

## Agrobiologia e nuove tecnologie per i Sistemi Biorigenerativi nell' esplorazione spaziale: problematiche, prospettive e contributo della ricerca italiana

Giuseppe Colla<sup>1</sup>, Mariateresa Cardarelli<sup>1</sup>, Veronica De Micco<sup>2</sup>, Giovanna Aronne<sup>2</sup>, Raimondo Fortezza<sup>3</sup> e Stefania De Pascale<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Geologia e Ingegneria Meccanica, Naturalistica e Idraulica per il Territorio, Università della Tuscia, via S.C. De Lellis snc, 01100 Viterbo

<sup>2</sup>Dipartimento di Arboricoltura, Botanica e Patologia Vegetale, Università di Napoli Federico II, via Università 100, 80055 Portici (NA)

<sup>3</sup>Telespazio - PSC Programmi Scientifici, via Gianturco 31, 80127 Napoli

<sup>4</sup>Dipartimento di Ingegneria Agraria e Agronomia del Territorio, Università di Napoli Federico II, via Università 100, 80055 portici (NA)

Ricezione ; Accettazione 10 gennaio 2011

### Agrobiology and new technologies for Bioregenerative Systems in Space exploration: constraints, perspectives and the Italian research contribute

**Abstract.** Future Space stations and Space habitats/outposts should be designed as self-sufficient ecological closed or semi-closed systems to reduce the dependence from Earth and limit the number of transportation flights. Higher plants play a fundamental role in such as system providing fresh food to the crew and contributing to the air regeneration. The realization of bioregenerative systems based on plant growth is an ambitious and complex issue since it requires the development of new technologies and the understanding of the effects of space factors on biological systems and on chemical and physical processes. The Italian Space Agency have funded many projects aimed both to understand the effect of space factors on the development of vegetal systems and to develop new technologies for the realization of bioregenerative systems. Research activities have regarded the production of sprouts as well as various aspects of plant growth and reproduction. Two main objectives have been pursued, namely the integration of crew diet with fresh food produced on-board and the understanding of specific biological phenomena. A specific subject regarded the study of pollen biology for its fundamental role in the completion of the seed-to-seed cycle and in the gametophytic selection. The research activities were carried out on the ground under simulated microgravity and/or in the International Space Station. Recently a new program aimed to the development of know-how and advanced

technologies for human life support in Space has also been introduced. Results obtained until now open the way for the definition of bioregenerative systems for the support of human life in Space.

**Key words:** altered gravity, bioregenerative systems, hydroponics, ionizing radiation, plant evolution, Space environment.

### Introduzione

La distribuzione degli organismi viventi sulla Terra è il risultato di un complesso processo evolutivo. Le piante superiori si sono sviluppate in tempi relativamente recenti rispetto alla comparsa del primo organismo unicellulare acquatico e sono caratterizzate dall' avere organi differenti (radice, stelo e foglia) con specifiche strutture e funzioni. L' adattamento all' ambiente terrestre da parte delle piante ha implicato una crescente complessità delle strutture e delle funzioni associata anche alla comparsa di nuove molecole organiche ed allo sviluppo di vie metaboliche multifunzionali. Numerosi studi hanno evidenziato come i fattori ambientali, tra cui la radiazione solare e la gravità, abbiano contribuito significativamente a questi processi di adattamento ed evoluzione delle piante terrestri vascolari (Siegel *et al.*, 1981; Graham *et al.*, 1993; Barlow, 1996; Bateman *et al.*, 1998).

Nell' ipotesi di una colonizzazione futura dello Spazio, le piante superiori potrebbero trovarsi nuovamente in condizioni ambientali alterate, con livelli ridotti di gravità, paragonabili a quelli percepiti durante la vita acquatica dove gli organismi erano sospesi nell' acqua e la spinta idrostatica era quasi bilanciata dalla forza di gravità (McGinley e Weis, 2009).

\* depascal@unina.it

Inoltre, le piante nello Spazio si troverebbero esposte ad alti livelli di radiazione in analogia con quanto avvenne nell'era paleozoica con la colonizzazione delle terre emerse da parte dei vegetali dove, per il differente sviluppo dell'atmosfera, la radiazione solare che raggiungeva la superficie terrestre era particolarmente elevata e ricca di UV (Graham, 1993).

Nella successiva sezione saranno considerate le problematiche e le prospettive della coltivazione delle piante nello Spazio. Sarà inoltre presentato il contributo italiano alla ricerca nel settore dell'agrobiologia finalizzata allo sviluppo di sistemi biorigenerativi per il supporto della vita dell'uomo nello spazio ossia di sistemi in cui si realizzano tutti quei processi biologici e chimico-fisici (produzione di vegetali freschi, generazione di ossigeno e rimozione di anidride carbonica, depurazione dell'acqua, riutilizzo dei residui di biomassa, dei rifiuti organici dei processi e dei reflui fisiologici) necessari per la vita dell'uomo nello spazio (fig. 1).

### Le piante e l'ambiente spaziale

Lo Spazio, così come le superfici dei corpi extra-terrestri, è un ambiente inospitale dove è impossibile lo sviluppo degli organismi adattati alla vita sulla Terra. E' tuttavia possibile realizzare ambienti sigillati in cui creare atmosfere controllate con composizione, pressione, temperatura, umidità a livelli simili a quelli terrestri. Ed in tale contesto le piante dovranno comunque adattarsi a nuovi fattori come la microgravità e la presenza di elevati livelli di radiazioni ionizzanti; questi ultimi fattori svolgono anche un'azione indiretta sulle piante modificando la disponibilità

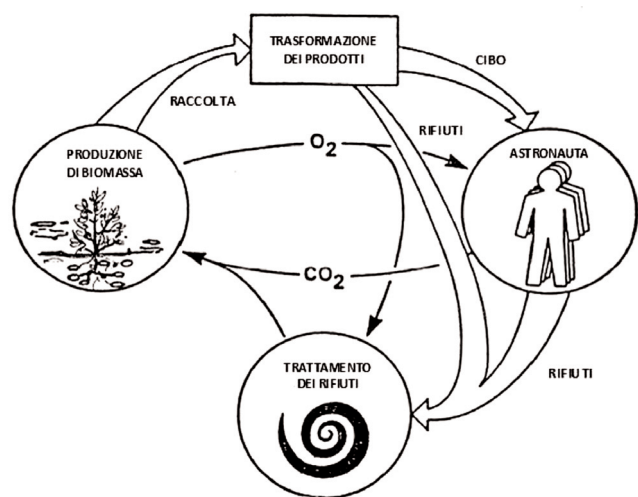


Fig. 1 - Sistema biorigenerativo a ciclo chiuso per il supporto della vita dell'uomo nello Spazio.

Fig. 1 - Bioregenerative closed system for life support in Space.

delle risorse ed il funzionamento delle apparecchiature usate per sostenere la crescita delle piante (per es. interazione tra gravità e dinamica dei fluidi) (De Micco *et al.* 2009).

Negli anni si è andata affermando proprio una branca della biologia vegetale finalizzata a comprendere l'effetto di fattori ambientali come la microgravità, l'incremento di radiazioni, la mancanza di campi magnetici, le elevate concentrazioni di CO<sub>2</sub> e la ridotta pressione su numerosi fenomeni tra cui: l'insorgenza di aberrazioni cromosomiche, i meccanismi di riparazione del DNA, la germinazione dei semi, la morfogenesi ed il gravitropismo, lo sviluppo vascolare, la sintesi e la traslocazione di composti di riserva, l'attivazione di alcune vie metaboliche in risposta allo stress (per es. la sintesi dei composti fenolici), la formazione della parete cellulare, la biosintesi della cellulosa, la lignificazione, la riproduzione, la selezione gametofitica e la capacità fotosintetica. Nonostante alcuni esperimenti negli anni 40 abbiano dimostrato la capacità dei semi di germinare e di dar luogo a piante in grado di crescere nello Spazio, i risultati sono spesso discordanti e molti fenomeni necessitano ancora di essere chiariti. Questo è da imputare al fatto che la risposta delle piante ai fattori ambientali presenti nello Spazio può essere condizionata anche da altri fattori 'non spaziali' come il tipo di materiale biologico utilizzato, lo stato fisiologico e fenologico della pianta, e fattori tecnici quali le condizioni sperimentali, i protocolli ed i supporti strumentali utilizzati durante i test (Halstead e Dutcher, 1987; Levine *et al.*, 2001; Hoson *et al.*, 2002; Musgrave, 2002; De Micco *et al.*, 2006a; De Micco e Aronne, 2008a).

Per molti anni, numerosi Paesi hanno investito nella ricerca per comprendere gli effetti dell'ambiente spaziale sulla crescita delle piante con un notevole approfondimento di alcuni fenomeni come ad esempio il gravitropismo e di alcuni fattori come la microgravità e la milligravità. Oggi è invece necessario non solo estendere la sperimentazione ad aspetti meno studiati ma soprattutto fare riferimento ad un numero più ampio di specie/cultivar poiché nello Spazio queste possono mostrare risposte profondamente diverse. Bisognerebbe inoltre approfondire anche le modificazioni di crescita cui vanno incontro le piante in presenza di altri fattori come i bassi livelli di gravità (come quelli che si riscontrano sulla Luna e su Marte), la presenza di campi magnetici e delle radiazioni ionizzanti; queste conoscenze sono fondamentali per la progettazione e realizzazione di sistemi biorigenerativi in grado di supportare la vita dell'uomo nello Spazio.

