

## МОРФОМЕТРИЧНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ФОТОСИНТЕТИЧНА АКТИВНОСТ НА ЛИСТНА ЦИКОРИЯ ПРИ RGB LED ОСВЕТЛЕНИЕ

Илияна Илиева<sup>1</sup>, Йордан Найденов<sup>1</sup>, Таня Иванова<sup>1</sup>, Иван Дандолов<sup>1</sup>,  
Детелин Стефанов<sup>2</sup>, Емилия Гешева<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт за космически изследвания и технологии – Българска академия на науките

<sup>2</sup>Биологически факултет – СУ “Св. Кл. Охридски”

<sup>3</sup>Институт по физиология на растенията и генетика – Българска академия на науките  
e-mail: iliana\_ilieva@space.bas.bg

**Ключови думи:** LED блок осветление, RGB светлина, интензитет на светлината

**Абстракт:** С цел оптимизиране на светлинните характеристики на блока за осветление (БО) на космическа оранжерия на светодиоди и подбора на подходящите интензитет и спектрален състав са изследвани морфометричните характеристики и фотосинтетичната активност на растението листна цикория. Проведен е експеримент с 2 модификации на БО при светлина с интензитет  $144 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (ИС-144) и  $288 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (ИС-288) и спектрален състав 50% червена (R), 15% зелена (G) и 35% синя (B) светлина. Получените резултати за морфометричните характеристики показват, че растенията отглеждани при ИС-144 се развиват по-бавно, синтезирани са 3 пъти по-малко биомаса и са с 22 % по-ниски в сравнение с растенията отглеждани при ИС-288. Влиянието на интензитета на светлината върху фотосинтетичният апарат на растенията е определено чрез показателите  $\Phi_{PS2}$ , NPQ и E.  $\Phi_{PS2}$  е с 56% по-висока при ИС-288 в сравнение с тази измерена при ИС-144. Този резултат корелира с отчетените по-бърз растеж и развитие. Показателите NPQ и E също показват, че ИС-288 не индуцира фотозащитни и фотоувреждащи реакции.

## MORPHOMETRICAL CHARACTERISTICS AND PHOTOSYNTETIC ACTIVITY OF RADICCHIO UNDER RGB LED LIGHTING

Iliana Ilieva<sup>1</sup>, Yordan Naydenov<sup>1</sup>, Tania Ivanova<sup>1</sup>, Ivan Dandolov<sup>1</sup>,  
Detelin Stefanov<sup>2</sup>, Emilia Gesheva<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Space Research and Technologies Institute – Bulgarian Academy of Sciences

<sup>2</sup>Biological Faculty – Sofia University “St. Kl. Ohridsky”

<sup>3</sup>Institute of plant physiology and genetics – Bulgarian Academy of Sciences  
e-mail: iliana\_ilieva@space.bas.bg

**Keywords:** LED Light Module, RGB light, light intensity

**Abstract:** Morphometric characteristics and photosynthetic activity of radicchio plants were investigated in order to select the appropriate intensity and spectral composition to optimize the lighting characteristics of the Space greenhouse's Light Module (LM) on Light Emitting Diodes. An experiment was carried out with two modifications of LM at light intensity  $144 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (LI-144) and  $288 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (LI-288) and spectral composition 50% red (R), 15 % green (G) and 35% blue (B) light. The obtained morphometric characteristics indicate that plants grown at LI-144 developed more slowly, synthesized 3 times less biomass and were 22% lower compared to plants grown in LI-288. The influence of light intensity on the photosynthetic apparatus of plants is determined by  $\Phi_{PS2}$ , NPQ and E indicators.  $\Phi_{PS2}$  is 56% higher in the LI-288 compared with that measured at LI-144. This result correlates with the observed faster growth and development of radicchio plants at LI-288. NPQ and E indicators also show that LI-288 does not induce photoprotective and photodamaging reactions.

## Въведение

Светодиодите (Light emitting diodes - LEDs) се наложиха като перспективен светлинен източник за конструиране на Блокове за осветление (БО) в космическите оранжерии, както за експерименти на борда на Международната космическа станция (МКС) [1], така и за бъдещият полет на човека до Марс [2]. LEDs имат много предимства пред останалите изкуствени източници на осветление – малки размери, продължителен период на експлоатация, надеждност и безопасност при работа, малка консумация на енергия, излъчват светлина във видимата област от спектъра с физиологично значение за растенията [3,4].

