

**Diversitatea și activitatea metabolică a microbiomului peșterilor de gheață ca răspuns la schimbările climatice și poluarea antropică (CAVICE)**

**RAPORT ȘTIINȚIFIC**

Etapa II - 2017

*Investigarea activității metabolice a microbiomului din blocul de gheață perenă din peștera Ghețarului Scărișoara în relație cu caracteristicile substratului*

**WEB SITE:** <http://www.ibiol.ro/proiecte/Cavice/index.htm>

Habitatele glaciare reprezintă un model important pentru studiile exobiologice și pentru reconstrucția palaeoclimatului, fiind de asemenea o sursă majoră de tulpini microbiene și extremoenzime pentru aplicațiile biotehnologice. În vederea caracterizării impactului climatic și al poluării antropice asupra microbiotei din habitatele glaciare din peșteri studiul vizează caracterizarea diversității structurale și funcționale a microbiomului din blocul de gheață perenă adăpostit în Peștera Ghețarul Scărișoara, în corelație cu aspectele climatice, vârsta și compoziția geochimică a substratului de gheață. Obiectivele și activitățile prevăzute în etapa II (Faza 2017) a proiectului și rezultatele obținute de echipa IBB au cuprins:

<b>Obiective 2017</b>	<b>Activități</b>	<b>Rezultate</b>
Etapa 2.  Investigarea activității metabolice a microbiomului din blocul de gheață perenă din peștera Ghețarului Scărișoara în relație cu caracteristicile substratului	2.1. Recoltarea probelor de gheață de peștera din diferite locații	Obținerea probelor de gheață
	2.2. Realizarea unei reuniuni de lucru a partenerilor consorțiului CAVICE	Stabilirea strategiei de lucru în cadrul consorțiului pentru Etapa 2
	2.3. Analiza compoziției izotopice a gheții din peșterile Scărișoara și Svarthamar	Obținerea datelor calitative privind variațiile $\delta^{18}O$ și $2H$ din gheața subterană
	2.4. Stabilirea vârstei gheții din peșterile Scărișoara și Svarthamar	Obținerea cronologiei depunerii gheții în peșterile Scărișoara și Svarthamar
	2.5. Analiza metatranscriptomica a comunităților microbiene din sedimentele de gheață din peștera Ghețarul Scărișoara	Secvențializarea și reconstrucția genetică a comunităților bacteriene active la nivelul ARNului total din sedimentele de gheață din Scărișoara
	2.6. Izolarea unor tulpini bacteriene adaptate la temperaturi scăzute capabile de sinteza nanoparticulelor de Au/Ag/Fe	Obținerea unor tulpini izolate din gheața de peșteră capabile de biosinteză de nanoparticule de Au/Ag/Fe

## 2.1. Recoltarea probelor de gheață de peștera din diferite locații

În vederea analizelor metagenomice, metatranscriptomice, izotopice, geocronologice și fizicochimice pentru caracterizarea microbiomului din peșterile de gheață, a fost efectuată o deplasare pe teren la Peștera Ghețarul Scărișoara în perioada 19 -26 Februarie 2017 pentru prelevarea probelor de gheață perenă. La această deplasare au participat membrii echipelor IBB (Cristina Purcărea, Victoria Ioana Păun, Antonio Mondini, Carmen Bădăluță, Aurel Perșoiu) și ERIS (Alexandra Hillebrand-Voiculescu, Cătălina Haidău).

În urma forării verticale în blocul de gheață al peșterii, a fost extrasă o carota de gheață de 25.33 metri adâncime, reprezentând 97 de fragmente, cu vârsta cuprinsă între 1 an (suprafață) și aproximativ 13000 ani vechime. Prelevarea s-a efectuat în condiții sterile pentru evitarea contaminării prin flambarea carotierului. Fragmentele de gheață au fost depozitate în pungi sterile la -20°C.

TinyTag Plus2 dataloggere au fost instalate în cavitatea formată în urma carotării pentru monitorizarea dinamicii temperaturii și a umidității.