## L'effetto della microgravità sulla crescita delle piante: alcuni esperimenti italiani

Negli ultimi anni, diversi gruppi di ricerca italiani hanno lavorato in progetti di ricerca finanziati dall'Agenzia Spaziale Italiana (ASI) e/o Europea (ESA) per effettuare esperimenti direttamente nello Spazio o con strumentazioni in grado di simulare la microgravità (es. clinostato) o altri fattori ambientali tipici dell'ambiente spaziale.

In questa sezione sono descritti gli esperimenti italiani più significativi condotti sulle piante superiori con la consapevolezza che:

- è necessario comprendere non solo l'effetto sulla pianta di fattori tipici dell'ambiente Spazio ma anche la loro interazione con altri fattori comuni con l'ambiente terrestre;
- è preferibile focalizzare l'attenzione su processi che, oltre a influenzare significativamente la crescita delle piante, condizionano anche la qualità nutrizionale del prodotto;
- è consigliabile concentrarsi su colture che possono contribuire alla formulazione di una dieta bilanciata per gli astronauti.

Alcuni esperimenti hanno valutato la possibilità di produrre in pochi giorni germinelli direttamente nello spazio per integrare la dieta degli astronauti, attraverso l'uso di semplici sistemi di coltivazione, sfruttando piccoli volumi ed utilizzando limitati input energetici (De Micco *et al.*, 2006a,d; Colla *et al.*, 2007a; De Micco e Aronne 2008a,b). Da un punto di vista nutrizionale i germinelli rappresentano una fonte molto interessante per l'uomo di proteine, vitamine, elementi minerali, composti fenolici ed altre importanti molecole nutraceutiche. Numerosi composti quali pigmenti (es. carotenoidi, clorofilla), vitamine (es. acido ascorbico), composti fenolici possiedono inoltre effetti protettivi sulla salute dell'uomo: sono infatti antitumorali, rinforzano il sistema immunitario, esplicano proprietà antibatteriche, antimicotiche, antivirali, anticolesteroliche ed antinfiammatorie (Schreiner, 2004). È quindi auspicabile aumentare l'apporto di tali composti salutistici nella dieta degli astronauti al fine di contrastare gli effetti negativi sulla salute umana indotti dagli agenti stressanti (es. radiazioni ionizzanti, microgravità) presenti nello Spazio.

Colla *et al.*, (2007a) hanno studiato la germinazione, la produttività e la qualità di germinelli di rucola (*Eruca sativa* Mill.) in condizioni di microgravità simulata ottenuta tramite clinorotazione (Progetto ASI 'Risposta morfologica e fisiologica della radice a gradienti elettrochimici in condizioni di microgravità') o in microgravità reale nel corso della missione ENEI-

DE organizzata dall'ESA (Progetto 'SEEDLINGS') sulla Stazione Spaziale Internazionale (ISS). La microgravità ha influenzato la germinazione della rucola, ma nessuna anomalia morfologica è stata osservata ad eccezione di un certo grado di geotropismo negativo a carico di un numero ridotto di radici di germinelli cresciuti su clinostato e nello Spazio (Rivera *et al.*, 2006). Inoltre è stato riscontrato che le condizioni artificiali di microgravità, più che la reale microgravità, riducono la velocità con cui i trigliceridi sono metabolizzati durante la germinazione e la crescita dei germinelli (Tab. 1). Nei germinelli prodotti nella ISS è stato inoltre riscontrato un calo significativo non solo del peso fresco, come conseguenza di una minore capacità di assorbimento dell'acqua, ma anche del peso secco. Per quanto concerne la qualità intrinseca dei germinelli di rucola differenze significative nel contenuto di clorofilla totale, carboidrati totali, carotenoidi e vitamina C sono stati registrati solo in germinelli ottenuti in condizioni di microgravità reale (Rivera *et al.*, 2006; Colla *et al.*, 2007a). I germinelli di rucola nello Spazio hanno mostrato anche alterazioni tipiche delle piante cresciute in carenza di luce (cotiledoni chiusi, allungamento dell'ipocotile, basso contenuto di clorofilla e carotenoidi totali) ad indicare che probabilmente le condizioni di luce nel modulo della ISS erano sub-ottimali. Comunque i buoni livelli di biomassa fresca edibile ottenuti in condizioni simulate e reali di microgravità indicano che la rucola è una specie potenzialmente interessante per la produzione di germinelli durante le missioni spaziali. Tuttavia, va precisato che l'elevato consumo di ossigeno nella fase di germinazione dei semi e sviluppo dei germinelli fino all'espansione delle prime foglie vere rappresenta un limite per l'integrazione di questo sistema produttivo in sistemi biorigenerativi per il supporto della vita dell'uomo nello Spazio. La risposta vegeto-produttiva delle piante nello Spazio può variare sensibilmente in funzione della specie e della cultivar. In un esperimento condotto nell'ambito del progetto ASI 'Space Green House' (SGH), piante di lattuga (*Lactuca sativa* L.) coltivate su clinostato monoassiale combinato con un sistema idroponico a tubi porosi (fig. 2) hanno mostrato una riduzione di numerosi parametri di crescita e di qualità del prodotto fresco tra cui: peso fresco e secco della parte epigea, area fogliare, rapporto parte epigea:radici, contenuto di clorofilla, carotenoidi totali e vitamina C, rispetto alle piante coltivate in condizioni stazionarie (Rivera *et al.*, 2006). E' stata inoltre messa in evidenza una forte variabilità nella produzione di biomassa edibile in funzione della cultivar utilizzata.

Prove condotte su pomodoro nano (*Solanum lycopersicon* L.)



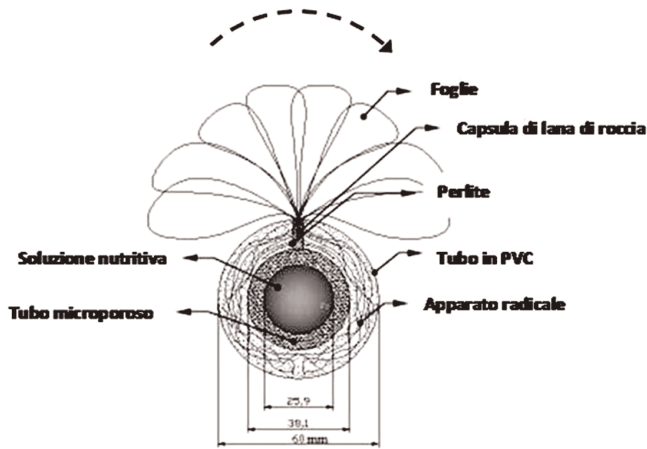


Fig. 2 - Sezione trasversale del clinostato monoassiale combinato con un sistema idroponico a tubi porosi.  
 Fig. 2 - Cross section of uniaxial clinostat combined with a porous tube plant nutrient delivery system.

*persicum* L. cv. “Micro-Tom”) cresciuto su clinostato monoassiale combinato con lo stesso sistema idroponico a tubi porosi (fig. 2) hanno sostanzialmente confermato l’impatto negativo della microgravità sulla crescita della piante, sulla produzione e sulla qualità dei frutti (Colla *et al.*, 2007b). Nonostante lo stress gravitazionale e la ridotta crescita e produttività, le piante hanno completato il ciclo ontogenetico con formazione regolare dei gametofiti e dei semi anche se quest’ultimi erano caratterizzati da una minor germinabilità (Colla *et al.*, 2007b).

Per quanto riguarda gli aspetti morfo-funzionali, sono stati condotti diversi esperimenti in fagiolo (*Phaseolus vulgaris* L.) e soia [*Glycine max* (L.) Merr.] al fine di valutare la risposta dei germinelli all’azione della microgravità simulata a Terra (progetto ASI ‘Risposta morfologica e fisiologica della radice a gradienti elettrochimici in condizioni di microgravità’) e nello Spazio (progetto ESA ‘SAYSOY-Space Apparatus to Yield SOYsprouts’, missione Foton-M2) (fig. 3) (Aronne *et al.*, 2003; De Micco e Aronne, 2008a; De Micco e Aronne, 2008b). Osservazioni al microscopio ottico a fluorescenza ed elettronico a trasmissione, in combinazione con l’analisi di immagini digitali, hanno permesso di studiare lo sviluppo dei tessuti (in particolare dei tessuti parenchimatici e vascolari), la deposizione di cellulosa e la formazione della parete cellulare, l’accumulo di amido e di composti fenolici. Alcuni esperimenti condotti in microgravità simulata hanno evidenziato che altri fattori ambientali, come la temperatura, interferiscono con i livelli di gravità durante la crescita delle piante così da influenzarne la risposta (De Micco *et al.*, 2006a). Le modificazioni anatomiche indotte dalla microgravità simulata non sono sempre state

