

Corso di Laurea in Ecologia dei Cambiamenti Globali

Anno accademico 2020/2021

Tolleranza al calore e capacità di acclimatazione negli artropodi sotterranei che vivono in condizioni termiche stabili

**Susana Pallarés | Raquel Colado | Toni Pérez-Fernández | Thomas Wesener | Ignacio
Ribera | David Sánchez-Fernández**

Journal Club 2021
Ecofisiologia Animale

Studente:
Raffaele Bruschi

Introduzione

Global analysis of thermal tolerance and latitude in ectotherms

Jennifer M. Sunday, Amanda E. Bates and
Nicholas K. Dulvy

Published: 24 November 2010

<https://doi.org/10.1098/rspb.2010.1295>

ANIMAL RESILIENCE, ADAPTATION AND PREDICTIONS FOR COPING WITH CHANGE

Variation in the heat shock response and its implication for predicting the effect of global climate change on species' biogeographical distribution ranges and metabolic costs

L. Tomanek

Journal of Experimental Biology 2010 213: 971-979; doi: 10.1242/jeb.038034

Fundamental Evolutionary Limits in Ecological Traits Drive *Drosophila* Species Distributions

Vanessa Kellermann^{1,*}, Belinda van Heerwaarden^{1,2}, Carla M. Sgrò², Ary A. Hoffmann³

* See all authors and affiliations

Science 04 Sep 2009:
Vol. 325, Issue 5945, pp. 1244-1246
DOI: 10.1126/science.1175443

Secondo numerosi studi esiste una chiara correlazione tra il range della tolleranza termica e il livello di variabilità climatica sperimentato dagli organismi nel loro habitat.

Alcune specie stenoterme hanno perso addirittura la capacità di rispondere a shock termici mediante la produzione delle HS proteins, ma ciò rimane ancora poco chiaro soprattutto nel caso si tratti di organismi che vivono in ambienti altamente stabili, come le grotte.

In questi ambienti gli organismi si presume siano stenotermi perché subiscono una pressione selettiva molto alta data appunto dalla costanza della temperatura negli ambienti sotterranei.

Introduzione

Scientists' Warning on the Conservation of Subterranean Ecosystems

Stefano Mammola, Pedro Cardoso, David C Culver, Louis Deharveng, Rodrigo L Ferreira, Cene Fišer, Diana M P Galassi, Christian Griebler, Stuart Halse, William F Humphreys ... [Show more](#)

BioScience, Volume 69, Issue 8, August 2019, Pages 641–650, <https://doi.org/10.1093/biosci/biz064>

Published: 19 June 2019

ANIMAL RESILIENCE, ADAPTATION AND PREDICTIONS FOR COPING WITH CHANGE

Variation in the heat shock response and its implication for predicting the effect of global climate change on species' biogeographical distribution ranges and metabolic costs

L. Tomanek

Journal of Experimental Biology 2010 213: 971–979; doi: 10.1242/jeb.038034

Upper thermal limits in terrestrial ectotherms: how constrained are they?

Ary A. Hoffmann , Steven L. Chown, Susana Clusella-Trullas

Tuttavia, le conclusioni delle pubblicazioni relative a questi studi rimangono scarsi e ancora molto contrastanti, analizzando organismi con le classiche caratteristiche stenoterme ma anche organismi con una plasticità elevata nel sopportare lo stress termico.

C'è un'ipotesi secondo la quale la tolleranza termica viene conservata filogeneticamente, per cui specie adattate alle grotte evolute da specie epigee tolleranti al calore possono avere una maggior tolleranza al calore.

Ma la maggior parte dei dati proviene da specie troppo diverse, geograficamente distanti e non imparentate rendendo difficile capire quanto questa tolleranza sia geneticamente vincolata.

