

**PECS No. 98047, "Growth and survival of coloured fungi in space - CFS"- parte componentă a Experiment in the SURE project (AO-2006-022)]**

**PARTENERI:**

- Institutul de Stiinte Spatiale, București, Romania-coordonator
- Institutul de Biologie, București, Romania-colaborator
- National Research Foundation, Atena, Grecia-colaborator

**PERIOADA DE DERULARE:** 01.01.2007-31.12.2009

**VALOAREA:** 409.877 Euro (317,877 pentru: dotări cu valoare mai mică de 5000 Euro, deplasări, salarii, regie + 92.000 pentru echipamente cu valoare mai mare de 5000 Euro)

**ECHIPA IBB:** Prof.univ.dr.Ioana Gomoiu-director proiect, cercetător Daniela Sincu Mogildea, asistent Maria Tudorescu, asistent Liliana Manea.

**OBIECTIVELE PROIECTULUI:**

- Elaborarea documentației pentru organizarea experimentului spațial
- Cercetări privind creșterea și sporularea speciei *Ulocladium chartarum* în microcapsule (in condiții de laborator, după efectuarea unor teste specifice, după anumite tipuri de experimente)
- Cercetări privind obținerea preparatelor de spori pentru experimentul spațial
- Organizarea experimentului în condiții simulate; Efectul microgravitației asupra biologiei speciei *Ulocladium chartarum* precum și asupra sporilor de *Ulocladium chartarum*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus niger* și *Basipetospora halophila*.
- Organizarea experimentului spațial; Efectul microgravitației și a radiațiilor cosmice asupra biologiei speciei *Ulocladium chartarum* precum și asupra sporilor de *Ulocladium chartarum*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus niger* și *Basipetospora halophila*.

**ELABORAREA DOCUMENTAȚIEI PENTRU ORGANIZAREA EXPERIMENTULUI SPATIAL.**

Echipa de cercetare din IBB a contribuit la elaborarea in fază preliminară și finală a unor documente dintre care menținem: CFS-A - Experiment Scientific Requirements (ESR); The Minute of the SURE CFS-A meeting(RO)Meeting in Bucharest on 13 March 2007;Technical Specification of the Experiment (TS-EX) (100); Technical Specification of the Equipment (TS-EQ) (200); Main Schedule; Upload Item List; In-flight Biohazardous Materials Approval Form; Recommended data format for biological material; Hazardous Materials Summary Table; Microcells Filling And Assembly Procedure For Living Culures Cfs-A-Acadrom-Pr-002, Issue: 01; Rubber toxicity - CFS-A-IBB-PR-002; Scientific report CFS-A IBB-PR-00315; Proforma Invoice for yellow box; Proforma invoice for Shipment CFS-A; Annexes for Shipment; EST-timetable; Baikonour timetable; Certificates of Non Pahogenicity

De asemenea echipa de cercetare a participat la teleconferințe și întâlniri de lucru cu ESA, USOC și ASTRIUM.

**CERCETĂRI PRIVIND CREȘTEREA ȘI SPORULAREA SPECIEI *ULOCLADIUM CHARTARUM* ÎN MICROCAPSULE (MC).**

Creșterea coloniilor de *Ulocladium chartarum* este un proces care are loc în mod constant dar rata de creștere este specifică pentru vârsta culturii. Proiectul prevede folosirea culturilor de 0, 2

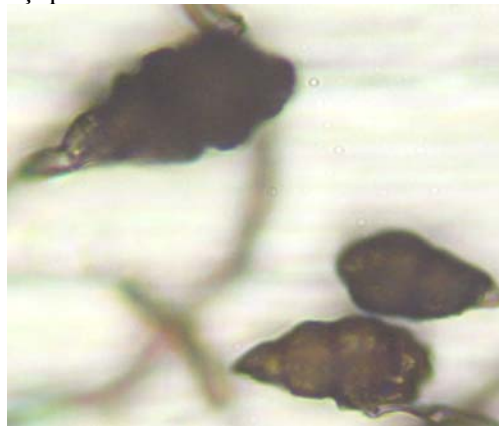
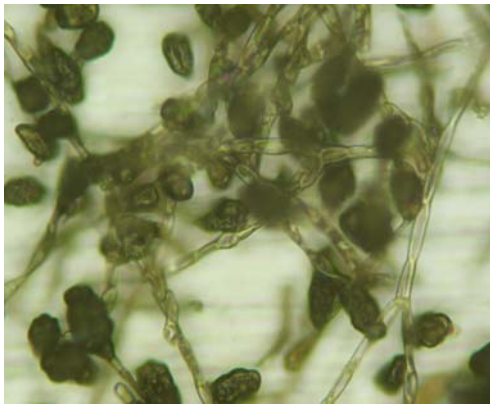
și 4 zile în experimentul spațial. Deoarece testele de rezistență la vibrații și la șoc au fost efectuate pe culturi de 2 zile tabelul 2 conține numai rezultatele obținute cu acestea și corespunde celei de a 4-a zi de integrare (FD4) în biocontainer. Se constată că în FD4 procesul de creștere este redus în microcapsule în comparație cu plăcile Petri dar pentru că se cer condiții de experimentare de maximă siguranță s-a recomandat desfășurarea experimentului în microcapsule obținute în conformitate cu proiectul elaborat de Institutul de Științe Spațiale din București.

