи: *Космическа оранжерия СВЕТ-2, преовлажняване на субстратната среда, салатени растения, растежни показатели, фотосинтеза*

Резюме: *Салатени растения (Lactuca sativa L. var Lolo Rosa) бяха отглеждани в лабораторния образец на Космическа оранжерия СВЕТ-2 върху субстрат Балканин при контролируеми условия. На 21-ден от тяхното развитие растенията бяха подложени на 10-дневно преовлажняване на субстратната среда, последвано от 10-дневен възстановителен период. Чрез преовлажняването на субстрата бяха създадени условия, с които се имитира специфичното прекъсване на въздухоносните пори в субстратната среда в микрогравитация, възникващо вследствие на променената физика на флуидите и проблемите при управлението на влажността в субстратната среда в космически условия. По време на преовлажнителния и възстановителния периоди бяха взети проби за определяне на растежните параметри на растенията, съдържанието на хлорофил и интензивността на фотосинтезата.*

По време на преовлажняването нарастването на растенията на височина и натрупването на свежа биомаса бяха значително инхибирани. През възстановителния период растенията увеличиха височината си и натрупаната биомаса в сравнение със същите, измерени през периода на преовлажняване, но в края на възстановителния период натрупаната от тях биомаса беше с 4 пъти по-малка от тази на непреовлажнените растения. Интензивността на фотосинтезата се понижи с 75% при преовлажнените растения в сравнение с непреовлажнените, а съдържанието на хлорофил в листата на растенията намалю с 29% в хода на преовлажняването. В процеса на възстановяване тези показатели бяха намалени съответно с 30% и 15%.

Получените от нас резултати показаха, че преовлажняването забавя развитието на салатените растения и оказва влияние върху добива им. Установените от нас изменения обаче са обратими и след прекратяване на преовлажняването, растенията възстановиха фотосинтетичната си активност, биосинтезата на хлорофил и растежа си.

Увод

Осигуряването на нормални условия за живот на екипажите при продължителни мисии в открития космос изисква изграждането на изкуствени екосистеми на борда на космическите кораби и станции, които имат способността да се саморегенерират – т.е. да пречистват въздуха и водата, и да осигуряват храна за космонавтите. Основното звено в тези изкуствени живот-поддържащи системи са растенията. През последните близо 20 години са конструирани различни типове космически оранжерии и в тях са проведени експерименти с различни растения на борда на руската Орбитална станция МИР, на американските совалки и в днешни дни на Международната космическа станция [1].

В използваните космически оранжерии конструктивно са обособени две зони – листна зона, в която се развива надземната част на растенията и коренова зона, в която се развиват корените. Микрогравитацията е уникална среда, която оказва влияние върху процесите протичащи в тези две

зони, като предизвиква много характерни само за микрогравитацията проблеми. Проблемите в листната зона са свързани с липсата на конвекция, което налага изкуствената циркулация на въздушната среда, с поддържането на оптимална за растенията влажност и температура на въздуха и наличието на вредни за растенията примеси във въздуха като например етилен. Повечето от тези проблеми са намерили своето техническо решение, създадени са и нови сортове растения устойчиви на етилен. Проблемите, обаче, възникващи в кореновата зона и до днес не са решени. Поради липсата на естествена конвекция аерацията на субстратната среда е затруднена и се осъществява чрез дифузия на въздуха през перфорациите на кореновия модул. Подадената вода се разпространява посредством капилярни сили в обема на субстрата, като придвижвайки се може да образува менискуси между две съседни субстратни частички и по този начин да прекъсне разпространението на въздуха в субстратната среда и да предизвика недостиг на кислород в кореновата система на растенията [2]. Допълнително, кислородното съдържание в субстратната среда може да бъде понижено, от повишаване на водното съдържание, вследствие на проблеми с управлението на влажността в средата [3]. Съдържанието на кислород в субстратната среда все повече намалява, тъй като дифузията на газ във вода е 10 000 пъти по-бавна отколкото на газ в газ.

Признаци за недостиг на кислород в кореновата система на растенията в микрогравитация са наблюдавани при различни растения, отгледани в различни конструкции космически оранжерии, изразяващи се в индукция на ферментативни ензими в корените на растенията [4] и натрупване на въглехидрати в надземната част на растенията [5].