- Per analizzare la tolleranza al calore, la capacità di acclimatazione negli ectotermi sotterranei e per controllare la potenziale influenza di una diversa storia termica evolutiva, lo studio si concentra su diversi taxa non correlati che sono stati esposti alle stesse condizioni ambientali per lungo tempo

Obiettivi principali:

- Studio della tolleranza al calore → ULT (Upper Lethal Temperatures)
- Studio della tolleranza indotta → plasticità e acclimatazione
- Uso di 4 specie di artropodi con differente storia evolutiva ma sotto pressione di selezione simile

Nel complesso, la ricerca tenta di confermare l'ipotesi secondo la quale gli organismi cavernicoli essendosi adattati a condizioni molto stabili siano maggiormente esposti ai cambiamenti climatici o se questo derivi da un fattore filogenetico

La cavità luogo della ricerca si trova in Andalusia in Spagna, nel comune di Jaén.
E' il Sistema de la Murcielaguina de Hormos con 5,135m di estensione e 80m di profondità.



Materiali e Metodi

Organismi e campionamento

Sono state campionate manualmente in cavità 4 specie di artropodi:



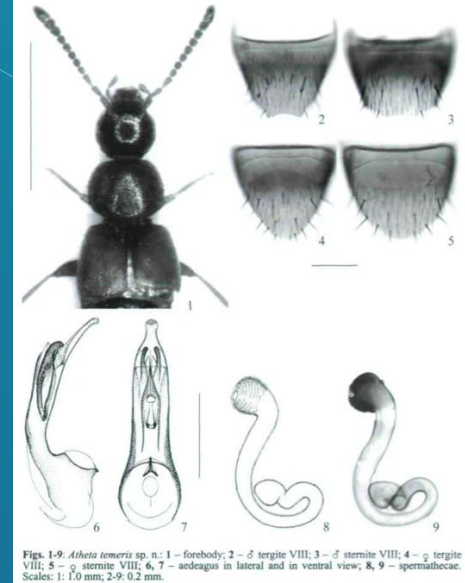
Diplopode:
Glomeris sp.



Collembolo:
Deuteraphorura silvaria



Coleottero:
Speonemadus angusticollis



Coleottero:
Atheta subcavicola

- Trasporto e campionamento:

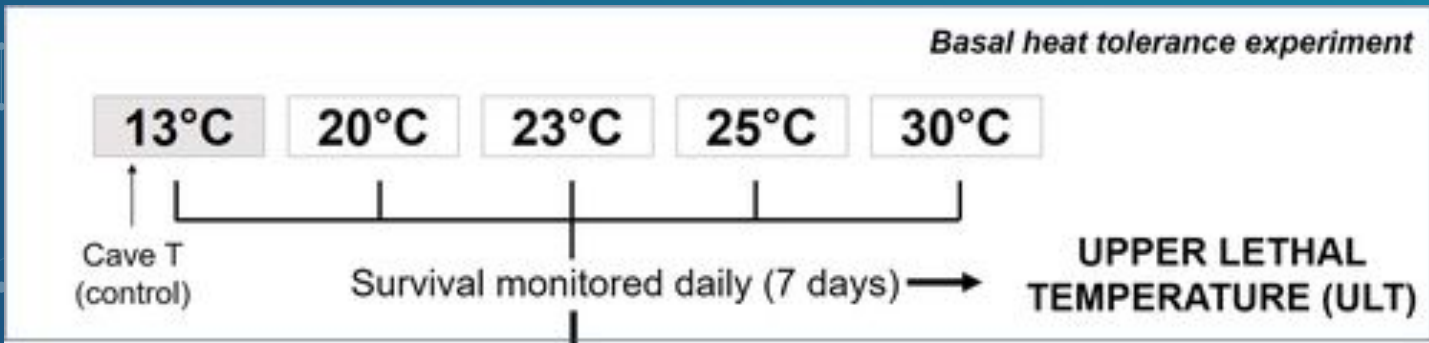
- ◇ Individui adulti raccolti a -50m (Collembolo *Deuteraphorura silvaria*)
- ◇ Individui adulti raccolti a -60m (Tutte le altre specie)
- ◇ Eseguite misurazioni Temperatura (13°) e Umidità (93%RH) con un termoigrometro
- ◇ I campioni, separati per specie sono stati trasportati sotto condizioni controllate in laboratorio
- ◇ Prima delle analisi gli individui sono stati acclimatati per due giorni in contenitori con substrato prelevato dalla cavità e tessuto umido.
- ◇ La temperatura è stata mantenuta stabile con un incubatore (13°C), l'umidità è stata mantenuta a livelli prossimi alla saturazione aggiungendo acqua al substrato. Mantenendole monitorare ogni 5 minuti.
- ◇ Il cibo (*Drosophila melanocaster*) è stato fornito ad libitum durante tutta la durata degli esperimenti