## 2.2. Realizarea unei reuniuni de lucru a partenerilor consorțiului CAVICE

În perioada 11-13 octombrie 2017 a avut loc o reuniune de lucru a membrilor acestui consorțiu la care au participat reprezentanți ai tuturor echipelor partenere IBB (România – Coordonator), ERIS (România), UA (Chile), UoB (Norvegia) și CONICET (Argentina). Membrii consorțiului au reprezentat **IBB**: Dr. Cristina Purcărea, Dr. Ioan Ardelean, Dr. Aurel Perșoiu, Drd. Corina Ițcuș, Drd. Ioana V. Păun; **ERIS**: Dr. Alexandra Hillebrand-Voiculescu, Drd. Cătălina Haidău, Dr. Constantin Marin; **CONICET**: Dr. Maria Farias; **UA**: Dr. Cristina Dorador, **UoB**: Dr. Lise Ovreas, Msc. Petra Hribovsek și Eirik Saebo.

În cadrul workshopului “CAVICE - Microbiomes from glacial habitats” organizat în București de către coordonator (IBB) au fost prezentate rezultatele obținute până în prezent de echipele partenere, metodele de lucru, strategia științifică a proiectului pentru următoarea fază și posibilitățile de colaborare între parteneri.

Ansamblul rezultatelor consorțiului a fost de asemenea raportat coordonatorilor europeni ai programului ERANET-LAC în cadrul reuniunii din 9 octombrie 2017 din Lisabona, Portugalia, de către directorul de proiect.

### 2.3. Analiza compoziției izotopice a gheții din peșterile Scărișoara și Svarthamar

Probe de gheață izolate din carota de 25.33 m extrasă din peștera Scărișoara în cadrul deplasării pe teren din Februarie 2017 au fost utilizate pentru analiza compoziției izotopice. În octombrie 2016, au fost colectate 502 probe de gheață din peștera Svarthamar (Norvegia) pentru analize izotopice, în curs de analiză la Unniversitatea din Bergen.

Analiza compoziției izotopice a apei s-a efectuat utilizând un analizor Picarro L2130i CRDS cuplat la un modul de vaporizator de mare precizie. Înainte de măsurarea compoziției izotopice, probele au fost filtrate utilizând micro filtre de nailon de unică folosință cu o porozitate de 0.45 $\mu$ m. Fiecare probă a fost injectată manual de cel puțin nouă ori, iar media ultimelor patru injecții pentru care deviația standard a fost sub 0.03 pentru  $\delta^{18}\text{O}$  și 0.3 pentru  $\delta^2\text{H}$  a fost utilizată analizele ulterioare. Rezultatele obținute sunt raportate față de standardele internaționale VSMOW-SLAP și exprimate în ‰ față de VSMOW, cu o precizie de  $\pm 0,03$  ‰ și  $\pm 0,3$  ‰ pentru  $\delta^{18}\text{O}$  și respectiv  $\delta^2\text{H}$ .

Datele izotopice obținute în cazul celor două peșteri indică faptul că gheața perenă subterană a acestora s-a format în condiții izotopice cinetice, care alterează compoziția izotopică originală a apei. Studii preliminare (Perșoiu et al., 2011) au arătat că este posibilă stabilirea valorii compoziției izotopice inițiale a apei înainte de înghețul acesteia, metoda descrisă fiind folosită pentru reconstituirea dinamicii climatului din Holocen.

Astfel, datele privind blocul de gheață de la Scărișoara indică o perioadă de creștere continuă (de aproximativ 3,2 ‰) a valorilor  $\delta^{18}\text{O}$  în perioada Holocenului timpuriu și ~5 kcal BP, urmată de condiții relativ stabile până la o valoare de ~0,8 kcal BP și o scădere rapidă spre 1860 AD (când se termină înregistrarea). Rezultatele sugerează că în timpul Holocenului timpuriu și mijlociu (înainte de aproximativ 4,7 kcal BP) parametrii climatici din bazinul Nord-Atlantic au fost similare cu cele din timpul fazelor negative NAO, corespunzătoare unor condiții climatice calde și uscate în nordul și vestul Europei și reci și umede în sud-estul Europei. Intensificarea circulației vestice și creșterea intensității fluxurilor de la 10 la 4,7 kcal BP indică o trecere de la faza negativă NAO la faza pozitivă NAO în Atlanticul de Nord, aceasta din urmă devenind dominantă din ~ 4,7 kcal BP. După maximul de ~ 5 kcal BP, temperaturile de iarnă au rămas ridicate, dar variabile până la aproximativ 0,6 kcal BP, atunci când au început să scadă, în faza de debut a răcirii din Mica perioadă Glaciară. Datele paleoclimatice privind condițiile climatice de iarnă din Europa în intervalul BP 1 - 5 kcal arată condiții mai reci și mai umede în Europa de Vest și de Nord și în Atlantic și condiții mai calde și mai uscate în sudul și estul Europei.