БО на светодиоди са конструирани само с червени LEDs [5,6], с червени и сини LEDs [1,7] или с червени, зелени и сини LEDs [8,9]. Следователно излъчената светлината представлява комбинация от една, две или три монохроматични спектрални ивици от видимият спектър, с точно определена дължина на вълната в зависимост от областта на излъчване на използваните светодиоди. Допълнително предимство на БО на светодиоди пред БО на други светлинни източници (флуорисцентни лампи) е възможността всеки цвят светодиоди да бъде управляван отделно, при което чрез вариране на силата на тока преминаващ през тях или времето в което те са включени или изключени може да се постигне конкретен интензитет и спектър на светлината. Различните растения имат различни изисквания към състава на спектъра и интензитета на светлината дори продължителността на фотопериода през отделните фази от своето развитие. В процес на определяне са както минималният, така и максималният интензитет на светлината при съответен спектрален състав, които БО на светодиоди трябва да осигурява.

Разработен беше БО-LED с използването на мощни LEDs, което позволи вариране на спектъра и интензитета на светлината в диапазона  $0 - 400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  [10]. Проведените експерименти с растението листна цикория обаче показаха признаци на фотоинхибиране и понижена фотосинтетична активност при интензитет на светлината  $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  и спектър 70% червена (R), 10% зелена (G) и 20% синя (B) и нормално развитие при два пъти по-нисък интензитет –  $220 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  и същият спектрален състав на светлината [9]. Този резултат доведе до проектирането и изработването на втори блок за осветление на маломощни светодиоди (БО-LED-M) с компактна конструкция и по-малко тегло, ниска консумируема мощност и добри възможности за охлаждане, който лесно може да бъде мултиплициран за вграждане в оранжерии с по-голяма площ. Целта на осъществения синхронен експеримент бе да проведем биотехнологични изпитания на новия блок, като сравним морфометричните показатели и фотосинтетичната активност на растения листна цикория, както и да потърсим оптималните граници на светлинните параметри, в които се осигурява нормалното му развитие.

## Експериментална апаратура и методи на изследване

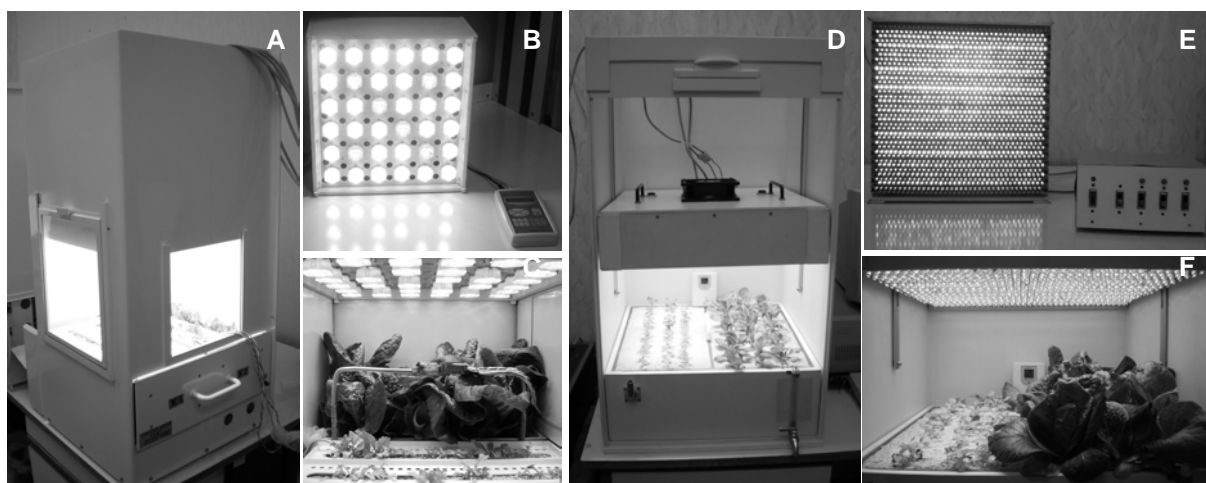
### • **Постановка на експеримента**

Култивирането на растенията листна цикория *Cichorium intybus* L. subsp. *intybus* (Foliosum Group) cv. Bianca di Milano е извършено синхронно в две отделни лабораторни установки - Лабораторният макет на КО СВЕТ-2, летяла на Орбитална станция МИР (Фиг.1-А), в която е разположен БО-LED (Фиг.1-В) осигуряващ интензитет на светлината от  $288 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (ИС-288) и новоразработена Камера за отглеждане на растения с размери 40x40 cm (Фиг.1-Д), в която е разположен БО-LED-M (Фиг.1-Е), осигуряващ съответно интензитет на светлината от  $144 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (ИС-144).