Termoigrometro OM-EL-USB-2-LCD (sinistra), Sensore HOB0 MX2301 Dataloggers (destra)

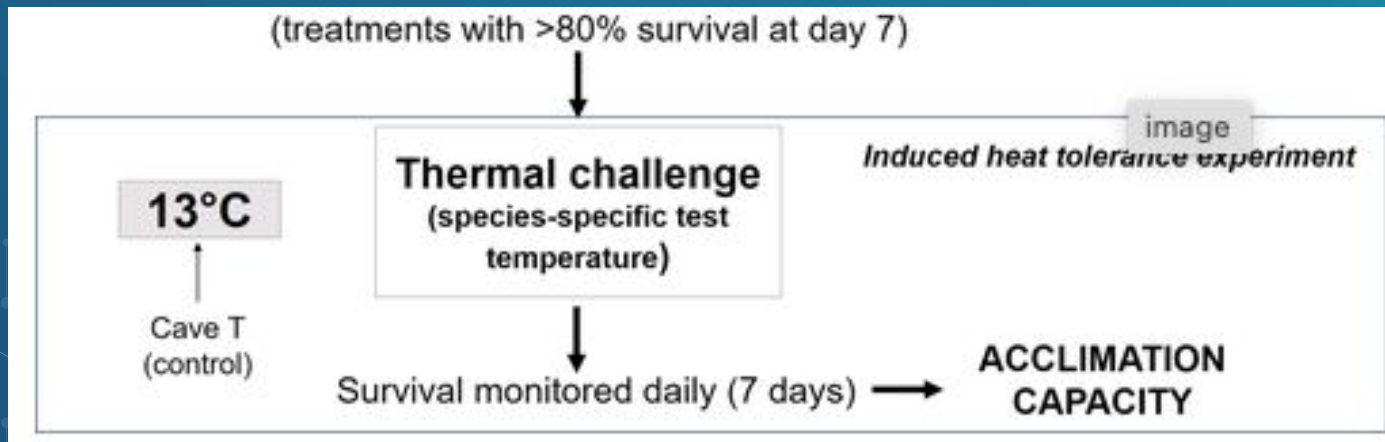
Tolleranza alla temperatura ULT:

- ◇ Valutata la sopravvivenza a diverse temperature durante l'esposizione a lungo termine (7 giorni)
- ◇ Utilizzati da 7 a 16 individui per specie per ogni trattamento
- ◇ Saggi a 20,23,25 e 30°C ponendo i contenitori in incubatrici Rabider (controllo negativo a 13°C e mantenendo l'umidità >90%RH)
- ◇ Tasso di sopravvivenza rilevato ogni 24h utilizzando come endpoint la motilità dopo il tocco



- Capacità di acclimatazione:

- ◇ I campioni che avevano effettuato il test precedentemente con una sopravvivenza >80% sono stati utilizzati per il test di acclimatazione (esposti ad alta temperatura)
- ◇ La temperatura del test è stata impostata considerando la risposta di sopravvivenza specifica nel precedente esperimento di tolleranza al calore basale:
 - s> 50% a 25°C (*Glomeris sp.*, *A. subcavicola* e *S. angusticollis*) poste a 30°C per 7g
 - *D. Silvaria*, avendo avuto tassi di sopravvivenza bassi è stata posta a 23°C per 7g
- ◇ Tasso di sopravvivenza è stato monitorato ogni 24h



- Analisi dati:

- ◇ Le analisi sono state eseguite tutte con Software R v3.3.3
- ◇ Per analizzare la tolleranza al calore e la sopravvivenza alle diverse temperature si sono confrontati i dati utilizzando le curve di sopravvivenza di Kaplan-Meier
- ◇ I dati di sopravvivenza di ciascuna specie al settimo giorno sono stati normalizzati ed è stata stimata la LT50
- ◇ Per analizzare la capacità di acclimatazione si sono analizzati i dati di sopravvivenza adattandoli con un modello lineare generalizzato (GLM) assumendo una distribuzione di Poisson, separatamente per ciascuna specie
- ◇ Utilizzato un test non parametrico (Kruskal – Wallis) per il confronto con l'approccio precedente, più conservativo, e per verificare la veridicità dei risultati.

Risultati

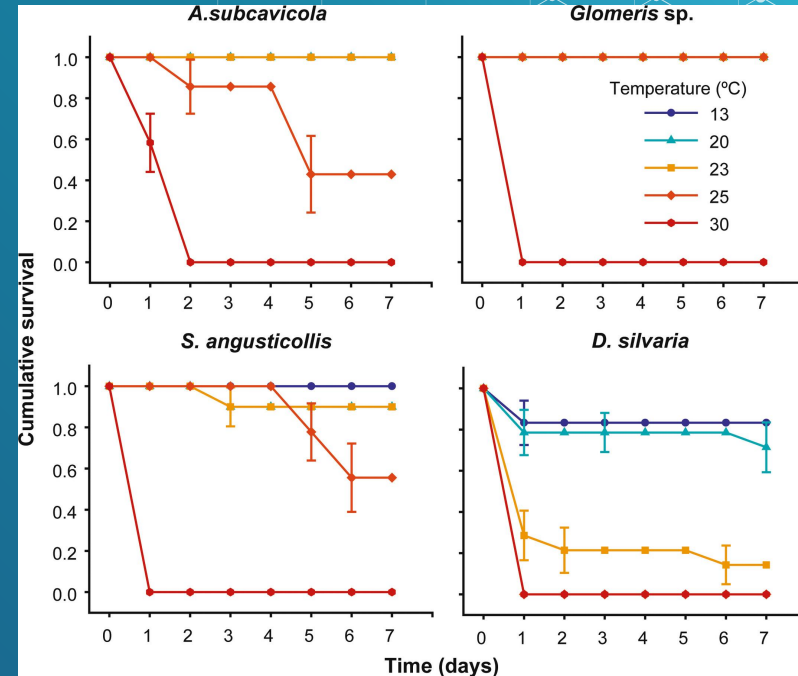
Tolleranza al calore

Tasso di sopravvivenza è stato del 100% nel tal quale (13°) e nel test a 20°C

La mortalità è stata rapida (entro le 48h) nei test a 30°C

I test a 23° e 25°C hanno mostrato una risposta diversa tra specie, *Glomeris sp* aveva la resistenza più alta mentre *D.silvaria* la più bassa.