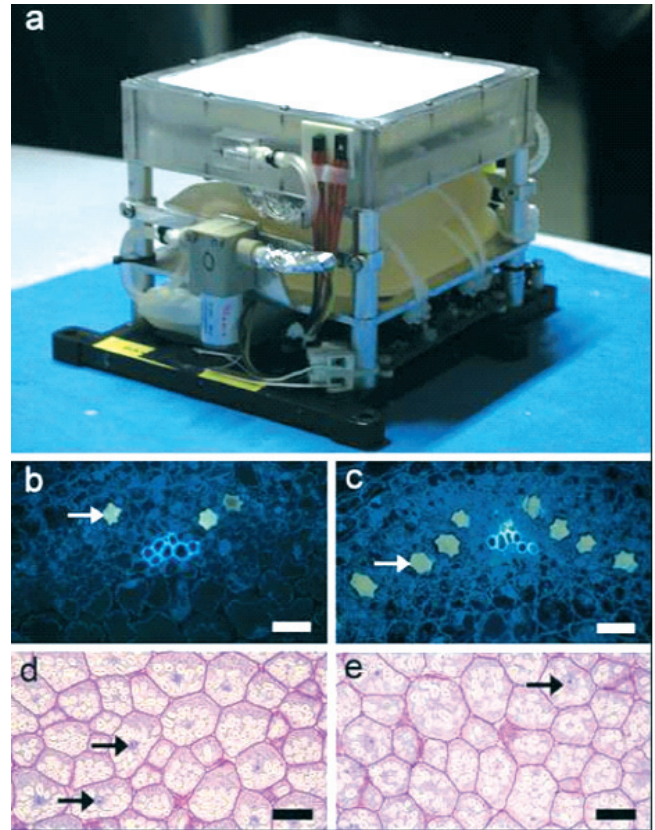


Fig. 3 - Hardware per lo sviluppo di germinelli nello Spazio, progettato nell’ambito del progetto SAYSOY (a). Microfotografie al microscopio ad epi-fluorescenza di sezioni trasversali di ipocotili di soia cresciuti sulla Terra (b) e nello Spazio (c): in microgravità si osserva un numero maggiore di depositi di natura fenolica (freccie bianche). Microfotografie al microscopio ottico di sezioni trasversali di cotiledoni di soia (d, Terra; e, Spazio): sulla Terra gli amiloplasti sono sedimentati e distribuiti ordinatamente intorno al nucleo (freccie nere), mentre nello spazio non mostrano un orientamento preferenziale. Barre di riferimento = 50 mm.  
 Fig. 3 - SAYSOY hardware for the development of seedlings in Space (a). Microphotographs under the epi-fluorescence microscope of cross-section of soy hypocotyls developed on Earth (b) and in Space (c): microgravity determines the development of a higher number of phenolic bodies (white arrows). Microphotographs under the light microscope of cross-section of soy cotyledons (d Earth; e, Space): on Earth starch grains are sedimented and surround the nucleus, while in Space they are scattered (black arrows). Bars = 50 mm.

paragonabili ai cambiamenti verificatisi in condizioni reali di microgravità. A livello ultrastrutturale sono state evidenziate perturbazioni nella deposizione delle microfibrille di cellulosa durante il processo di formazione della parete cellulare primaria in germinelli sviluppati nello Spazio; tale fenomeno, tuttavia, sembra essere reversibile dal momento che si osserva una deposizione normale di cellulosa nello stadio più avanzato di formazione della parete secondaria (De Micco *et al.*, 2008). Tali perturbazioni reversibili potrebbero spiegare il rallentamento di alcuni fenomeni di crescita che si verificano nello Spazio.

Ulteriori esperimenti condotti nell’ambito del pro-

getto ASI 'Risposta morfologia e fisiologica della radice a gradienti elettrochimici in condizioni di microgravità' hanno permesso di valutare l'effetto della microgravità simulata sulla germinazione del polline di alcune colture erbacee ed arboree con due obiettivi principali: (a) comprendere le possibili conseguenze sul completamento del ciclo riproduttivo e (b) studiare la possibilità di applicare metodi di selezione gametofitica nello Spazio. Le alterazioni nella germinazione del polline causati dalla microgravità simulata sono risultate specie-dipendenti ed hanno riguardato principalmente la formazione e la migrazione dei nuclei nel tubetto pollinico, la formazione di depositi di callosio e l'utilizzazione dell'amido (De Micco *et al.*, 2006b,c).

### **L'effetto delle radiazioni ionizzanti sulla crescita delle piante e le prospettive di studio in Italia**

La possibilità di coltivare le piante nei sistemi biorgenerativi nello spazio non può prescindere dal capire come esse rispondono non solo a livelli alterati di gravità, ma anche alla presenza di radiazioni ionizzanti che possono determinare l'insorgenza di modificazioni a livello molecolare, biochimico, fisiologico e morfo-strutturale (Cucinotta and Durante 2006; Durante and Cucinotta 2008). L'esposizione a sorgenti di radiazioni può avere un effetto diretto o indiretto sui fenomeni di crescita e riproduzione delle piante; nel primo caso è la radiazione che determina modificazioni dirette sulle strutture cellulari e sub-cellulari, nel secondo caso invece le modifiche strutturali sono il risultato di un'espressione fenotipica alterata a seguito di aberrazioni genetiche. Tra gli effetti delle radiazioni ionizzanti sulle piante superiori, vi sono variazioni nello sviluppo morfologico, alterazione delle strutture riproduttive con conseguente riduzione del successo riproduttivo, riduzione o perdita di funzionalità dei fotosistemi che possono determinare problemi nello svolgimento della fotosintesi, generazione di radicali liberi responsabili dei fenomeni di fotoossidazione delle membrane fotosintetiche, ecc.

Lo studio dell'effetto delle radiazioni spaziali sulla crescita delle piante ed il confronto tra risultati che derivano da sperimentazioni diverse sono resi difficili dalla presenza di numerose sorgenti di variabilità. Basti pensare che la severità dell'effetto delle radiazioni dipende dall'interazione con diversi fattori, sia intrinseci che ambientali. Tali fattori comprendono la specie, la cultivar, l'organizzazione del genoma, l'età della pianta, il suo stato fisiologico, fenologico e la complessità morfologico-strutturale (Holst e Nagel 1997). Numerosi fattori legati al tipo di radiazione, tra

cui il la quota relativa di energia trasferita alla materia da parte di una radiazione ionizzante (*Linear Energy Transfer*, LET), e le dosi, nonché la possibile interazione con altri parametri ambientali possono determinare una maggiore o minore efficienza nell'insorgenza dei danni a diverso livello durante lo sviluppo delle piante (De Micco *et al.* 2010). E' ormai accettato che le radiazioni ionizzanti possono indurre diverse risposte nei vegetali: dosi molto elevate possono avere effetti devastanti, dosi intermedie possono essere nocive, mentre dosi molto basse possono addirittura stimolare positivamente alcuni fenomeni di crescita secondo un fenomeno comunemente noto come ormesi (Luckey 1980; Bayonove *et al.* 1984; Zimmermann *et al.* 1996). Quest'ultimo fenomeno è spesso considerato come una sorta di recupero veloce a seguito di un danno lieve, grazie all'intervento di meccanismi di riparazione cellulare. Il pre-irraggiamento di semi con bassi livelli di radiazioni può anche determinare modificazioni strutturali, che aumentando la porosità dei tegumenti, possono migliorare l'imbibizione dei semi favorendone quindi la germinazione (Hammond 1996). Effetti negativi invece sulla germinabilità dei semi sono generalmente ascrivibili all'insorgenza di aberrazioni genetiche che determinano problemi durante la divisione mitotica oppure alterazioni metaboliche.

E' opinione comune che allo stato attuale non può essere identificato un modello di comportamento univoco delle piante superiori a seguito dell'esposizione alle radiazioni ionizzanti a causa di limitazioni tecniche ed economiche che hanno limitato e limitano lo svolgimento di esperimenti nello spazio. La maggior parte delle informazioni attualmente disponibili derivano da esperimenti non orientati alle problematiche dell'esplorazione spaziale ma collegati ad interessi di tipo agronomico come la selezione di nuove cultivar prodotte attraverso mutazioni indotte dall'esposizione dei semi alle radiazioni oppure lo sviluppo di nuovi metodi di decontaminazione (Yamaguchi *et al.* 2003; Maity *et al.* 2005). Altri risultati derivano dal settore della radioecologia che studia gli effetti dell'inquinamento da radiazioni sulle colture o anche sulla struttura della vegetazione naturale, come ampiamente affrontato dopo l'incidente di Chernobyl (Real *et al.* 2004).