БО и в двете установки са позиционирани на 20 cm над посевната повърхност. Изкуствената почва – субстрат, използван за отглеждане на растенията е Балканин – природен зеолит, добиван от находището в Бели пласт, обл. Кърджали, България, обогатен с минерални елементи [11]. Растенията листна цикория са отгледани при температура – 18-20°C, относителна влажност на въздуха – 60-70% и фотопериод – 16h ден / 8h нощ.

Използваните БО-LED и БО-LED-M са разработени съответно на мощни и маломощни LEDs, като характеристиките им са представени в Таблица 1. Спектърът на светлината излъчен от БО-LED може да се променя в диапазона  $0 - 400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  като с помощта на DMX програматор може да се настройва съотношението между червената, зелената и синята светлина [10]. Това позволява получаването на светлина с точно определен спектър и интензитет.

Спектралният състав на светлината на БО-LED-M е фиксиран, като съотношението на червената светлина към зелената и синята, е съответно 50:15:35 %. Този спектър се получава при максималния интензитет на светлината, който БО-LED-M може да излъчи -  $144 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .



Фиг. 1. **A** - Лабораторна установка на КО СВЕТ-2; **B** - БО-LED; **D** – Камера за отглеждане на растения 40x40; **E** - БО-LED-M; **C** и **F** - Растения листна цикория на 40 ден от развитието си при интензитет на светлината  $288 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (отзад) и  $144 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (дясно)

Таблица 1. Технически и светлинни характеристики на БО-LED и БО-LED-M

	БО-LED	БО-LED-M
Размер на БО	33 x 33 cm	40 x 40 cm
Мощност на БО	280 W	80 W
Брой на светодиодите в БО	108	1260
Производител на светодиодите	Cree®	Yi Kais Int. Co. Ltd.
Модел на светодиодите	XLamp® 7090 XR	04YK-QH513
Област на излъчване на B LEDs	465-475 nm	465-470 nm
Област на излъчване на G LEDs	520-535 nm	520-525 nm
Област на излъчване на R LEDs	620-635 nm	620-630 nm
Мах интензитет на RGB LEDs	$1104 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	$144 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
Мах интензитет на R LEDs	$880 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	$73 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
Мах интензитет на G LEDs	$110 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	$22 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
Мах интензитет на B LEDs	$250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	$48 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$

- **Анализи на растенията**

*Морфометрични характеристики*

Свежото тегло на надземната част на растенията (листата) е измерено на аналитична везна (Sartorius - PT 120, Germany) веднага след вземане на пробата, броят на развитите листа е преброен и височината е измерена с линия.

За определяне на съдържанието на сухо вещество в листата на растенията е взета средна проба от средно 5 растения. 1g свеж материал е поставен в тегловно стъкло и фиксиран в сушилня при  $105^{\circ}\text{C}$  за 4 h, след което е сушен при  $60^{\circ}\text{C}$  до постоянно тегло.

*Съдържание на пигменти*

Анализът за съдържанието на пигменти в листата на цикорията е проведен по метода на Arnon [12]. Анализът е проведен на трети лист взет от средно 5 растения.

Получените резултати за морфометричните характеристики и съдържанието на пигменти са обработени статистически с one-way ANOVA test при  $P = 0.05$ .