Tabel nr.1 Creșterea speciei *Ulocladium chartarum* în diferite condiții

Condiții de cultivare	Rata de creștere mm/zi
MC în condiții de laborator	3,2
MC după testul de vibrații efectuat la ELPROF	3,2
MC după integrarea în biocontainere	2,7
MC testul de rezistență la vibrații și șocuri efectuat la ZARM	2,7
Placa Petri	9,7

### CERCETĂRI PRIVIND OBTINEREA PREPARATELOR DE SPORI PENTRU EXPERIMENTUL SPAȚIAL

În conexiune cu maxima siguranță cerută de experimentele spațiale, precum și cu obținerea unui volum maxim de informații științifice, s-au luat în studiu următoarele suporturi pentru spori: silicon, policarbonat și fier. Aderarea fermă a sporilor a fost analizată la microscopul optic precum și după testul de răspândire a acestora pe capacul microcapsulei în condițiile expunerii la vacuum (leak test). Rezultatele au fost pozitive și s-a decis efectuarea preparatelor de spori care aderă ferm la suprafața suporturilor de fier, silicon și policarbonat.



**Fig.1 și 2. Preparate de spori de *Ulocladium chartarum* pe plăcuțe de fier ca suport (aria=10mm<sup>2</sup>)**



**Fig.3 și 4. Preparat de spori de *Ulocladium chartarum* pe plăcuțe de policarbonat ca suport (aria=10mm<sup>2</sup>)**

**ORGANIZAREA EXPERIMENTULUI ÎN CONDIȚII SIMULATE; EFECTUL MICROGRAVITAȚIEI ASUPRA BIOLOGIEI SPECIEI *ULOCLADIUM CHARTARUM* PRECUM ȘI ASUPRA SPORILOR DE *Ulocladium chartarum*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus niger* și *Basipetospora halophila***

Experimentul s-a desfășurat la BIOTESC în Zurich în perioada 24-28.01.2009 respectând procedura din doc. CFS-A EST Test Plan (BIOTESC-CFSA-ESTP-1-1) și Sealing Procedure (Procedure CFS-A-Astrium\_PR-003).

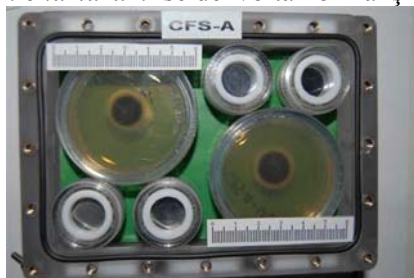
MC conținând culturi de *Ulocladium chartarum* de 0, 2, și 4 zile au fost integrate împreună cu preparatele de spori în 6 biocontainere care s-au sigilat după procedura ASTRIUM; 3 dintre acestea au fost montate pe RPM (Random Positioning Maschine) iar 3 au reprezentat controlul de sol și au fost plasate în aceleași condiții: 25<sup>0</sup>C, RH=65%. Controlul de laborator a fost reprezentat de MC neintegrate incubate în aceleași condiții.

Respectând ordinea desfășurării activităților s-au efectuat 4 sesiuni foto: FD1 (după integrarea în biocontainere = înainte de decolare), FD4 și FD8 (4, respectiv 8 zile în condiții de microgravitație simulată) și FD 12 (după aterizare). Folosind fotografiile obținute și un program specific de măsurare s-a calculat aria și rata de creștere pentru fiecare colonie/MC/biocontainer în condiții de microgravitație simulată, control de sol și control de laborator.

Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelul nr.2. Se remarcă faptul că procesul de creștere are loc atât la sol cât și în condiții de microgravitație simulată. Cea mai mare rată de creștere s-a observat între FD1-FD4, după care în funcție de vârsta culturii se constată reducerea acesteia.

Toate procesele biologice caracteristice pentru fungi precum: germinarea, creșterea și ramificarea hifelor și sporularea se desfășoară normal în condiții de microgravitație simulată.

Cultura de 0 zile poate fi considerată ca model de experimental de cercetare pentru a demonstra că în condiții de microgravitație și în prezența nutrienților (de natură organică) specia *Ulocladium chartarum* se dezvoltă normal și poate coloniza un substrat.