В лабораторни условия недостиг на кислород в кореновата среда на растенията се постига, чрез преовлажняване на субстратната среда, при което водата измества въздуха от въздухоносните пори на субстрата. В лабораторния образец на Космическа оранжерия СВЕТ-2 беше проведен наземен експеримент с цел да бъде изследвано в динамика влиянието на недостига на кислород в кореновата система на салатени растенията, постигнат чрез преовлажняване на субстратната среда и влиянието на последващото реоксигениране (възстановяване достъпа на кислород в кореновата среда) върху растежните параметри, съдържанието на хлорофил в листата и интензивността на фотосинтезата на салатените растения.

Методи и материали

Постановка на експеримента

Експериментът беше проведен в лабораторния образец на Космическа оранжерия СВЕТ-2 (КО СВЕТ-2). КО СВЕТ-2 се състои от Камера за отглеждане на растенията (КОР) и Блок за управление (БУ). В КОР са обособени две зони – листна зона в която са разположени Блок за осветление (БО) и сензорите за мониторинг на параметрите на въздушната среда – налягане, температура и влажност на въздуха, осветеност и скорост на въздушният поток [6]. В кореновата зона е разположен Кореновият модул (КМ), състоящ се от две Касети (К-1 и К-2). Влажността на субстрата – средата в която се посадят семената и се развиват корените, се поддържа автоматично от сензор за влажност по един за всяка от Касетите, който може да поддържа влажност в диапазона от 0 (въздушно сух субстрат) до пълно преовлажняване на субстрата.

След първоначално овлажняване на субстрата семената на салата (*Lactuca sativa* L. cv. Lolo Rossa) бяха посадени на дълбочина 1 cm във всяка от лехите на КМ. Салатените растения бяха отгледани паралелно и в двете Касети като надземните им части се намираха при едни и същи условия докато корените им бяха подложени на различни условия. Надземната част на растенията беше отгледана при следните условия: температура на въздуха - 20-22°C, Фотосинтетичен фотонен поток - 120 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 16/8 h фото период и 0,055 m/s скорост на въздушният поток преминаващ през КОР. Корените на растенията бяха отгледани в субстрат Балканин с големина на частиците 1-1,5 mm и при влажност на субстрата както следва: първоначално растенията във К-1 бяха отгледани при частично заблацияване на субстратната среда, което беше постигнато чрез поставянето на системата за подаване на вода в центъра на Касетата; подаваната вода се оттичаше към дъното на Касетата под въздействието на гравитацията, а след това посредством капилярните сили се придвижваше към горните слоеве на субстрата до посадените семена. На 21-ия ден от развитието си растенията бяха подложени на десетдневно преовлажняване – заблацияване на субстратната среда до повърхността на Касетата. Нивото на водата до повърхността на субстрата беше поддържано автоматично като беше зададен най-високият възможен за автоматично управление праг на влажност – 95%. След десетдневно преовлажняване растенията бяха оставени да усвоят излишната вода чрез понижаване на прага на влажност до нивото преди преовлажняването, като по този начин кореновата система беше плавно реоксигенирана (достъпа на кислород до корените беше възстановен) и в продължение на десет дни растенията бяха възстановени при първоначалните условия на отглеждане.

Растения в К-2 бяха отгледани при условия на оптимална влажност за развитие на кореновата система – пълна почвена влагоемкост. Хидросистемата беше поставена в горната част на Касетата – на 1 cm под покривния капак. При това положение подадената вода равномерно омокряше субстрата

от горе надолу и се стичаше към дъното на Касетата. В резултат се получи равномерно омокряне на субстрата, без да се образува зона с повишено водно съдържание на дъното на К-2. Растенията в К-2 бяха отгледани при тези условия до края на експеримента.

Анализ на растителния материал

Растения и от двете Касети бяха взети на третия и десетия ден от Преовлажняването и на третия и десетия ден от Възстановяването за определяне на височината на растенията, синтезираната свежа и суха биомаса, съдържанието на хлорофил а+b и интензивността на фотосинтезата.