*Измерване на хлорофилна флуоресценция*

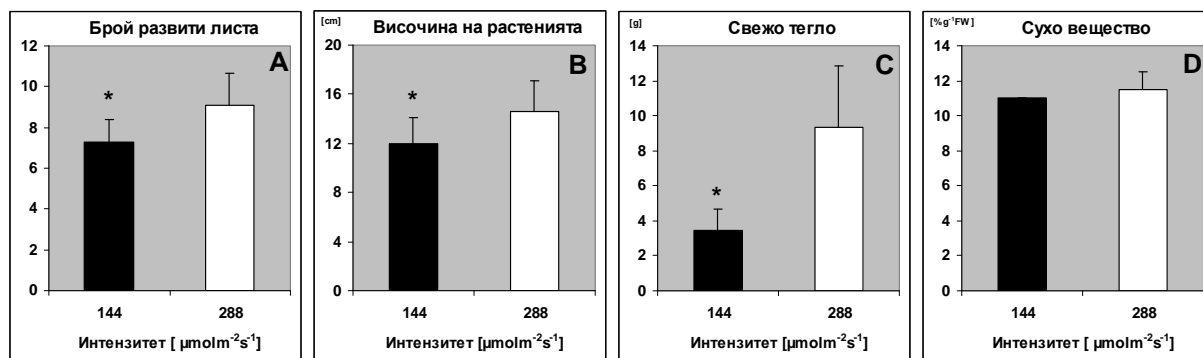
Хлорофилната флуоресценция е измерена на листни дискове взети от трети лист на растенията листна цикория при стайна температура с импулсно амплитудно модулиран флуориметър (PAM 101-103, Waltz, Effeltrich, Germany). За осветяване и обработката е използвана фиброоптична система с пет разклонения (Waltz). Камерата за пробата също е произведена от Waltz, Germany. Минималната флуоресценция  $F_0$  е измерена при подаване на измерващ лъч с много нисък светлинен интензитет, подаван от LED емитер (PAM 101 ED). Максималната флуоресценция  $F_m$  от затворените реакционни центрове (PЦ) на фотосистема II (ФС2) е измерена по време на едносекунден импулс с интензитет  $3000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PFD (photon

flux density) след тъмнинна адаптация за 5 min. Максималната флуоресценция в присъствие на активни светлина (светлината индуцираща фотосинтезата)  $F_m'$  е измерена като флуоресцентен пик, индуцирани еднократно импулси с интензитет  $3000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PFD през интервали от 20 sec на фона на активни светлина. Измерванията са проведени до достигане на стационарното ниво на флуоресценция  $F$  за съответния интензитет на активни светлина. Активни светлина и насищащите импулси се подават от два еднакви светлинни източника (Scott KL 1500), филтрирани през неутрални филтри. Данните за флуоресценцията са записани и обработени с програма FIP 4.1, QA Data, Turcu, Finland [13]. От получените данни са изчислени следните показатели: Активност на Фотосистема II –  $\Phi_{PS2}=(F_m'-F)/F$ , Нефотохимично гасене –  $NPQ=(F_m-F_m')/F_m'$  и excess E (част от светлинна енергия, която не се използва нито за фотохимична активност, нито за фотозащита, т.е. за нефотохимично гасене и е свързана с нивото на увреждания във фотосинтетичния апарат) –  $E=(F-F_0)/F_m'$ .

## Резултати

- **Влияние на интензитета върху морфометричните характеристики на растенията**

Растенията отгледани при ИС-144 достигат седми лист на развитие в сравнение с цикориите отгледани при ИС-288, които са на девети лист от своето развитие (Фиг. 2-А). Височината на растенията също силно се повлиява от интензитета на светлината като при по-ниския интензитет растенията са средно с 2.6 cm по-ниски от растенията отгледани при висок интензитет светлина или съответно 12.0 cm и 14.6 cm (Фиг. 2-В). При ИС-144 растенията синтезират 3 пъти по-малко биомаса като средното измерено тегло на едно растение е 3.469 g в сравнение с 9.324 g при цикориите отгледани на ИС-288 (Фиг. 2-С). Сухото вещество натрупано и при двата интензитета светлина е едно и също – 11% от 1g свежа биомаса (Фиг. 2-Д).