Datele sugerează că schimbările climatice din NV României, deși sincrone cu cele din V Europei, au fost mai puțin abrupte și marcate, fiind mai intense în sezonul rece. Holocenul timpuriu a fost în general cald și uscat, mai ales în NV României. Iernile de la începutul Holocenului au fost în general reci, spre deosebire de veri care erau calde, astfel încât contrastul termic între sezoane era mai mare. După ca. 5000 cal BP, temperatura aerului a început să scadă, atât vara, cât și iarna, reducându-se astfel și contrastul termic dintre sezoane. După ca. 5000 cal BP, influența mediteraneeană a început să se simtă din ce în ce mai puternic, mai ales în SV României, extinzându-se treptat și spre NV.

Dinamica climatului în Holocen cuprinde:

- Holocen Timpuriu (10-8 kcal BP): veri calde, ierni reci, rate de precipitații crescute (cu o componentă Mediteraneană puternică), sezonalitate accentuată.
- Holocenul Mediu (8-2 kcal. BP): scad temperaturile pe timpul verii, cresc temperaturile de iarnă, precum și tendința de uscăciune (cu umiditate originară din Oceanul Atlantic); sezonalitate slab accentuată.
- Holocen Tarziu (> 2 kcal. BP): revin sezonalitatea puternică și rate ridicate de precipitații (majoritar dinspre Estul zonei Mediteraneene); sezonalitate crescută.

Analiza izotopica a probelor din peștera Svarthamar, etapa care se desfășoară în colaborare cu echipa partenerului norvegian (UoB), indică de asemenea o prezență a variațiilor la formarea straturilor de gheață care alterează compoziția izotopică a apei într-un regim dinamic.

#### **2.4. Stabilirea vârstei gheții din peșterile Scărișoara și Svarthamar**

Din carota de gheață extrasă din blocul de gheață al peșterii Ghețarul de la Scărișoara în februarie 2017 și al peșterii Svarthamar (Norvegia) în Octombrie 2016 au fost izolate probe de materie organică care au fost expediate la Laboratorul de Radiocarbon al Universității din Gliwice pentru determinarea vârstei absolute a gheții perene.

Datele de  $^{14}\text{C}$  din Scărișoara au fost folosite pentru modelarea vârstei blocului de gheață în funcție de adâncime.

Vârsta carotei de 25,33 m din Scărișoara, adâncimea maximă atinsă la forare în 2017, corespunde vârstei de aproximativ 13 000 ani B.P.

În cazul peșterii Svarthamar, modelarea vârstei gheții efectuată la Universitatea din Bergen, Norvegia, în colaborare cu partenerul UoB indică o dinamică complexă a blocului de gheață din Norvegia alterând structura originală, spre deosebire de peștera ghețarul Scărișoara.

## 2.5. Analiza metatranscriptomica a comunităților microbiene din sedimentele de gheață din peștera Ghețarul Scărișoara

Investigarea diversității comunității microbiene totale și active din blocul de gheață perenă din Peștera Scărișoara s-a efectuat prin secvențializare shotgun și reconstituire metagenomică (7 probe cu vârste cuprinse între 1 și 2000 ani B.P.) și secvențializare 16S rRNA a ADNului și ARNului total (15 probe DNA și 15 cDNA cu vârste cuprinse între 1 și 13,000 ani B.P.), utilizând o platformă Illumina MiSeq/HiSeq.

Probele de gheață utilizate în analiza metagenomică, în triplicat, corespund:

- **1-S, 1-L:** gheață recentă (1 an) colectată din Sala Mare, suprafața ghețarului, din zona expusă luminii solare directe (S) și indirecte (L)
- **400-O:** gheață cu vârstă de 400 de ani colectată din peretele Rezervației Mici
- **900-O, 900-I:** gheață cu vârstă de 900 de ani colectată din peretele Rezervației Mici din strate cu conținut organic ridicat (O) și scăzut (I)
- **1500-I:** gheață cu vârstă de 1500 de ani colectată prin carotare verticală în Sala Mare
- **2000-I:** gheață cu vârstă de 2000 de ani colectată prin carotare verticală în Sala Mare,

Pentru analiza metatranscriptomică au fost analizate 15 probe în triplicat din carota de 25 m, izolate la fiecare metru adâncime, ceea ce corespunde cu o cronosecvență cu distanță de aproximativ 1000 de ani între probe.