E' chiara quindi la necessità di portare avanti ricerche finalizzate a studiare l'effetto delle radiazioni sullo sviluppo delle piante con esperimenti basati sull'esposizione di specie modello a irraggiamenti controllati che si avvicinino alle condizioni spaziali, allo scopo di ottenere dati riproducibili che possano anche essere utili per valutare la necessità o meno di utiliz-

zare schermature nei sistemi biorigenerativi spaziali. Negli ultimi anni l'ASI ha mostrato interesse verso questo tipo di ricerche e nell'ambito del progetto 'Controllo Ambientale Biorigenerativo' (CAB), finalizzato allo sviluppo di conoscenze e tecnologie avanzate per il supporto della vita dell'uomo nello spazio (Lobascio *et al.*, 2007), ha avviato il programma CAB-Radiation. Quest'ultimo è focalizzato sulla valutazione degli effetti delle radiazioni ionizzanti su semi di tre specie, due di interesse alimentare (soia e spinacio) ed una specie modello [*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.]. Nell'ambito di questo progetto sono previsti irraggiamenti sia con raggi X (basso LET) sia con ioni pesanti (alto LET) cercando di ricreare condizioni simili a quelle che si verificano in ambiente spaziale. Le attività previste riguardano, oltre agli irraggiamenti, sia la valutazione degli effetti delle radiazioni su vitalità e germinabilità dei semi, sia la messa a coltura dei semi sopravvissuti per studiare gli effetti delle radiazioni sulle caratteristiche morfo-anatomiche e fisiologiche delle piante derivate. In particolare saranno presi in considerazione sia parametri morfo-strutturali da cui dipendono la funzionalità del sistema vegetale e le sue qualità alimentari, sia aspetti fisiologici tra cui la fotosintesi. Questo processo assume un'importanza critica e fondamentale per i sistemi di supporto alla vita nello spazio, basati sulle piante, soprattutto in missioni umane di lunga durata per la rigenerazione dell'ossigeno nei moduli pressurizzati.

### Il supporto della vita nello Spazio: il ruolo delle piante superiori

I programmi internazionali di esplorazione dello Spazio sono indirizzati oggi a missioni che prevedono una permanenza dell'uomo nello Spazio per periodi sempre più lunghi (es. basi su Luna o su Marte). Una lunga permanenza dell'uomo nello Spazio richiede la risoluzione di problematiche di tipo tecnico-ingegneristico, medico e di approvvigionamento delle risorse. Ad esempio la possibilità di abitare una base su Marte ad oggi è limitata a circa 30 giorni. Il lancio degli astronauti infatti avviene quando la Terra è quasi in congiunzione con Marte (minima distanza tra i due pianeti) ed è necessario dopo un mese abbandonare la base e rientrare sul nostro pianeta. Oltre questo tempo infatti la Terra tende ad allontanarsi dal pianeta rosso, rendendo il rientro degli astronauti sempre più oneroso in termini di risorse. Una missione di questo tipo dovrebbe durare in tutto circa 500 giorni. Se si vuole ipotizzare ad una missione un po' più complessa allora bisogna pensare a dover lasciare gli astronauti fino ad una successiva congiunzione Terra-Marte. Per una

missione di lunga durata di questo tipo non è realistico pensare di rifornire dalla Terra tutte le risorse necessarie, in termini di cibo, acqua e ossigeno, per soddisfare i fabbisogni dell'equipaggio. Pertanto, le missioni interplanetarie e le lunghe permanenze sulle piattaforme spaziali dipendono dallo sviluppo e dall'utilizzo efficiente di sistemi di tipo biorigenerativo in cui è possibile sostenere le necessità degli equipaggi attraverso una continua rigenerazione delle risorse fino ad arrivare alla completa autosufficienza (fig. 4) (MacElroy *et al.*, 1987; Rummel e Volk, 1987; Bartsev *et al.*, 1996; Wheeler *et al.*, 1996; Stutte *et al.*, 1997; Gros *et al.*, 2003; Tikhomirov *et al.*, 2007). Nei sistemi biorigenerativi per il supporto della vita dell'uomo nello spazio si potrebbe fornire ossigeno, ridurre anidride carbonica e riciclare acqua attraverso processi fisico-chimici oppure mediante sistemi biologici (piante, batteri, alghe, ecc.) che potrebbero anche fornire cibo e garantire il benessere psico-fisico degli astronauti (Eckart, 1996). Le piante, in particolare, potrebbero svolgere le seguenti funzioni: (a) rigenerare l'atmosfera in moduli pressurizzati attraverso il consumo di CO<sub>2</sub> ed il rilascio di O<sub>2</sub> tramite il processo di fotosintesi, (b) riciclare i nutrienti dai rifiuti degli equipaggi (c) recuperare acqua pulita dai reflui utilizzati per la fertirrigazione attraverso la traspirazione e (d) produrre biomassa fresca edibile per reintegrare la dieta degli astronauti (fig. 1). In passato sono stati progettati e prodotti numerosi moduli di crescita per applicazioni spaziali anche se privi di sistemi biorigenerativi come: *Astroculture™ System* (NASA); *Plant Growth Unit* (NASA), *Plant Growth Facility* (NASA), *Svet* (Bulgaria e Russia), *Plant Generic BioProcessing Apparatus* (NASA), *Biomass Production System* (NASA), *Commercial Plant*

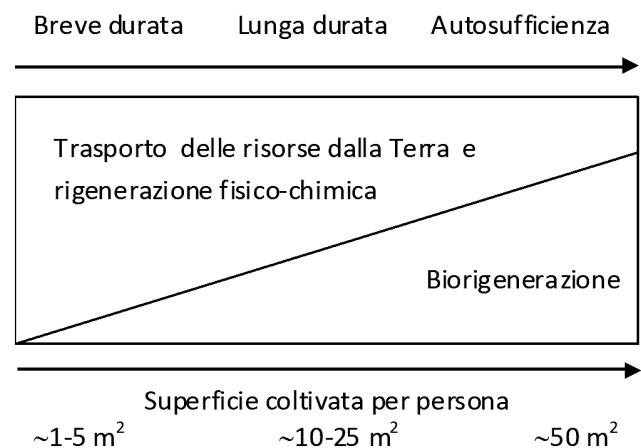


Fig. 4 - Evoluzione dei sistemi biorigenerativi per il supporto della vita dell'uomo nello Spazio al crescere della durata della missione.

Fig. 4 - Evolution of bioregenerative systems in space life support with increasing mission duration.



*Biotechnology Facility* (NASA), *Plant Research Unit* (NASA) e *European Modular Cultivation System* (ESA). I moduli di crescita prodotti più recentemente hanno permesso di controllare meglio le variabili ambientali e di superare le difficoltà riscontrate precedentemente a causa del mal funzionamento degli apparati in condizioni di microgravità.

Per i veicoli spaziali la tendenza attuale è quella di sviluppare moduli di crescita affidabili in grado di fornire cibo all'equipaggio limitando al massimo la massa, il consumo energetico, l'uso di volumi e di lavoro umano (Steinberg *et al.*, 2002). Spesso infatti proprio il ridotto volume disponibile per le piante, la scarsa capacità di carico di materiale e la ridotta disponibilità di energia limitano fortemente la progettazione e la realizzazione di sistemi per la coltivazione di specie vegetali a bordo di veicoli o basi spaziali (Monje *et al.*, 2003). La microgravità genera inoltre problemi di tipo ingegneristico sulla dinamica dei fluidi che, se lasciati liberi nell'ambiente, possono costituire un problema per la sicurezza dell'equipaggio; pertanto anche nel modulo di coltivazione è richiesta la compartimentazione dei fluidi all'interno di sistemi idroponici al fine di rendere disponibile l'acqua ed i nutrienti per l'assorbimento radicale (es. sistema idroponico a tubi porosi riportato in figura 2). In queste condizioni la progettazione dei moduli di crescita è indirizzata alla produzione di piccole quantità di ortaggi freschi e facili da produrre e da mangiare, che richiedano un limitato impiego di lavoro da parte dell'equipaggio.

La gravità presente nei pianeti e satelliti (Luna, Marte) potrebbe anche consentire l'impiego di sistemi idroponici simili a quelli normalmente utilizzati sulla Terra (*Nutrient Film Technique*, floating system, aeroponica) e di metodi irrigui gravimetrici o a goccia; tali metodi non possono invece essere utilizzabili in presenza di microgravità a causa della mancata separazione tra la fase liquida e quella gassosa.

Le diverse condizioni di ipo-, iper- e microgravità presenti nello Spazio impongono inoltre lo studio ed il superamento di alcuni problemi come ad esempio il mantenimento della continuità idraulica e la prevenzione dell'ipossia radicale in modo da ampliare le prospettive applicative dei sistemi idroponici.

La serra rappresenta un elemento chiave per il supporto della vita nello spazio; con il know how e la tecnologia attualmente disponibile si potrebbe verosimilmente arrivare a sostenere fino al 30-40% del fabbisogno totale di cibo. La serra dovrebbe essere progettata per operare sia a pressione atmosferica sia a bassa pressione al fine di ridurre lo stress sulla struttura causato dal basso livello di pressione esistente sul pianeta.