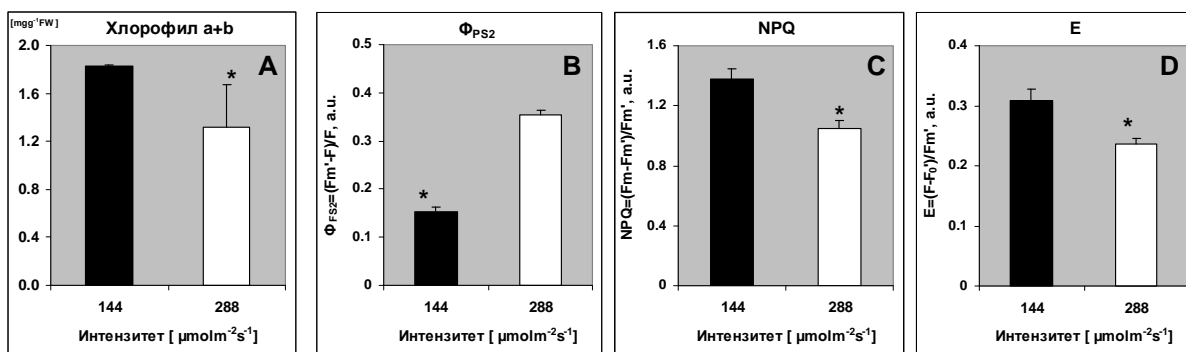


Фиг. 2. Морфометрични характеристики на растения листна цикория отгледани при интензитет на светлината 144 и 288  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  и спектър 50:15:35 % RGB светлина.

\*Получените резултати са статистически различни при  $P=0.05$ .

- **Влияние на интензитета върху фотосинтетичната активност на растенията**

Съдържанието на хлорофил **a+b** в листата на цикориите е по-високо при ИС-144 (Фиг.3-А). Отчетената е обаче два пъти по-ниска активност на фотосистема II –  $\Phi_{PS2}$  при този интензитет на светлината (Фиг.3-В).  $\Phi_{PS2}$  дава точна за фотосинтетичната активност, тъй като отчита светлината погълната от хлорофила асоцииран с Фотосистема II и използвана във фотохимичните реакции и дава точна представа за темпа на електронният пренос и следователно за скоростта на фотосинтезата [14]. Показателите NPQ и E, които отчитат съответно индукцията на фотозащита и на фотоувреждане, са понижени при ИС-288 (Фиг. 3-С,Д) и показват липса на фотозащита, а следователно и фотоувреждане.



Фиг. 3. **A** - Съдържание на хлорофил **a+b**, **B** - Активност на Фотосистема II, **C** - Показател NPQ и **D** - Показател E на растения листна цикория отгледани при интензитет на светлината 144 и 288  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  и спектър 50:15:35 % RGB светлина.

\*Получените резултати са статистически различни при  $P=0.05$

## Дискусия

Интензитет на светлината от 144  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  и спектър 50:15:35 % RGB не е достатъчен за развитието на растението листна цикория. Измерената два пъти по-ниска активност на Фотосистема II води до понижена фотосинтетична активност като цяло и корелира с отчетените по-бавен растеж, по-ниски и с по-малко синтезирана биомаса растения. От друга страна дали светлина с интензитет от 288  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  не индуцира фотоувреждане в растенията листна цикория? Резултатите от предишен експеримент със същото растение проведен при 400  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  интензитет на светлината и спектрален състав 70:20:10 % RGB показваха, че растенията проявяват признаци на фотоинхибиране [9]. При ИС-288 показателите NPQ и E са понижени, което показва липса на фотозащита, и следователно фотоувреждане. От друга страна  $\Phi_{FS2}$  е с 56% по-висока в сравнение с тази при ИС-144, което допълнително показва че растенията се развиват добре при 288  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  интензитет на светлината със спектър 50:15:35 % RGB. При 220  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  и спектрален състав 70:20:10 % RGB растения също показваха по-добра фотосинтетична активност [9].

В заключение можем да кажем, че интензитет на светлината в диапазона 200 - 300  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  е подходящ за развитие на листна цикория при спектър състоящ се от 50-70% червена, 15-20% зелена и 10-30% синя светлина.

Получените резултати задават границите, в които трябва да се търси оптималният спектър и интензитет на светлината необходими за развитието на растението листна цикория. Тези резултати ще бъдат използвани при разработването на БО на светодиоди и по-точно при баланса, който трябва да се намери между себестойността и ефективността на БО на светодиоди.

Ефективността на конструираните БО зависи от отношението на консумираната мощност към емитираната фотосинтетично активна светлина за растенията. На пазара са налични както мощни и скъпоструващи светодиоди така и евтини, маломощни светодиоди. Изработването на БО с използването на вторите е многократно по-икономично, енергоспестяващо, а енергията е ресурс, който е ограничен на борда на МКС и ще бъде ограничен при бъдещата мисия на човека до Марс. Възниква въпроса дали полученият интензитет светлина ще е достатъчен за развитието на растенията, какъв ще е спектралният състав и дали ще има възможност за тяхното вариране. Съществен недостатък на конструирания БО-LED-M на нискоенергийните светодиоди е, че е с фиксиран спектрален състав при максимален интензитет на светлината, като възможността за вариране на спектъра и интензитета е значително ограничена. От друга страна конструирането на БО-LED с мощни светодиоди е скъпоструващо, тъй като те консумират повече енергия и изискват системи за охлаждане, което е свързано с допълнителен обем и маса при конструирането на БО за космическата оранжерия. Но използването на мощни светодиоди позволява варирането на спектралния състав и интензитета на светлината в широк диапазон, което значително разширява възможностите за изследвания с различни култури.