Probele de gheață au fost topite la 4°C și filtrate utilizând filtre Millipore de 0.22 mm. **ADN-ul genomic total** a fost extras cu ajutorul kitului Blood and Tissue (Qiagen) utilizând un protocol modificat prin completarea cu o etapă de omogenizare cu bile ceramice și o etapă inițială de liză celulară prin incubare cu mutanolizină (Hillebrand et al, 2013). Extracția ADN a fost efectuată în triplicat în cazul fiecărei probe de gheață iar concentrația și puritatea ADN au fost măsurate cu fluorometrul Qubit. Pentru analiza metatranscriptomică a comunităților microbiene din sedimentele de gheață, **ARNul total** a fost extras cu ajutorul kitului AllPrep DNA/RNA (Qiagen) utilizând o etapă suplimentară de liză prin tratarea cu tampon RLTplus în prezență de β-mercaptoethanol. Sinteza cDNA din ARN s-a efectuat cu ajutorul kitului Tetro cDNA Synthesis, utilizând amorsa universală Random Hexamer.

Secvențializarea librărilor shotgun obținute din cele 7 probe de gheață s-a efectuat utilizând platforma Illumina HiSeq 2500 PE125 de la Universitatea McGill și Centrul de Inovare Génome Québec, Canada, corespund >30M citiri pentru fiecare probă.

Reconstituirea metagenomică a microbiomului din gheața de până la 2000 de ani din peștera Scărișoara indică dominant comunităților bacteriene, cu un conținut relativ ridicat al speciilor aparținând filumului *Proteobacteria*, urmată de *Bacterioidetes* și *Actinobacteria*.

Distribuția relativă a comunităților bacteriene în blocul de gheață variază cu vârsta gheții, observându-se totodată dominanța claselor *Betaproteobacteria* (1-L, 900-I, 2000-I) și *Alphaproteobacteria* (1-L, 900-I, 1500-I) în gheața cu conținut scăzut de material organic, și *Gammaproteobacteria* (1-S, 400-O, 900-O) în probele bogate în sediment organic. La nivel de familie, se observă un conținut relativ ridicat de *Pseudomonaceae* în probele organice, în timp ce probele de gheață sărace în sediment organic sunt dominate de specii din familia *Caulobacteraceae* urmate de cele din familia *Comamonadaceae*.

Distribuția relativă a genurilor în blocul de gheață arată prezența speciilor de *Pseudomonas* în probele bogate în substrat organic, în timp ce în gheața cu conținut organic redus predomină specii de *Caulobacter* și *Polaromonas*. În proba cu vârstă de 1500 de ani se remarcă un conținut important de specii din genurile *Sphingomonas* și *Brevundimonas*, capabile să supraviețuiască în medii sărace în conținut organic.

Reconstituirea genomică din probele de gheață recentă și veche relevă prezența atât a bacteriilor cât și a diversilor reprezentanți ai microorganismelor eucariote, archaeelor și virusurilor, compoziția acestora variind în funcție de vârsta stratului de gheață. Astfel, microorganismele aparținând domeniului archaea sunt cu predominanță întâlnite în probele de gheață recentă. Metazoa sunt cele mai abundente eucariote întâlnite în probele de gheață. Atât în gheața recentă cât și în stratele mai vechi (1500 și 2000 ani) se observă prezența virusurilor cu o predominanță a bacteriofagilor *Caudovirales* pentru probele de suprafață, iar pentru cele de vârste de 2000 ani specii aparținând ordinului *Herpesvirales*.

Analiza diversității grupurilor funcționale ale microbiomului din gheață indică un conținut ridicat al genelor caracteristice metabolismului lipidic, al carbohidraților, aminoacizilor și al transportului de peptide/aminoacizi, fără diferențe majore între stratele de diferite vârste și în funcție de conținutul organic al acestora.