LT50(7g) → $19,64 \pm 1,03$ (*D. silvaria*), $24,98 \pm 0,52$ (*A. subcavicola*), $25,18 \pm 0,75$ (*S. angusticollis*) a $27,59 \pm 0,76$ °C (*Glomeris sp.*)

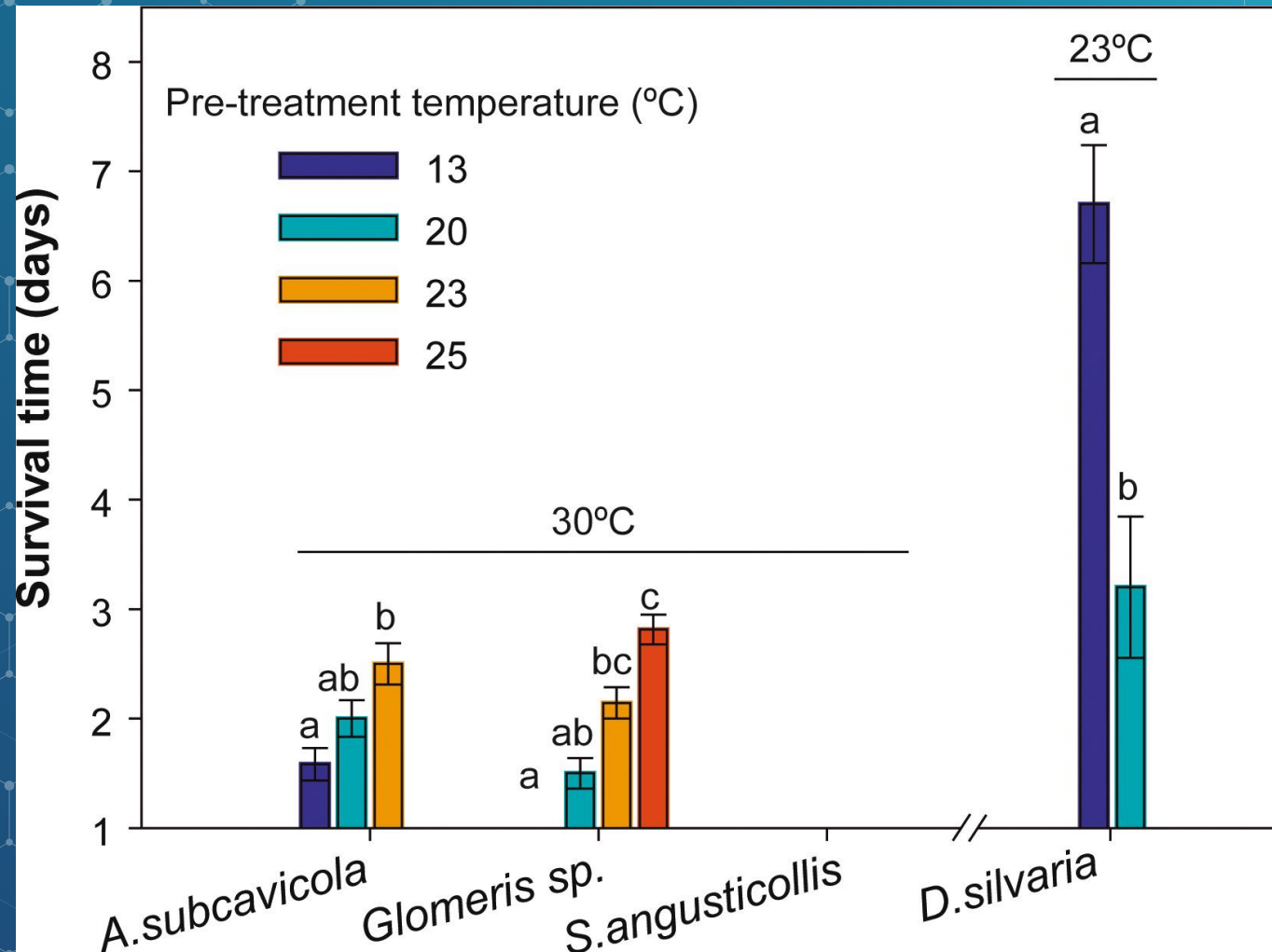


Capacità di acclimatazione

- ◇ *Glomeris* sp. e *A. subcavicola* hanno mostrato una risposta di acclimatazione positiva.
- ◇ *Glomeris* sp. → tempo di sopravvivenza a 30 ° C significativamente più alto negli individui precedentemente acclimatati a 23 e 25 ° C (1.8 giorni di sopravvivenza in più)
- ◇ *A. subcavicola* → solo gli individui acclimatati a 23 ° C hanno mostrato un tempo di sopravvivenza più alto (1 giorno) rispetto a quelli acclimatati alla temperatura di controllo di 13 ° C
- ◇ *Speonemadus angusticollis* → non aveva capacità di acclimatazione: nessun campione di nessuno dei trattamenti di acclimatazione è sopravvissuto a più di 1 giorno
- ◇ *D. silvaria* → l'acclimatazione a 20 ° C ha ridotto significativamente la tolleranza successiva a 23 ° C

Species	GLM (Poisson)			Kruskal-Wallis test		
	χ^2 value	df	p value	χ^2 value	df	p value
<i>Atheta subcavicola</i>	3.798	2	.362	10.279	2	.006
<i>Glomeris</i> sp.	14.496	3	.002	40.137	3	<.001
<i>Speonemadus angusticollis</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Deuteraphorura silvaria</i>	12.645	1	<.001	9.405	1	.002

Risultati dei test GLM e Kruskal – Wallis per determinare l'effetto della temperatura di acclimatazione sulla successiva sopravvivenza a temperatura fissa



Tempo di sopravvivenza a temperatura fissa (indicata sopra ogni specie) dopo acclimatazione a temperature differenti (rappresentate da colori differenti nella legenda).

Le lettere sopra le barre indicano differenze significative tra i trattamenti di acclimatazione all'interno delle specie.

Il tempo di sopravvivenza per *Speonemadus angusticollis* non è stato mostrato perché era inferiore a 1 giorno in tutti i trattamenti.

Discussione

- ◇ I limiti termici superiori ULT delle specie prese in esame sono risultati inferiori rispetto alla media delle specie che vivono in superficie, confermando molte ricerche precedenti.