Икономическата ефективност, както и минималният, и максималният интензитет на светлината при съответен спектрален състав, които БО на светодиоди трябва да осигурява са все още в процес на определяне.

## Литература:

1. Link, B. M., S. J. Durst, W. Zhou, B. Stanković. Seed-to-seed growth of *Arabidopsis thaliana* on the International Space Station, *Advances in space research*, 2003, Vol.31, No. 10, pp. 2237-2243.
2. Ivanova, T. N., I. I. Ilieva, Y. N. Naydenov, V. N. Sychev, M. A. Levinskikh. "Greenhouse-Mars" Project: New Light-Emitting Diode Module Tests. *Proceedings of the International Conference "Fundamental Space Research"*, 23-28 September 2008, Sunny Beach, Bulgaria, 2008, pp. 291-294.
3. Barta, D. J., T. W. Tibbitts, R. J. Bula and R. C. Morrow. Evaluation of light emitting diode characteristics for a space-based plant irradiation source, *Advances in Space Research*, 1992, Vol. 12, No. 5, pp. 141-149.
4. Bula, R. J., D. J. Tennessen, R. C. Morrow, T. W. Tibbitts, Light emitting diodes as a plant lighting source, *International Lighting in Controlled Environments Workshop*, NASA-CP-95-3309, 1994, pp. 255-267.
5. Goins, G. D., N. C. Yorio, M. M. Sanwo, C. S. Brown. Photomorphogenesis, photosynthesis, and seed yield of wheat plants grown under red light-emitting diodes (LEDs) with and without supplemental blue lighting. *Journal of Experimental Botany*, 1997, Vol. 48, pp.1407-1413.
6. Goins, G. D., L. M. Ruffe, N. A. Cranston, N. C. Yorio, R. M. Wheeler, J. C. Sager. Salad crop production under different wavelengths of red light-emitting diodes (LEDs), SAE Technical Papers 2001-01-2422, *31st International Conference on Environmental Systems*, Orlando, FL, USA, July 2001.
7. Bula, R. J., R. W. Ignatius. Providing controlled environments for plant growth in space, *International Symposium on Plant Production in Closed Ecosystems*, Narita Japan, August 26-29, 1996.
8. Folta, K. M., L. L. Koss, R. McMorrow, H. Kim, J. D. Kenitz, R. Wheeler, J. C. Sager. Design and fabrication of adjustable red-green-blue LED light arrays for plant research, *BMC Plant Biology*, 2005, Vol. 5, doi:10.1186/1471-2229-5-17.
9. Ilieva I., T. Ivanova, Y. Naydenov, I. Dandolov, D. Stefanov. Plant Experiments with Light-Emitting Diode Module in SVET Space Greenhouse, *Advances in Space Research*, 2010, Vol. 46, No. 7, pp. 840-845.
10. Ivanova, T., I. Dandolov, I. Ilieva, Y. Naydenov, M. Levinskikh, V. Sychev. New Leds Light Module Developed on "Greenhouse-Mars" Project, *Aerospace Research in Bulgaria (ISSN 1313 - 0927)*, 2009, Vol.23, pp.85-102.
11. Ivanova, T., I. Stoyanov, G. Stoilov, P. Kostov, S. Sapunova. Zeolite gardens in space, *Natural Zeolites Sofia'95*, Pensoft Publishers, Sofia-Moscow, 1997, pp. 3-10.
12. Arnon, D. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidases in *Beta vulgaris*, *Plant Physiology*, 1969, Vol.24, pp.1-15.
13. Tyystjärvi, E., J. Karunen. A microcomputer program and fast analog to digital converter card for the analysis of fluorescence induction transients, *Photosynthesis Research*, 1990, Vol. 26, pp. 127-132.
14. Genty, B., J. M. Briantais, N. R. Baker. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1989, Vol. 990, pp. 87-92.