### **Illumina MiSeq PE300 16S rRNA gene – cDNA și gDNA**

16 probe de ADN genomic în triplicat și de cDNA obținute prin reverstranscrierea ARNului total extras din carota de gheață de 13 000 ani au fost utilizate pentru amplificarea genei 16S rRNA în vederea determinării diversității bacteriene și archaeene totale și active din cronosevența blocului de gheață din Scărișoara cu interval de aproximativ 1000 de ani. Probele

izolate în triplicat (total 63 probe) au fost amplificate cu amorsele universale 341F/806R și secvențializate cu ajutorul platformei Illumina MiSeq PE300.

Analiza bioinformatică a secvențelor obținute realizată în colaborare cu Centrul de Inovare Génome Québec, Canada, permite identificarea diversității taxonomice comparative a microorganismelor procariote totale (ADN) și active (ARN/cDNA) din cronosecvența blocului de gheață din Scărișoara.

## **2.6. Izolarea unor tulpini bacteriene adaptate la temperaturi scăzute capabile de sinteza nanoparticulelor de Au/Ag/Fe**

Probele de gheață selectate pentru analiza diversității cronosecvenței de până la 13 000 ani au fost utilizate pentru izolarea de tulpini bacteriene. Pentru fiecare fragment de carota de gheață topit (16 probe) s-au utilizat 2-5 mL gheață topită pentru inocularea mediului R2A și obținerea de culturi microbiene la 15°C și 4°C. Coloniile izolate au fost purificate și identificate prin secvențializare a genei 16S rRNA prin metoda Sanger.

Dintre cele 90 de tulpini izolate la 15°C, 22 tulpini provin din gheață cu vârste cuprinse între 10000 de ani și 13145 de ani. În urma cultivării la 4°C au fost obținute 39 de tulpini dintre care 14 au fost izolate din gheață cu vârste cuprinse între 10000 de ani și 13145 de ani.

Tulpinile obținute au fost conservate la -80°C în glicerol v/v. Culturile bacteriene au fost centrifugate la 7000 rpm, 20 de minute, și păstrate la -20°C în vederea extracției ADN genomic.

### **Extracția ADN și secvențierea genei 16S rRNA**

Totalul de 110 tulpini izolate au fost identificate prin secvențializarea genei 16S rRNA utilizând metoda Sanger (Macrogen). Amplificarea genei 16S rRNA s-a realizat cu amorsele universale 8F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') și 1512R (5'-ACGGCTACCTTGTTACGACTT - 3'). În urma analizei secvențelor obținute, tulpinile bacteriene au fost identificate prin analiza BLAST prin omologie cu ampliconii bacterieni din diferite baze de date.

Investigarea sintezei de nanoparticule de către microorganismele izolate din gheață a fost efectuată atât în cazul tulpinilor bacteriene izolate din Scărișoara (28), cât și a celor (78) izolate din ghețarul Grey (Chile), în colaborare cu partenerul CAVICE de la Universitatea Antofagasta (Dr. Paris Lavin) în cadrul vizitei sale de lucru (iulie-august 2017) în laboratorul IBB.

Tulpinile bacteriene au fost cultivate în mediu 1:2 R2B, în microplacă cu 96 godeuri, la 15°C și 28°C timp de 72 de ore, și incubate în prezența 1 mM AuCl<sub>4</sub>, timp de 24-48 de ore. Formarea nanoparticulelor de Au, monitorizată spectrofotometric și prin microscopie electronică de transmisie (TEM) a fost observată în cazul a 26 de tulpini la 15°C și 71 de tulpini la 28°C.

## CONCLUZII

Obiectivele acestei etape au fost realizate conform planului de lucru prevăzut, cuprinzând:

- Participarea echipei la o deplasare pe teren pentru prelevarea probelor de gheață din peștera Ghețarul Scărișoara
- Organizarea și participarea la reuniunea de lucru CAVICE care a avut loc la Institutul de Biologie, București, 11-13 Octombrie, 2017, workshop-ul întrunind participarea tuturor echipelor consorțiului
- Analiza compoziției izotopice și stabilirea vârstei gheții din peșterile de gheață Scărișoara și Svarthamar indică o cinetică a formării gheții asociată variațiilor climatice și atingerea vârstei de 13000 ani în cazul blocului de gheață perenă din peștera Ghețarul Scărișoara
- Probele de gheață 1-S/L, 400-O, 900-O/I, 1500-I, 2000-I colectate din peștera Ghețarul Scărișoara cu vârste cuprinse între 1 și 2000 de ani au fost utilizate pentru extracția ADNului genomic total, prepararea băncii ADN shotgun și secvențializarea Illumina HiSeq a fragmentelor rezultate. Reconstituirea metagenomică a evidențiat prezența și diversitatea speciilor aparținând domeniilor Archaea, Eukaria și Virusuri și variația taxonomică la nivelul filumurilor, claselor, familiilor și genurilor bacteriene dependent de vârsta și conținutul organic al stratului de gheață
- Analiza diversității totale și a componentei bacteriene active din cronosevența blocului de gheață de până la 13000 ani realizată prin secvențializare 16S rRNA Illumina MiSeq va evidenția reziliența microbiană în acest tip de habitat glaciatic
- 110 tulpini bacteriene au fost izolate din gheața din Scărișoara și identificate prin secvențializare Sanger a genei 16S rRNA
- Activitatea de biosinteză a nanoparticulelor de Au a fost evidențiată în cazul bacteriilor izolate din Scărișoara și din ghețarul Grey (Chile) cultivate la 15°C și 28°C

## Bibliografie

1. Drăgușin, V. et al. Constraining Holocene hydrological changes in the Carpathian-Balkan region using speleothem  $\delta^{18}\text{O}$  and pollen-based temperature reconstructions. *Clim. Past.* 10, 1363–1380, doi:10.5194/cp-10-1363-2014 (2014).
2. Feurdean A, Klotz S, Mosbrugger V et al. (2008) Pollen-based quantitative reconstruction of Holocene climate variability in NW Romania, *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 260: 494–504.
3. Hillebrand-Voiculescu A, Itecu C, Ardelean I, Pascu D, Persoiu A, Rusu A, Brad T, Popa E, Onac BP, **Purcarea C** (2014) Searching for cold-adapted microorganisms in the



underground glacier of Scarisoara Ice Cave, Romania. *Acta Carsologica*, 43/2-3: 319-329  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3986/ac.v43i2-3.604>

4. Iltis C, Pascu M-D, Brad T, Persoiu A, **Purcarea C** (2016) Diversity of cultured bacteria from the perennial ice block of Scarisoara Ice Cave, Romania. *Int J Speleol*, 45 (1), 89-100, <http://dx.doi.org/10.5038/1827-806X.45.1.1948>
5. Perşoiu, A., Onac, B.P., Wynn, J., Bojar, A.-V., Holmgren, K., 2011, Stable isotopes behavior during cave ice formation by water freezing in Scărişoara Ice Cave, *Journal of Geophysical Research - Atmospheres*, 116, D02111.
6. Perşoiu, A., Onac, B.P., Wynn, J.G., Blaauw, M., Ioniţă, M., Hansson, M., 2017, Holocene winter climate variability in Central and Eastern Europe, *Scientific Reports*, 7, 1196, DOI:10.1038/s41598-017-01397-w.
7. Tóth, M., et al., 2015, Chironomid-inferred Holocene temperature changes in the South Carpathians (Romania), *The Holocene* 25 (4): 569-582.

## **PUBLICAȚII**

**CARTE:** Ice caves, 1<sup>st</sup> Edition, 2017. Ed. *Aurel Persoiu, Stein-Erik Lauritzen*, Elsevier, ISBN 9780128117392, 752 p

### **CAPITOLE CARTE:**

1. *Persoiu A.* 2017. Ice caves climate. In *Persoiu, Lauritzen*, (eds) Ice caves. Elsevier
2. *Persoiu A.* 2017 Ice dynamics. In *Persoiu, Lauritzen*, (eds) Ice caves. Elsevier
3. *Persoiu A.* 2017 Paleoclimatic significance of perennial ice accumulations in caves. In *Persoiu, Lauritzen*, (eds) Ice caves. Elsevier
4. *Purcarea C.* 2017 Microbial life in ice caves. In *Persoiu, Lauritzen*, (eds) Ice caves. Elsevier
5. *Brad T, Badaluta, C., Persoiu A.* 2017 Ice Caves in Romania. In *Persoiu, Lauritzen*, (eds) Ice caves. Elsevier
6. *Perşoiu A, Onac BP*, 2018, Ice caves in Romania. In *Ponta, G., Onac, B.P.* (eds.) Caves and karst systems of Romania. Springer.