- ◇ E' confermato che alcune specie prese in esame possono sopravvivere almeno per 1 settimana, a temperature molto più elevate rispetto allo stretto intervallo di temperatura sperimentato nel loro habitat naturale (13/14°C)
- ◇ Sorprendentemente, l'unico troglobionte (*Glomeris sp*) ha mostrato una tolleranza al calore molto alta (LT50: 27,6°C) e una capacità di sopravvivere a 30°C per più di 24h. Nessuna specie troglobionte studiata fino ad ora mostra una tale tolleranza.
- ◇ Tuttavia, il range termico per le funzioni biologiche critiche sono più limitate rispetto agli intervalli di sopravvivenza e le esposizioni a temperature non letali può avere effetti subletali che causerebbero un danno all'organismo a lungo andare.

- Differenze nel grado di plasticità

- ◇ La plasticità termica variava da alta in *Glomeris sp.*, moderata in *A. subcavicola* e pressoché assente in *S. angusticullis* e *D. silvaria*.
- ◇ Questo suggerisce che avere una tolleranza maggiore rispetto alla gamma di T sperimentate nell'Habitat può essere meno costoso di quanto previsto per un ambiente così stabile e con risorse limitate come le grotte
- ◇ Gli organismi cavernicoli risentono una pressione di selezione estrema e gli organismi adattati a questi ambienti presentano caratteristiche simili in tutto il mondo, indipendentemente dall'origine.
- ◇ Nonostante ciò i limiti termici superiori e le capacità di acclimatazione non sono così omogenei, questo suggerisce che le condizioni stabili e le pressioni selettive giocano un ruolo debole sui tratti della tolleranza al calore, a favore invece (probabilmente) della storia evolutiva delle specie
- ◇ In contrasto con ricerche precedenti, i più alti limiti termici superiori e capacità di acclimatazione sono risultati più alti nella specie troglobia che si trova nella parte più interna e stabile della cavità, al contrario delle specie troglofile più sensibili al calore