A riguardo Fortezza *et al* (1996) e Perino *et al.* (2003) hanno proposto serre per la produzione di cibo accessibile agli astronauti con una pressione atmosferica di 100 kPa (con circa 20 kPa di ossigeno, 79 kPa di azoto e 1 kPa di anidride carbonica), una temperatura tra 22 e 30°C ed umidità tra il 50 e 90%. La serra proposta dovrebbe essere gonfiabile, semicilindrica (alta 4,5 m, larga 9,8 m), al fine di minimizzare il carico durante il trasporto, ed includere un sistema di coltivazione idroponico (NFT, aeroponica o su substrato). L'illuminazione verrebbe regolata utilizzando il fotoperiodo più idoneo per quella determinata specie, utilizzando anche radiazione solare filtrata parzialmente e l'intensità luminosa sarebbe impostata sulla base della concentrazione di CO<sub>2</sub>, della temperatura e dello stadio di crescita della coltura. Nell'ambito del progetto SGH promosso dall'ASI, l'Alenia Spazio, il MARS e l'Università di Napoli hanno progettato un modulo per la coltivazione di piante nella ISS partendo da esperienze condotte a Terra (fig. 5). Gli obiettivi specifici delle ricerche a Terra sono stati l'identificazione, per questo particolare ambiente, di piante altamente produttive in grado di ottimizzare il rapporto produzione O<sub>2</sub>/consumo CO<sub>2</sub> e lo sviluppo di ambienti controllati ad alta tecnologia idonei per la crescita delle piante nello Spazio. Oggi questi obiettivi possono essere perseguiti con maggiore efficienza sia attraverso l'impiego di modelli di simulazione della risposta delle piante ai fattori ambientali e modelli di fluidodinamica (Savino *et al.*, 2008) sia mediante la progettazione di piante biotech che meglio si adattano alle condizioni di crescita della serra spaziale (Lobascio *et al.*, 2007).

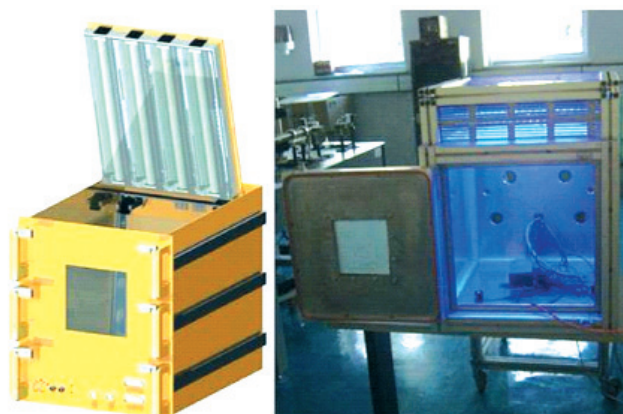


Fig. 5 - Rappresentazione grafica (a sinistra) del modulo di coltivazione per la Stazione Spaziale Internazionale e relativo prototipo a Terra per test preliminari (a destra) (De Micco *et al.*, 2009).

Fig. 5 - Graphical representation (left) of the drawer facility for plant cultivation in the International Space Station and its prototype (right) on Earth for preliminary tests (De Micco *et al.*, 2009).

## Sistemi biorigenerativi per il supporto della vita nello spazio: il ruolo della ricerca italiana

La possibilità di stabilire basi planetarie non può prescindere dalla presenza di un sistema biorigenerativo chiuso per il supporto della vita dell'uomo nello Spazio in grado di garantire, oltre al cibo fresco, la rigenerazione delle risorse (es. acqua, ossigeno) dai reflui. Le basi planetarie e satellitari, oltre ad avere una maggiore superficie disponibile per i moduli di crescita, avrebbero anche risorse disponibili *in situ* (es. regolite lunare come substrato, CO<sub>2</sub> dall'atmosfera marziana per la concimazione carbonica delle piante) con conseguente riduzione dei costi di gestione e di trasporto del materiale dalla Terra. Un aspetto comune alle basi su pianeti e satelliti è rappresentato dalla presenza di gravità (es. 1/6 g sulla Luna e 1/3 g su Marte) che consentirebbe l'adozione di un ampio *range* di sistemi di coltivazione fuori suolo. Inoltre, l'impiego nei moduli di crescita a bassa pressione atmosferica permetterebbe di ridurre i costi della struttura e di ridurre i rischi di perdite di gas dalla serra spaziale; tuttavia, la pressione atmosferica interna alla serra dovrebbe essere opportunamente definita al fine di ridurre i rischi di stress idrico alla coltura e di ipossia a causa di un flusso insufficiente di ossigeno soprattutto a livello radicale (Monje *et al.*, 2003).

Le attività di ricerca condotte negli anni '80 fino all'inizio degli anni '90 hanno riguardato la valutazione di diverse colture in ambienti controllati e provvisti di sistemi idroponici e di illuminazione artificiale. Esperimenti simili sono stati condotti negli anni '90 su colture ortive e, solo recentemente, sono stati avviati progetti interdisciplinari finalizzati ad integrare i moduli di crescita con i sistemi di trattamento dei rifiuti al fine di rigenerare le risorse (es. acqua, nutrienti); tali progetti si sono occupati di studiare la gestione delle colture in ambienti completamente chiusi con particolare riferimento alle variazioni della composizione dell'aria ed inoltre hanno contribuito a definire i sistemi di coltivazione fuori suolo in grado di operare in condizioni di microgravità. Risultati interessanti sono stati ottenuti dalla NASA in prove a lungo termine nella camera per la produzione di biomassa vegetale al Kennedy Space Center in cui sono state coltivate con successo contemporaneamente molte colture in ambiente completamente chiuso per oltre 400 giorni (Wheeler *et al.*, 2001).

Nell'ottobre 2006, l'ASI ha avviato il progetto CAB finalizzato allo sviluppo di conoscenze e tecnologie avanzate per la realizzazione di un sistema biorigenerativo (Lobascio *et al.*, 2007). Il programma ha previsto una fase di studio preliminare che ha coin-

volto la Thales Alenia Space Italia, l'Università di Napoli, l'Università di Torino ed altri partner pubblici e privati. Il programma CAB focalizza l'attenzione su cinque elementi critici nelle missioni spaziali: 1) produzione di cibo e gestione delle colture, 2) rigenerazione dell'aria, 3) rigenerazione dell'acqua, 4) trattamento dei rifiuti solidi, 5) definizione di sistemi biologici e fisico-chimici per il controllo ambientale (Lobascio *et al.*, 2008). Gli specifici obiettivi di ricerca del programma CAB sono stati identificati in:

- definizione di un sistema biorigenerativo quanto più autosufficiente possibile;
- sviluppo di metodi analitici e di strumenti per la gestione dei processi nel sistema biorigenerativo;
- studio dell'adattabilità delle piante a fattori specifici tipici dell'ambiente spaziale (es. ridotta gravità e microgravità, radiazioni ionizzanti, bassa pressione atmosferica);
- trasferimento tecnologico e spin-offs (Lobascio, 2006).

La definizione di un sistema biorigenerativo richiede l'integrazione di diversi processi realizzabile solo attraverso la collaborazione tra diverse discipline. Tale approccio interdisciplinare è stato adottato in diversi progetti: progetto della NASA '*Photosynthesis Experiment Subsystem Testing and Operation (PESTO)*' su frumento (Stutte *et al.*, 2006; Kliss, 2006), progetto russo sulla gestione dei reflui e dell'acqua nell'ambito di un programma volto a definire un sistema biorigenerativo di supporto della vita nello Spazio (Ilyin, 2008) e il progetto giapponese '*Mini-Earth*' condotto in un ambiente chiuso con la presenza dell'uomo (Tako *et al.*, 2008).

Recentemente l'ESA ha avviato un progetto interdisciplinare '*Micro-Ecological Life Support System Alternative*' (MELISSA) che, grazie alla partecipazione di numerose istituzioni di ricerca provenienti da diversi paesi europei, studia come sia possibile sviluppare un sistema biorigenerativo per il supporto della vita nello Spazio in missioni di lunga durata (es. Luna o Marte) mediante l'impiego di microrganismi e piante superiori. MELISSA si basa sul recupero di cibo, di acqua potabile e di ossigeno da elementi di scarto prodotti nel corso della missione stessa. Recentemente, un gruppo di ricerca italiano dell'Università di Napoli è stato coinvolto nel progetto MELISSA contribuendo con la sua esperienza di ricerca ed in sinergia con altri progetti come quello russo '*Bios-3 system*' (Tikhomirov *et al.*, 2007) a proporre nuove configurazioni del sistema biorigenerativo per il supporto della vita dell'uomo nello spazio.

Sono sempre più numerose le evidenze che dimostrano l'effetto psicologico positivo che le piante esercitano sull'essere umano costretto a vivere in ambienti



chiusi (Williams, 2002). Recentemente l'ESA e l'Agenzia Spaziale Russa hanno avviato il progetto MARS-500 che prevede un esperimento condotto a Terra volto a simulare le condizioni di un viaggio verso Marte; tale esperimento si svolge all'interno di un'astronave posta nei locali dell'*Institute of Biomedical Problems (IBMP)* dell'Accademia Russa delle Scienze a Mosca. Nell'ambito del progetto sono studiati gli aspetti strutturali, genetici e colturali nel modulo di crescita ed inoltre gli aspetti biomedici e psicologici in persone costrette a vivere per lunghi periodi in ambienti isolati e ristretti. In particolare le strutture della serra e del sistema di coltivazione sono progettati in funzione delle condizioni ambientali marziane e sono individuati interventi di miglioramento genetico per l'ottenimento di cultivar più idonee all'ambiente di coltivazione; sulle piante coltivate per lunghi periodi nel modulo di crescita viene valutata la crescita, lo sviluppo, il metabolismo e la qualità dei prodotti, con particolare riguardo allo studio della produttività al variare della disponibilità di luce ed alla definizione del massimo numero di cicli colturali realizzabili nello stesso substrato (Sychev *et al.*, 2008).