Височината на растенията беше измерена с линия. На взетите растения беше измерено теглото на свежата биомаса, а след това пробите бяха изсушени в сушилня при температура 105°C до постоянно тегло за определяне на съдържанието на сухо вещество в растенията. Съдържанието на хлорофил а+b беше определено по метода на Arnon [7]. Интензивността на фотосинтезата беше измерена с портативната газ-анализираща система LiCor-6400 (Li-Cor, Lincoln, NE, USA). Съдържанието на хлорофил а+b и интензивността на фотосинтезата по време на Преовлажняването бяха определени на трети напълно развит лист на растенията. Тъй като по време на Преовлажняването възникна преждевременно остаряване и окапване на долните етажи от листа на растенията измерванията за хлорофил а+b и интензивността на фотосинтезата при Възстановяването бяха направени на четвърти напълно развит лист.

Резултати

Растеж на растенията

Преовлажняването преустанови нарастването на височина на растенията. Триденното възстановяване на притока на кислород в кореновата зона също не поднови нарастването на височина, но след десетдневен възстановителен период растенията нараснаха на височина с 28% в сравнение с периода на десетдневно преовлажняване и почти достигнаха височината на непреовлажнените растения - фиг.1. Листната площ на преовлажнените растения намаля по време на третирането, тъй като преовлажняването ускори процесите на остаряване на листата от една страна, а от друга - подтисна образуването на нови листа. За десетдневния период на преовлажняване на субстратната среда първи, втори и трети същински лист изсъхнаха и окапаха, и само един нов лист се образува. В периода на възстановяването тези растежни показатели бързо се възстановиха - фиг.2.

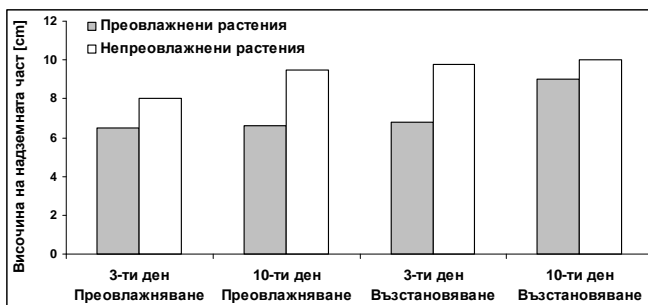
Застой в синтезата на свежа биомаса по време на преовлажняването също беше наблюдаван - фиг.3. Анализите, направени на десетия ден от преовлажняването показаха слабо нарастване на биомасата, но разликата в синтезираната биомаса между преовлажнените и непреовлажнените растения беше 4 пъти. Натрупването на сухо вещество в листата на салатата нарастна значително по време на преовлажняването и бавно намаля по време на възстановяването. След десетдневно преовлажняване съдържанието на сухо вещество в листата на преовлажнените растения се увеличи 1,5 пъти в сравнение с непреовлажнените - фиг.4.

Съдържание на хлорофил а+b в листата на растенията

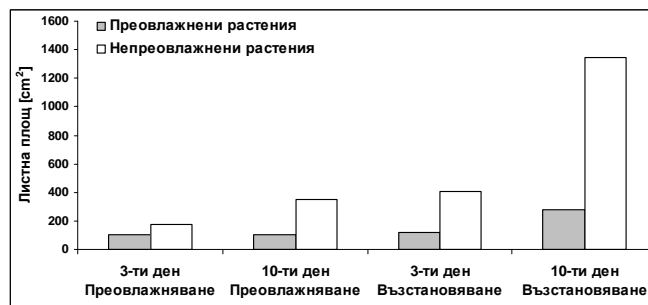
Съдържанието на хлорофил а+b в листата на растенията намаля в хода на преовлажняването и бавно се възстанови с прекратяването му. Триденното преовлажняване на кореновата система не подтисна синтезата на хлорофил а+b в листата на салатите, но след десетдневно преовлажняване съдържанието на хлорофил а+b в листата на растенията значително се понижи. По време на възстановителния процес биосинтезата на хлорофил а+b бавно се възстанови - фиг.5.