Conclusioni

- Le differenze nei limiti fisiologici sembrano riflettere la storia evolutiva delle specie, se questi limiti si riducono con l'avanzare del grado di specializzazione si può teorizzare il concetto di riduzione evolutiva del tratto (tolleranza al calore nel nostro caso).
- Previsioni accurate delle risposte di questi organismi ai cambiamenti climatici sono necessarie se vogliamo sviluppare strategie di gestione efficaci ad affrontare il problema, sebbene il riscaldamento nelle grotte sia tamponato e ritardato, questi organismi rimangono estremamente suscettibili al riscaldamento globale.
- Tra le specie studiate *D.silvaria* potrebbe essere particolarmente minacciata vista la sua bassa tolleranza al calore

Prospettive future

Grotte come laboratori naturali per lo studio degli effetti della crisi climatica :

Questo studio evidenzia come gli ecosistemi sotterranei possano essere dei potenziali laboratori naturali per studiare molteplici processi ecoevolutivi.

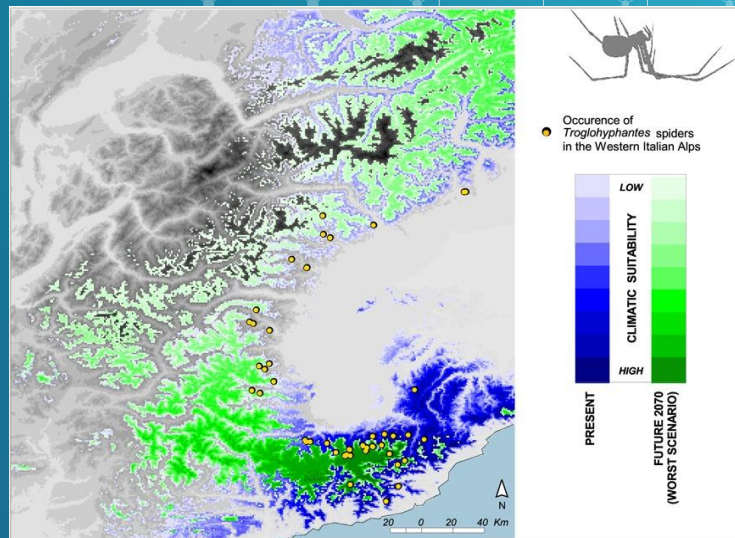
Una ricerca Italiana (Mammola 2018) ha utilizzato circa 30 grotte in Piemonte per studiare come si modifica la distribuzione di alcune specie di ragno utilizzando modelli climatici regionali e concludendo che c'è un alto rischio di estinzione per alcune specie modellando le stime previste dall'ICPP.

Questa ricerca non prevedeva il campionamento diretto, ma l'utilizzo di ricerche fisiologiche precedenti, l'osservazione visiva e la modellizzazione degli aspetti climatici.

Climate change may drive cave spiders to extinction

Stefano Mammola, Sara L. Goodacre and Marco Isaia

S. Mammola (<http://orcid.org/0000-0002-4471-9055>) and M. Isaia (<http://orcid.org/0000-0001-5434-2127>) (marco.isaia@unito.it), Dept. of Life Sciences and Systems Biology, Univ. of Torino, Torino, Italy, and IUCN SSC Spider and Scorpion Specialist Group, Torino, Italy – Sara L. Goodacre, School of Biology, Univ. of Nottingham, Nottingham, UK.





Collegamento al paper

Pallarés S, Colado R, Pérez-Fernández T, Wesener T, Ribera I, Sánchez-Fernández D. Heat tolerance and acclimation capacity in subterranean arthropods living under common and stable thermal conditions. *Ecol Evol.* 2019;9:13731–13739.

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ece3.5782>