### Una roadmap dagli esperimenti a terra alle basi planetarie

In figura 6 è riportata una roadmap che evidenzia possibili scenari futuri di ricerca spaziale e spin-off

fino al 2040 partendo dalle prove condotte a Terra dal 1997 su clinostato ed in camera di crescita nell'ambito del progetto SGH. La roadmap è suddivisa in tre parti relative ad applicazioni terrestri, spaziali e planetarie. Gli studi condotti nell'ambito di SGH potrebbero evolvere nella realizzazione di un piccolo modulo di crescita (circa 0,5 m<sup>3</sup>) per la ISS. Questo modulo di crescita in orbita aumenterà significativamente la possibilità di effettuare ricerche nel campo della genetica e della fisiologia vegetale, dell'orticoltura, della modellizzazione dei processi fisici e biologici, e dell'ingegneria applicata allo sviluppo di nuove tecnologie per il controllo ambientale (es. sensoristica). Il passo successivo dovrebbe riguardare la progettazione e la realizzazione in orbita di un modulo di coltivazione delle piante su una superficie più estesa (3-4 m<sup>3</sup>). Allo stesso tempo sono ipotizzabili trasferimenti di tecnologie sviluppate per lo Spazio e spin-off con applicazioni terrestri finalizzate ad un più efficiente controllo automatizzato del processo produttivo in ambiente protetto. Inoltre, le conoscenze e tecnologie sviluppate potrebbero essere trasferite a Terra con lo scopo di realizzare nuove serre per ambienti estremi o per implementare quelle già esistenti. Queste strutture serricole potrebbero anche essere combinate su larga scala ed integrate con grandi centrali elettriche a bassa emissione prossime a centri urbani (Alamaro, 2007) con l'obiettivo di sfruttare le acque calde reflue dagli impianti e l'anidride carbonica emessa e, quindi,

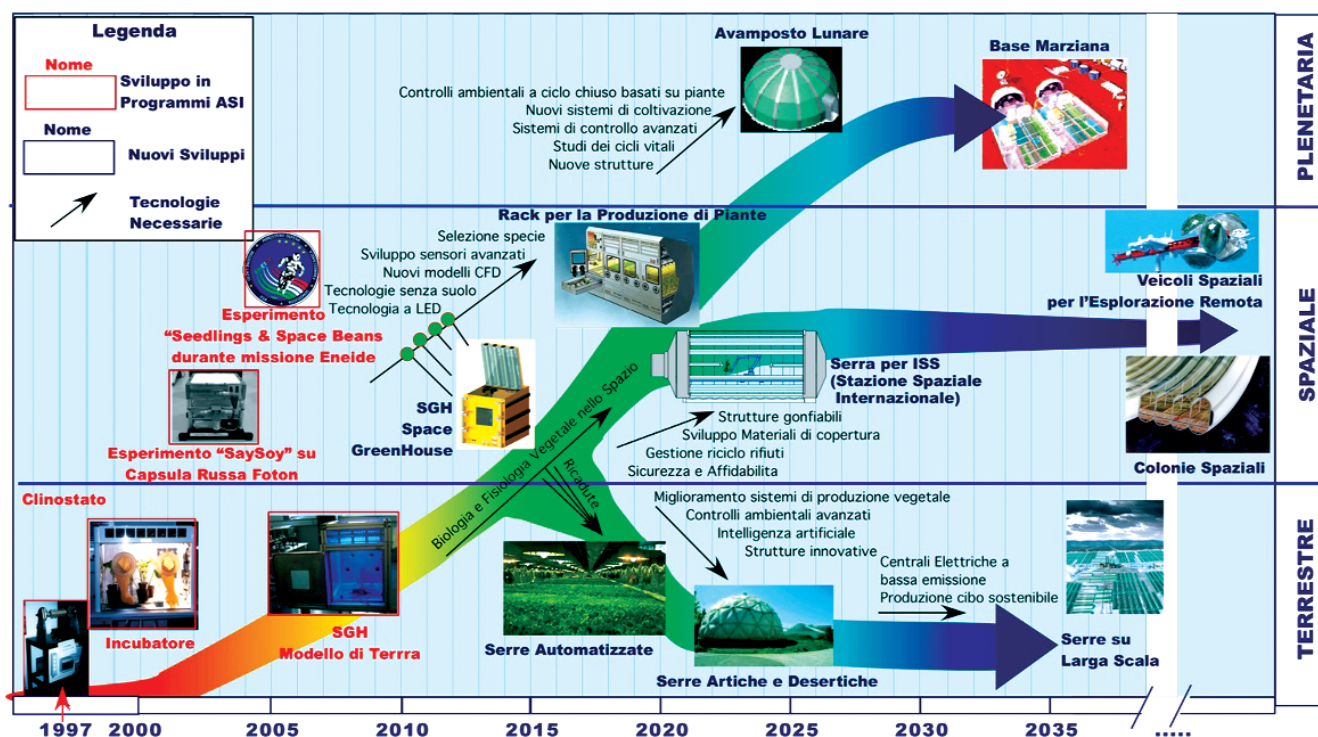


Fig. 6 - Roadmap del progetto Space Green House (SGH) che evidenzia programmi di ricerca futuri e spin-off (De Micco *et al.*, 2009).  
 Fig. 6 - Roadmap of the Space Green House (SGH) project highlighting future programs and spin-off (De Micco *et al.*, 2009).

ridurre il costo del trasporto degli alimenti in aree densamente popolate. Per quanto riguarda il settore spaziale la produzione di cibo sull'ISS potrebbe ulteriormente aumentare con lo sviluppo di un nuovo modulo di crescita pressurizzato di circa 100 m<sup>3</sup>. La realizzazione di questo modulo di crescita con tecnologie avanzate in grado di assicurare un'elevata produttività in ambiente extra-terrestre unitamente all'individuazione di specie/cultivar e sistemi di coltivazione idonei rappresentano un aspetto fondamentale per un possibile sviluppo di veicoli spaziali da impiegare nell'esplorazione dei pianeti, dei satelliti e persino delle futuristiche colonie spaziale. La colonizzazione extra-planetaria da parte dell'uomo richiederà inizialmente la realizzazione di un modulo di crescita dedicato alle piante per la produzione di cibo nella ISS e di un sistema biorigenerativo sulla Luna come avamposto per la colonizzazione di Marte. Tuttavia, le prime basi lunari non avranno le risorse sufficienti per realizzare un sistema biorigenerativo completamente autosufficiente; infatti si ipotizza che soltanto l'acqua potrà essere fisicamente e chimicamente riciclata mentre tutte le altre risorse dovranno essere rifornite dalla Terra. Infine, la creazione di una base planetaria su Marte richiederà non meno di 10 o 15 anni.

I requisiti minimi richiesti per le missioni su Marte di breve durata (circa 500 giorni) riguarderanno la presenza di sistemi in grado di riciclare l'acqua e rigenerare l'aria e la costituzione di scorte alimentari sufficienti. L'utilizzo di piccoli moduli di crescita delle piante come la '*Salad Machine*' potrà garantire la produzione di cibo fresco per i membri dell'equipaggio e offrire loro un'attività ricreativa durante la breve permanenza su Marte (Hanford, 2006). La realizzazione di una base planetaria permetterà un'estensione della permanenza dell'uomo su Marte. Come già descritto precedentemente per le prime missioni, in fase di studio, la permanenza sarà limitata al massimo a 30 giorni dopo i quali non sarà possibile rientrare a Terra per altri 780 giorni. Ciò significa che per missioni più complesse, la permanenza dell'uomo su Marte per più di 30 giorni sarà possibile solo prevedendo una residenza sul pianeta per periodi lunghi circa due anni. In tal caso, considerata la lunga durata della missione e la difficoltà di trasportare e conservare grandi quantità di cibo, diventa essenziale la presenza di un sistema biorigenerativo per il supporto della vita dell'uomo provvisto di una serra di superficie tale (superficie coltivata = 40-50 m<sup>2</sup>/uomo) da garantire circa l'80-90% del cibo necessario e tutto l'ossigeno richiesto. La presenza di un sistema biorigenerativo dovrebbe essere presa in considerazione anche per le missioni di breve durata dove, in caso di

problemi di ritardo sulla finestra di lancio per il rientro della capsula a Terra, si dovrebbe comunque assicurare la sopravvivenza degli astronauti sul pianeta fino ad una nuova opportunità di rientro.