### **ARTICOLE**

1. *Kern Z, Kele S, Perşoiu A, Fórizs I, Bernasconi S.* Clumped isotope analysis of fine-grained cryogenic cave carbonates (Scarisoara Ice Cave, Romania). *Acta Carsologica*. *in press*.

## **INTALNIRI DE LUCRU / ORGANIZARE WORKSHOP**

- Raportarea europeană a Proiectului EraNet-LAC First Call. Lisabona, Portugalia. 9-10 octombrie 2017 Cave ice microbiom: metabolic diversity and activity in response to climate dynamics and anthropogenic pollution (CAVICE). *C. Purcarea* Presentare plenară.
  
- Workshop “CAVICE - Microbiomes from glacial habitats”, Institutul de Biologie, București, 11-13 Octombrie, 2017
  - (1) Microbiomes from glaciers and ice caves. *Purcarea C.* Presentare orală
  - (2) Scărișoara ice cave microbiome. *Paun V.I.* Presentare orală
  - (3) Bacterial and fungal diversity in Scărișoara ice block. *Itecu C.* Presentare orală
  - (4) Radiocarbon dating and stable isotope analyses of Scărișoara ice core. *Persoiu A.* Presentare orală

## **VIZITE DE LUCRU ÎNTRE PARTENERI CAVICE**

- 15.01.2017 - 4.02.2017 – vizită pe o perioadă de 3 săptămâni a studentei masterand Ioana V. Păun (RO-IBB) la Universitatea din Bergen (NO-UoB) pentru extractia ADN și amplificarea PCR a genei 16S rRNA din probele de gheata extrase din peștera Svarthamar
  
- 20.06.2017 – 23.08.2017 – vizită de lucru a Dr. Paris Lavin (partner – Universitatea din Antofagasta, Chile) la Institutul de Biologie București (RO-IBB) pe o perioadă de 2 luni pentru efectuarea unor studii în colaborare de testare a activității de biosinteză de nanoparticule de Au a tulpinilor izolate din ghetarul Grey (Chile)

## CONFERINTE INTERNATIONALE

### Prezentări orale - 2

- **25<sup>th</sup> International Karstological Conference "Classical Karst"**, Postojna, Slovenia, 19-23 June 2017. Isotopes, pollen and microbes: the environment of the past 10,000 yrs in the Carpathians – a cave ice perspective. *Perşoiu A.*
- **XXII<sup>th</sup> SCAR Biology Symposium**, Leuven, Belgium, July 10-14, 2017. *Environment dependent distribution of glacier and subglacial microbial communities from King George Island (NW Antarctica)*. *Ircus C, Hong, SG, Marin C, Coman C, Tusa I, Sidoroff ME, Purcarea C.*

### Postere – 4

- **European Geosciences Union General Assembly 2017**, Vienna, Austria, 23-28 April 2017. Oxygen and carbon stable isotopes in cryogenic cave calcite (CCC) – possible proxy for past climate changes. *Bădăluță C, Ersek V, Piotrowska N, Perşoiu A.*
- **XIV<sup>th</sup> Workshop of the European Society for Isotope Research**, Băile Govora, Romania, 25-29 June 2017. Climatic signals recorded in Romanian Carpathians ice caves. *Bădăluță A, Perşoiu A, Piotrowska N,*
- **7<sup>th</sup> International Conference on Polar & Alpine Microbiology**, Nuuk, Greenland, 8-12 September 2017.
  - (1) Reconstruction of Scarisoara ice cave microbiome based on 16S rRNA gene sequencing and shotgun metagenomics. *Ircus C, Pascu MD, Paun VI, Lavin P, Perşoiu A, Hillebrand-Voiculescu A, Brad T, Purcarea C.*
  - (2) Microbial diversity of glacier ice and subglacial streams from King George Island. *Ircus C, Marin C, Hong, SG, Lavin P, Coman C, Tusa I, Sidoroff ME, Purcarea C.*

## **INTERVIURI**

Interviu televizat și online PRO-TV (26.02.2017) asupra participării echipelor la proiectul CAVICE.



Dr. Cristina Purcarea  
Coordonator proiect