**Fig 5. Fața a a biocontainerului cu spori și culturi de 0 zile-FD4**



**Fig.6. Faa A a biocontainerului cu spori**

Tabel nr 2. Creșterea coloniilor de 0,2 și 4 zile în experimentul de simulare a microgravitației

BIOCONTAINER/VARSTA COLONIEI DE <i>ULOCLADIUM CHARTARUM</i>	FD 1		FD4		FD 8	
	Aria (mm <sup>2</sup> )	Rata de creștere (mm/zi)	Aria (mm <sup>2</sup> )	Rata de creștere (mm/zi)	Aria (mm <sup>2</sup> )	Rata de creștere (mm/zi)
BIOCONTAINER /2 zile						
MEDIA RPM	357,7	10,6	836,8	2,7	918,1	0,3
MEDIA CONTROL-SOL	342,2	10,4	914,0	3,2	932,9	0,09
MEDIA LABORATOR	328,8	10,2	1255,6	9,7	Creștere pe toată suprafața mediului, in ziua a 6-a	Creștere pe toată suprafața mediului, in ziua a 6-a
BIOCONTAINER 2/0 zile						
MEDIA RPM			1009,1	8,9	1121,3	0,5
MEDIA CONTROL-SOL			970,5	8,7	1064,1	0,4
MEDIA LABORATOR			1310,4	10,2	Creștere pe toată suprafața mediului, in ziua a 6-a	Creștere pe toată suprafața mediului, in ziua a 6-a
BIOCONTAINER/3 zile						
MEDIA RPM	1034,0	9,0	1294,4	1,0	1251,9	0
MEDIA CONTROL-SOL	958,1	8,7	1250,2	1,1	1221,9	Creștere pe toată suprafața mediului, in ziua a 6
MEDIA LABORATOR	1040,2	9,86	1402,4	4,0		Creștere pe toată suprafața mediului, in ziua a 6

Cercetările de microscopie au pus în evidență următoarele modificări: morfologii atipice ale sporilor, hife cu diametrul mai mare și incapabile să se ramifice, ramificări întâmplătoare, poziția oblică și orizontală a conidioforilor.

Viabilitatea sporilor nu este afectată de condițiile de microgravitație simulată. Coloniile rezultate din spori expuși au caracteristici între limitele biologice ale speciei.

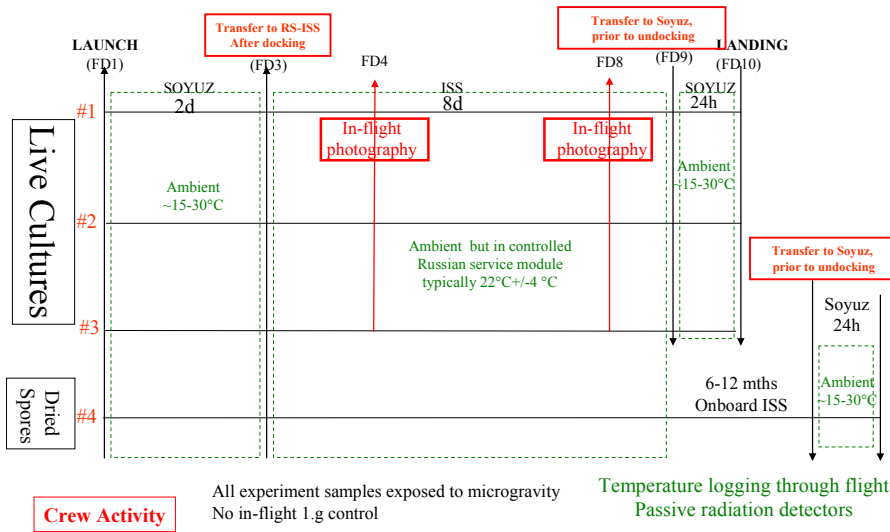
#### **PARTICIPAREA LA ANTRENAMENTUL ASTRONAUȚILOR**

Echipa de cercetare a participat la instructajul astronauților pentru informarea științifică și efectuarea fotografiilor microcapsulelor integrate (vedere de ansamblu pe fiecare față a fiecărui biocontainer, precum și pentru fiecare microcapsulă). Pe timpul zborului, prin USOC echipa de cercetare va fi în legătură cu astronauții pentru a transmite rezultatul evaluării calității fotografiilor precum și corecțiile adecvate dacă vor fi necesare. Calitatea fotografiilor este dependentă de modul în care astronauții, în condiții de microgravitație reușesc să marcheze clar marginile coloniilor.

## ORGANIZAREA EXPERIMENTULUI SPATIAL

În cursul lunii martie va avea loc experimentul spațial de scurtă durată iar în luna septembrie sau octombrie se va încheia experimentul de lungă durată.

Modul de desfășurare a experimentului spațial precum și obiectivele sunt menționate în diagrama alăturată. Experimentul presupune integrarea microcapsulelor conținând culturi de *Ulocladium chardarum* de 0, 2 și 4 zile în biocontainere și plasarea acestora în ISS-Segmentul Rusesc. Fotografiiile vor fi efectuate de astronauți și echipa de cercetare din IBB. Astfel, în ziua 1 (înainte de transferarea biocontainerelor în Soiuz taxi) și în ziua a 12-a (după aterizare Soiuz taxi) fotografiile vor fi efectuate de echipa IBB, iar în ziua a 4-a (FD4) și a 8-a (FD8) de către astronauți.



## ACTIVITATI IBB

Pregătirea culturilor și a sporilor

Preluarea fotografiilor de la USOC pentru aprecierea calității-  
Comunicarea rezultatelor

Preluarea probelor - expunerea pe termen scurt și lung