## Conclusioni

Lo sviluppo dell'esplorazione spaziale dipende dalla capacità di esportare risorse utili per il supporto della vita umana in ambiente extra-terrestre e dalla progettazione di colonie auto-sostenibili basate sui sistemi ecologici chiusi in cui le piante hanno un ruolo fondamentale. L'ambiente ideale di crescita per le piante nello Spazio è rappresentato da una serra in cui tutti i fabbisogni di acqua, nutrienti, luce, e temperatura sono soddisfatti. Per raggiungere quest'obiettivo occorre studiare e superare le problematiche imposte dalla microgravità, dalla bassa pressione atmosferica, dall'alta concentrazione di anidride carbonica, dalle temperature estreme, dagli elevati livelli di radiazioni ionizzanti. La ricerca ha quindi bisogno di investire nello sviluppo di appropriate infrastrutture spaziali e relativo hardware nonché nelle tecnologie e biotecnologie applicate alle piante per migliorarne la tolleranza ai fattori di stress e ottimizzare la gestione degli inputs/outputs nello Spazio. Le ricerche nel campo dell'agrobiologia e dell'ingegneria applicata allo Spazio hanno permesso di dare risposte a numerose problematiche relative alla coltivazione nello Spazio utili per lo sviluppo di serre spaziali, ma ancora molto resta da fare soprattutto nell'ottimizzazione delle tecnologie esistenti sulla Terra con riferimento alle applicazioni spaziali.

Da un punto di vista puramente scientifico l'ambiente Spazio può essere considerato come un laboratorio che può anche contribuire alla comprensione di alcuni fenomeni legati all'evoluzione della vita sulla Terra. D'altra parte lo studio di come lo Spazio influenza i sistemi biologici complessi ha anche un valore applicativo nella realizzazione di sistemi di produzione primaria in situazioni ambientali estreme sulla Terra come le regioni polari o i deserti. Infine, specifiche tecnologie sviluppate in ambito spaziale potrebbero essere d'aiuto per aumentare la sostenibilità dei sistemi produttivi terrestri attraverso un riutilizzo delle biomasse di scarto e dei reflui così da ridurre il loro impatto sull'ambiente.

In conclusione, la definizione di un sistema biorigenerativo richiede l'integrazione di diversi processi che devono poter essere controllati e modellati al fine di ottimizzare la funzionalità del sistema nel tempo in relazione all'ambiente spaziale di riferimento ed ai bisogni dell'equipaggio. Il raggiungimento di tali

obiettivi implica tuttavia la sinergia di varie comunità scientifiche che, spaziando dagli aspetti biologici alle agro-tecnologie, possano lavorare a stretto contatto per raggiungere risultati condivisi e definire protocolli e richieste comuni.

## Riassunto

Le future stazioni spaziali e gli habitat lunari/marziani dovranno essere progettati e realizzati come sistemi biorigenerativi autosufficienti a ciclo chiuso o semichiuso per limitare la dipendenza dalla Terra e ridurre il numero di missioni di trasporto interplanetarie. Le piante giocano un ruolo fondamentale in tali apparati in quanto rappresentano cibo fresco per gli astronauti e contribuiscono alla rigenerazione dell'atmosfera degli habitat. La review riporta i risultati conseguiti nell'ambito di diversi progetti di ricerca finanziati dall'Agenzia Spaziale Italiana volti sia a comprendere l'effetto dei fattori spaziali sullo sviluppo degli organismi vegetali, sia alla realizzazione di nuove tecnologie per lo sviluppo di sistemi biorigenerativi.

**Parole chiave:** ambiente spaziale, evoluzione delle piante, gravità alterata, idroponica, radiazioni ionizzanti, sistemi biorigenerativi.

## Bibliografia

- ALAMARO M., 2007. *Large-scale greenhouses attached to power plants for the productive use of waste heat and CO<sub>2</sub> emissions*. Copyright # Moshe Alamaro 2007 alamaro.home.comcast.net/~ alamaro/Greenhouse Concept.pdf.
- ARONNE G., DE MICCO V., ARIAUDO P., DE PASCALE S., 2003. *The effect of uni-axial clinostat rotation on germination and root anatomy of Phaseolus vulgaris L.* Plant. Biosyst. 137(2): 155-162.
- BARLOW P., 1996. *An introduction to gravity perception in plants and fungi - a multiplicity of mechanisms*. Adv. Space Res. 17: 69-72.
- BARTSEV S.I., GITELSON J.I., LISOVSKY G.M., MEZHEVIKIN V.V., OKHONIN V.A., 1996. *Perspectives of different type biological life support systems (BLSS) usage in space missions*. Acta Astronautica. 39(8): 617-622.
- BATEMAN R.M., CRANE P.R., DI MICHELE W.A., KENRICK P.R., ROWE N.P., SPECK T., STEIN W.E., 1998. *Early evolution of land plants*. Annu. Rev. Ecol. Syst. 29: 263-292.
- BAYONOVE J., BURG M., DELPOUX M., MIR A., 1984. *Biological changes observed on rice and biological and genetic changes observed on Tobacco after space flight in the orbital station Salyut-7 (Biobloc III experiment)*. Adv. Space Res. 4: 97-101.
- COLLA G., BATTISTELLI A., PROIETTI S., MOSCATELLO S., ROUPHAEL Y., CARDARELLI M., CASUCCI M., 2007a. *Rocket seedling production on the International Space Station: Growth and nutritional properties*. Microgravity Sci Tech. 19(5/6): 118-121.
- COLLA G., ROUPHAEL Y., CARDARELLI M., MAZZUCATO A., OLIMPIERI I., 2007b. *Growth, yield and reproduction of dwarf tomato grown under simulated microgravity conditions*. Plant Biosyst. 141(1): 75-81.
- CUCINOTTA F.A., DURANTE M., 2006. *Cancer risk from exposure to galactic cosmic rays: implications for space exploration for human beings*. Lancet Oncol. 7: 431-435.
- DE MICCO V., ARONNE G., DE PASCALE S., 2006a. *Effect of simulated microgravity on seedling development and vascular differentiation of soy*. Acta Astronautica. 58: 139-148.
- DE MICCO V., SCALA M., ARONNE G., 2006b. *Evaluation of the effect of clinostat rotation on pollen germination and tube development as a tool for selection of plants in space*. Acta Astronautica. 58: 464-470.
- DE MICCO V., SCALA M., ARONNE G., 2006c. *Effects of simulated microgravity on male gametophyte of Prunus, Pyrus and Brassica species*. Protoplasma. 228: 121-126.
- DE MICCO V., ARONNE G., SCALA M., CASTAGNOLO D., FORTEZZA R., 2006d. *Growth-support system for seedling development onboard of unmanned spacecrafts*. Space Technol. 25(3-4): 1-8.
- DE MICCO V., ARONNE G., 2008a. *Biometric anatomy of seedlings developed onboard of Foton-M2 in an automatic system supporting growth*. Acta Astronautica. 62:505-513.
- DE MICCO V., ARONNE G., 2008b. *Biological experiments in Space. The experience of SAYSOY- Space apparatus to yield SOY sprouts*. Roma: Aracne editrice. ISBN 978-88-548-2150-7.
- DE MICCO V., ARONNE G., JOSELEAU J.P., RUEL K., 2008. *Xylem development and cell wall changes in soy seedlings grown in a microgravity environment*. Ann. Bot. 101: 661-669.
- DE MICCO V., ARONNE G., COLLA G., FORTEZZA R., DE PASCALE S., 2009. *Agro-biology for bioregenerative Life Support Systems in long-term Space missions: General constraints and the Italian efforts*. J. Pl. Interactions, 4: 241-252.
- DE MICCO V., ARENA C., PIGNALOSA D., DURANTE M., 2010. *Review article. Effects of sparsely and densely ionizing radiation on plants*. Radiat Environ Biophys. In press.
- DRESCHER T.W., SAGER J.C., 1989. *Control of water and nutrients using a porous tube: A method for growing plants in space*. HortSci. 26: 944-947.
- DURANTE M., CUCINOTTA F.A., 2008. *Heavy ion carcinogenesis and human space exploration*. Nat. Rev. Cancer. 8: 465-472.
- ECKART P., 1996. *Spaceflight life support and biospherics*. Torrance, California: Space Technology Library, Microcosm Press.
- FORTEZZA R., MONTI R., DE PASCALE S., 1996. *Space Greenhouse*. Presented at 1st Symposium on International Space Station Utilization; 30 September-2 October; Darmstadt, Germany. European Space Agency Special Publication 385: 513-520.
- GRAHAM L.E., 1993. *The origin of land plants*. New York: Wiley & Sons.
- GROS B., POUGHON L., LASSEUR C., TIKHOMIROV A.A., 2003. *Recycling efficiencies of C, H, O, N, S, and P elements in a biological life support system based on micro-organisms and higher plants*. Adv. Space Res. 31(1): 195-199.
- HANFORD A.J., 2006. *Advanced Life Support Research and Technology Development Metric - Fiscal Year 2005*. NASA/CR-2006-213694.
- HALSTEAD T.W., DUTCHER F.R., 1987. *Plants in Space*. Annu. Rev. Plant Physiol. 38:317-345.
- HAMMOND E.C., BRIDGERS K., BERRY F.D., 1996. *Germination, growth rates, and electron microscope analysis of tomato seeds flown on the LDEF*. Radiat. Measurements. 26: 851-861.
- HOLST R.W., NAGEL D.J., 1997. *Radiation effects on plants*. In: Wang W., Gorsuch J.W., Hughes J.S., (eds) Plants for Environmental Studies. Lewis Publishers, Boca Raton, FL, pp 37-81.
- HOSON T., SOGA K., MORI R., SAIKI M., NAKAMURA Y.,