Интензивност на фотосинтезата

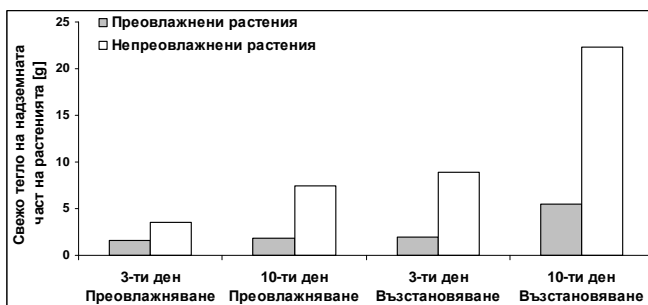
Преовлажняването предизвика бързо намаляване на Интензивността на фотосинтезата (Net photosynthetic rate - Pn). След триденно преовлажняване беше измерено 52% понижение на Pn, след десетдневно преовлажняване - 75% понижение. След прекратяване на преовлажняването интензивността на фотосинтезата бавно се възстанови - фиг.6.



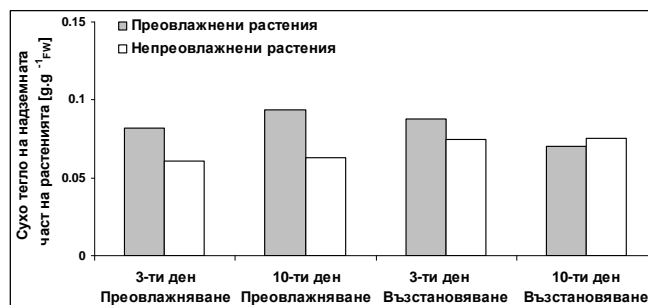
Фиг. 1. Височина на надземната част на растенията



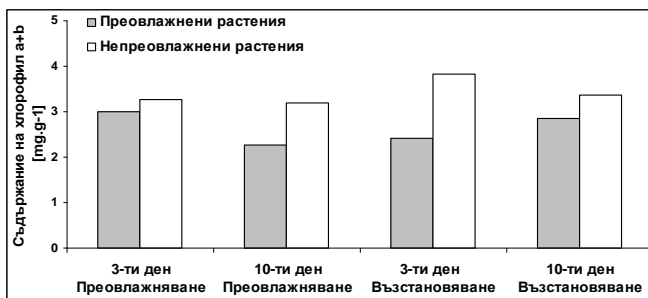
Фиг. 2. Листна площ



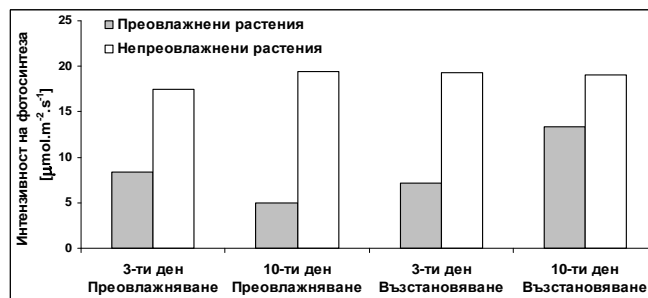
Фиг.3. Свезо тегло на надземната част на растенията



Фиг.4. Сухо тегло на надземната част на растенията



Фиг. 5. Съдържание на хлорофил a+b в листата на растенията



Фиг. 6. Интензивност на фотосинтезата

Дискусия

Преовлажняването подтиска развитието на растенията. Подтискането на растежа може да се отдаде на понижената асимилативна способност на растенията, тъй като преовлажняването доведе до значително понижение на интензивността на фотосинтезата. Последващото бързо нарастване на надземната част на растенията по време на възстановителния период вероятно е стимулирано от натрупания етилен в растението по време на преовлажняването – в малки концентрации етилена подпомага елонгацията на клетките като увеличава чувствителността на растителните тъкани към гиберелиновата киселина [8].

Натрупването на сухо вещество в листата на салатата нарасна значително по време на преовлажняването, предполагайки бавен отток на асимилатите, синтезирани в листата при фотосинтезата към нефункциониращите вследствие на недостига на кислород корени. След прекратяване на преовлажняването, още на третия ден от възстановителния процес, оттокът на асимилатите към корените се възстанови, предполагайки възстановяване на кореновите функции в известна степен [9].