- WAKABAYASHI K., KAMISAKA S., 2002. *Stimulation of elongation growth and cell wall loosening in rice coleoptiles under microgravity conditions in space*. *Plant Cell Physiol.* 43(9): 1067-1071.
- KLISS M., 2006. *Status of NASA Research on Bioregenerative Life Support Systems*. Presented at Workshop on Bioregenerative Environmental Control State-of-the-art and Trends; 18-20 December; Torino, Italy.
- ILYIN V., 2008. *Bioregeneration life support program in Russia Waste management. RF SRC Institute for Biomedical Problems RAS Moscow, Russia*. Presented at Workshop on Bioregenerative Environmental Control State-of-the-art and Trends; 18-20 December; Torino, Italy.
- LEVINE L.H., HEYENGA A.G., LEVINE H.G., CHOI J.W., DAVIN L.B., KRICKORIAN A.D., LEWIS N.G., 2001. *Cell-wall architecture and lignin composition of wheat developed in a microgravity environment*. *Phytochem.* 57: 835-846.
- LOBASCIO C., 2006. *Bioregenerative Life Support Program CAB (Controllo Ambientale Bioregenerativo) Overview*. Presented at Workshop on Bioregenerative Environmental Control State-of-the-art and Trends; 18-20 December; Torino, Italy.
- LOBASCIO C., LAMANTEA M.M., COTRONEI V., NEGRI B., DE PASCALE S., MAGGIO A., FOTI M., PALUMBERI S., 2007. *Plant bioregenerative life supports: The Italian CAB Project*. *J. Plant Inter.* 2(2): 125-134.
- LOBASCIO C., LAMANTEA M.M., COTRONEI V., NEGRI B., DE PASCALE S., MAGGIO A., MAFFEI M., FOTI M., PALUMBERI S., 2008. *CAB: The Bioregenerative Life Support System. A feasibility study on the survivability of humans in a long-duration Space mission*. *Acta Hort.* 801: 465-472.
- LUCKEY T.D., 1980. *Hormesis with ionizing radiation*. CRC Press Inc, Boca Raton, Florida.
- MACELROY R.D., TREMOR J., SMERNOFF D.T., KNOTT W., PRINCE R.P., 1987. *A review of recent activities in the NASA CELSS program*. *Adv. Space Res.* 7(4): 53-57.
- MAITY J.P., MISHRA D., CHAKRABORTY A., SAHA A., SANTRA S.C., CHANDA S., 2005. *Modulation of some quantitative and qualitative characteristics in rice (Oryza sativa L.) and mung (Phaseolus mungo L.) by ionizing radiation*. *Radiat. Phys. Chem.* 74: 391-394.
- MCGINLEY M., WEIS J.S., 2009. *Differences between aquatic and terrestrial environments*. In: Cleveland CJ, editor. *Encyclopedia of Earth*. Washington, DC: Environmental Information Coalition, National Council for Science and the Environment.
- MELISSA webpage: <http://ecls.esa.int>
- MONJE O., STUTTE G.W., GOINS G.D., PORTERFIELD D.M., BINGHAM G.E., 2003. *Farming in Space: Environmental and biophysical concerns*. *Adv. Space Res.* 31(1): 151-167.
- MORROW R.C., CRABB T.M., LEE M.C., 2004. *Evolution of Space-based plant growth systems from research to life support*. Presented at Space 2004 Conference and Exhibit; 28-30 September 2004; San Diego, California.
- MUSGRAVE M.E., 2002. *Seeds in Space*. *Seed Sci. Res.* 12: 1-16.
- MUSGRAVE M.E., KUANG A., 2003. *Plant reproductive development during Spaceflight*. In: Marthy H-J, editor. *Developmental biology research in Space*, 9. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier. pp 1-23.
- PERINO M.A., LOBASCIO C., PASTOR S., MAFFEI M., 2003. *Greenhouse: A strategic element to support humans in Space*. In: Rycroft MJ, editor. *Beyond the International Space Station: The Future of Human Spaceflight*. Proceedings of an International Symposium; 4-7 June 2002; Strasbourg, France.
- REAL A., SUNDELL-BERGMAN S., KNOWLES J.F., WOODHEAD D.S., ZINGER I., 2004. *Effects of ionising radiation exposure on plants, fish and mammals: relevant data for environmental radiation protection*. *J. Radiol. Protection.* 24: A123-A137.
- RIVERA C.M., BATTISTELLI A., MOSCATELLO S., PROIETTI S., ROUPHAEL Y., CARDARELLI M., COLLA G., 2006. *Influence of simulated microgravity on growth, yield, and quality of leafy vegetables: Lettuce and rocket*. *Eur. J. Hort. Sci.* 71: 45-51.
- RUMMEL J.D., VOLK T., 1987. *A modular BLSS simulation model*. *Adv. Space Res.* 7(4): 59-67.
- SAVINO R., DE STEFANO FUMO M., FORTEZZA R., MINEI G., BOCCIA L., DE PASCALE S., 2008. *Advanced control systems for small-scale Space-based greenhouses*. *Acta Hort.* 801: 901-908.
- SCHREINER M., 2004. *Vegetable crop management strategies increase the quantity of phytochemicals*. *Eur. J. Nutr.* 1: 1-10.
- SIEGEL S.M., SIEGEL B.Z., CHEN J., 1981. *Gravity lignifications and land plant evolution. Life in the universe*. In: Billingham J, editor. *Proceedings of the Conference on Life in the Universe*, NASA Ames Research Center. Cambridge, MA: MIT Press.
- STEINBERG S.K., MING D.W., HENNINGER D.L., 2002. *Plant production systems for microgravity: Critical issues in water, air, and solute transport through unsaturated porous media*. NASA/TM-2002-210774.
- STUTTE G.W., MACKOWIAK C.L., YORIO N.C., WHEELER R.M., 1997. *Theoretical and practical considerations for staggered production of crops in a BLSS*. *Adv. Space Res.* 20(10): 1851-1854.
- STUTTE G.W., MONJE O., HATFIELD R.D., PAUL A.L., FERL R.J., SIMONE C.G., 2006. *Microgravity effects on leaf morphology, cell structure, carbon metabolism and mRNA expression of dwarf wheat*. *Planta* 224: 1038-1049.
- SYCHEV V., LEVINSKIKH M., PODOLSKY I., GUSHIN V., BINGHAM G., BATES S., 2008. *The main goals of experiments with the higher plants in the project MARS-500*. *Proceedings 37th COSPAR Scientific Assembly, Montréal, Canada*; p. 3107.
- TAKO Y., MASUDA T., TANI T., SHINOHARA M., ABE K., ARAI R., SUZUKI M., TSUGA S., KOMOTSUBARA O., NOZOE S., AIBE Y., 2008. *On a Japanese bioregenerative life support program - The Mini-earth project - overview of the Closed Ecology Experiment Facilities (CEEf), some results from experiments including closed human habitation and circulation of air and water, and future plan of experiments using the CEEf*. Presented at Workshop on Bioregenerative Environmental Control State-of-the-art and Trends; 18-20 December; Torino, Italy.
- TIKHOMIROV A.A., USHAKOVA S.A., KOVALEVA N.P., LAMAZE B., LOBO M., LASSEUR C., 2007. *Biological life support systems for a Mars mission planetary base: Problems and prospects*. *Adv. Space Res.* 40: 1741-1745.
- WHEELER R.M., MACKOWIAK C.L., STUTTE G.W., SAGER J.C., YORIO N.C., RUFFE L.M., FORTSON R.E., DRESCHER T.W., KNOTT W.M., COREY K.A., 1996. *NASA's biomass production chamber: A testbed for bioregenerative life support studies*. *Adv. Space Res.* 18: 215-224.
- WHEELER R.M., STUTTE G.W., SUBBARAO G.V., YORIO N.C., 2001. *Plant growth and human life support for space travel*. In: Pessaraki M, editor. *Handbook of plant and crop physiology*. New York: Marcel Dekker Inc.
- WILLIAMS D.R., 2002. *Isolation and integrated testing: An introduction to the Lunar-Mars life support test project*. In: Lane HW, Sauer RL, Feedback DL, editors. *Isolation NASA experiments in closed-environment living, science and technology series*, vol. 104. San Diego: Univelt Incorporated: 1-6.
- YAMAGUCHI H., NAGATOMI S., MORISHITA T., DEGI K., TANAKA A., SHIKAZONO N., HASE Y., 2003. *Mutation induced with ion beam irradiation in rose*. *Nucl Instrum Methods Phys Res. B.* 206: 561-564.
- ZIMMERMANN M.W., GARTENBACH K.E., KRANZ A.R., BAICAN B., SCHOPPER E., HEILMANN C., REITZ G., 1996. *Recent results of comparative radiobiological experiments with short and long term expositions of Arabidopsis seed embryos*. *Adv Space Res.* 18(12): 205-213.