Значително понижение на интензивността на фотосинтезата беше измерено при преовлажнените растения. Това понижение не може да бъде свързано само със затваряне на устицата, тъй като устичната проводимост на преовлажнените растения не се различаваше от тази на преовлажнените. Следователно, понижението може да се дължи на метаболитно инхибиране на фотосинтезата, изразяващо се в акумулиране на асимилатите от фотосинтезата вследствие на неспособността им да бъдат транспортирани до нефункциониращите корени [10]. След плавното реоксигениране на кореновата система в процеса на възстановяването беше измерена по-висока интензивност на фотосинтезата, но сравнена с тази на непреовлажнените растения тя беше с 30% по-слаба. При предишни изследвания също е наблюдавано частично възстановяване на

фотосинтетичната активност след прекратяване на стрес, изразяващ се в недостиг на кислород в кореновата система [11].

Резултатите показаха, че съдържанието на хлорофил а+b в листата на салатите остана непроменено през първите три дни от преовлажняването, но след десетдневна кислородна недостатъчност хлорофилното съдържание се понижи с 29% в сравнение с непреовлажнените растения и бавно се възстанови като остана с 15% по-ниско в сравнение с непреовлажняваните растения в края на преовлажняването.

Резултатите показаха, че преовлажняването забавя развитието на салатените растения и оказва влияние върху добива им, но салатените растения проявиха адаптивност към този вид стрес, изразена чрез способност бързо да възстановяват фотосинтетичната си активност и синтеза на хлорофил след прекратяване на преовлажняването. Вследствие на преовлажняването добивът, изразяващ се в количеството свежа биомаса, която е предназначена за витаминозна добавка към храната на космонавтите при продължителните космически полети беше чувствително понижен. Синтезираната свежа биомаса от растения, подложени макар и само на десетдневно преовлажняване беше 4 пъти по-малко в сравнение с непреовлажняваните растения.

Благодарности

Изследванията са финансирани от Министерството на образованието и науката – Договор КИ-1-01/03. Авторите изказват своята благодарност и на доц. д-р Николина Цветкова за оказаната помощ при измерванията на интензивността на фотосинтезата.

Литература

1. Илиева, И., Т. Иванова, С. Сапунова, П. Костов. Създаване на подходяща среда за развитие на растенията в микрогравитация - технически решения и експериментален опит, Сборник с доклади от Юбилейна научна сесия "90 години авиационно образование в България", Д. Митрополия, 22-23 април 2004.
2. Bingham G., S. Jones, D. Or, I. Podolsky, M. Levinskikh, V. Sytchov, T. Ivanova, P. Kostov, S. Sapunova, I. Dandolo. Microgravity effects on water supply and substrate properties in porous matrix root support systems. Acta Astronautica, 47, 839-848, 2000.
3. Hohn, A., P. Scovazzo, L. Stodieck, J. Clowson, W. Kalinowski, A. Rakow, D. Simmons, A. Hehga, M. Kliss. Microgravity root zone hydration systems, SAE Technical Paper Series No. 2000-01-2510, 30th International Conferens on Environmental Systems, Toulouse, France, 10-13 July 2000.
4. Porterfield, D., D. Barta, D. Ming, R. Morrow, M. Musgrave. ASTROCULTURE™ root metabolism and cytochemical analysis, Advances in Space Research, 26, 315-318, 2000.
5. Stout, S., D. Porterfield, L. Briarty, A. Kuang, M. Musgrave. Evidence of root zone hypoxia in *Brassica rapa* l. grown in microgravity. International Journal of Plant Science, 162, 249-255, 2001.
6. Ivanova, T., S. Sapunova, P. Kostov, I. Ilieva. Resent Advances in the Development of the SVET Space Greenhouse Equipment. Proceeding of the 2nd International Conference on Resent Advances in Space Technologies RAST 2005, 9-11 June 2005, Istanbul, Turkey, 722-727.
7. Arnon, D. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidases in Beta vulgaris. Plant Physiology, 24, 1-15, 1949.
8. Raskin, I., H. Kende. Role of gibberellin in the growth response of submerged deep water rice. Plant Physiology, 76, 947-950, 1984.
9. Musgrave M., M. Vanhoy. A growth analysis of waterlogging damage in mung bean (*Phaseolus aureus*). Canadian Journal of Botany, 67, 2391-2395, 1989.
10. Thongbai, P., S. Milroy, M. Bange, G. Rapp, T. Smith. Agronomic responses of cotton to low soil oxygen during waterlogging. Proceedings of the 10th Australian Agronomy Conference, Hobart, 2001
11. Peshki, S. Wetland plant responses to soil flooding. Environmental and Experiment Botany, 46, 299-312, 2001.