



Agosto 2025

From the laboratory to the field: heat hardening shields and enhances Mediterranean mussels' physiological performance against global warming

Ioannis Georgoulis^{a,*}, Ioannis A. Giantsis^b, Basile Michaelidis^a, Dimitrios K. Papadopoulos^{a,1}, Athanasios Lattos^{a,1}, George Katselis^c, Konstantinos Feidantsis^{c,*}

^a Laboratory of Animal Physiology, Department of Zoology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki, GR-54124 Thessaloniki, Greece

^b Laboratory of Ichthyology & Fisheries, Faculty of Agriculture, Forestry and Natural Environment, Aristotle University of Thessaloniki, GR-54124 Thessaloniki, Greece

^c Department of Fisheries & Aquaculture, School of Agricultural Sciences, University of Patras, GR-26504 Mesolonghi, Greece

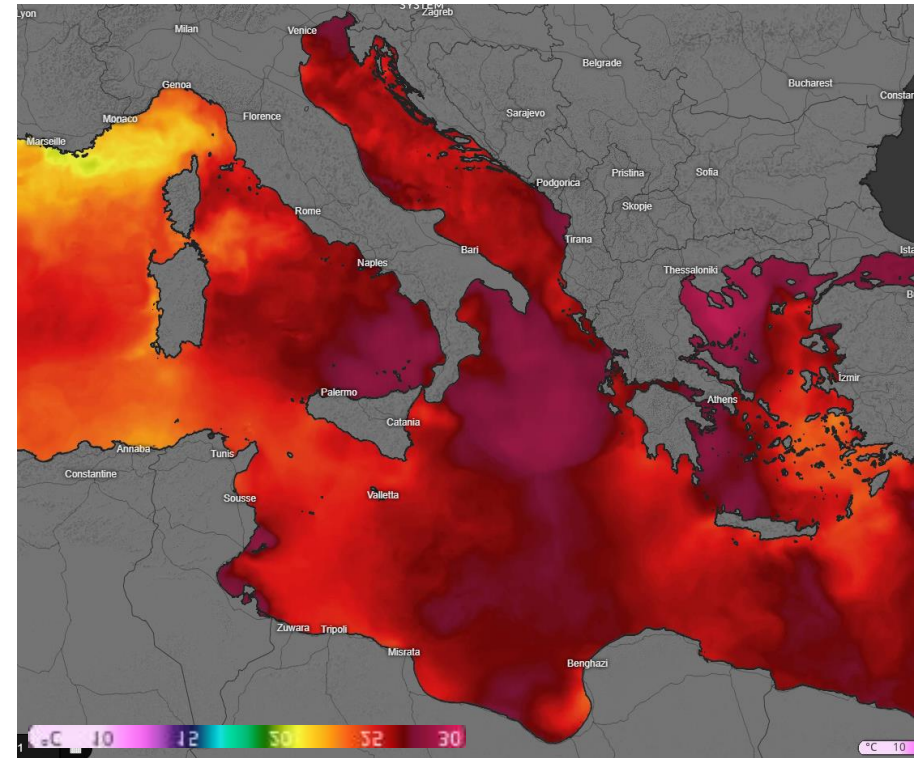
Rebecca Conte
Impatti dei fattori globali sugli animali

INTRODUZIONE TEORICA

- Il Mar Mediterraneo e il Mar Egeo sono "punti critici" per i cambiamenti climatici
- **ondate di calore marine**
- impatti su biodiversità e produttività
- Alti tassi di mortalità dei bivalvi a causa dello stress termico: >50% a 28 °C e **90% a 30 °C**.

Impatti su:

- Trasporto dell'ossigeno
- Metabolismo energetico
- Efficienza mitocondriale
- ROS e denaturazione proteica

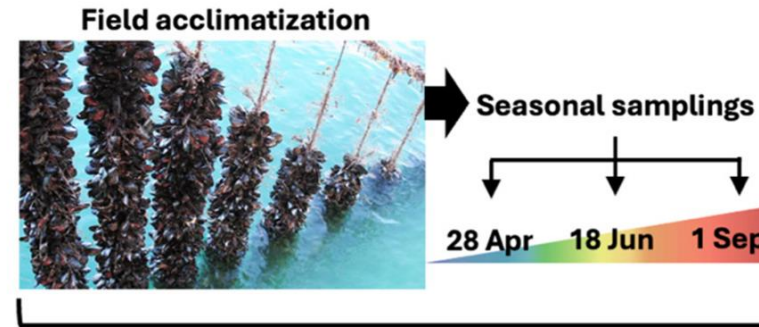
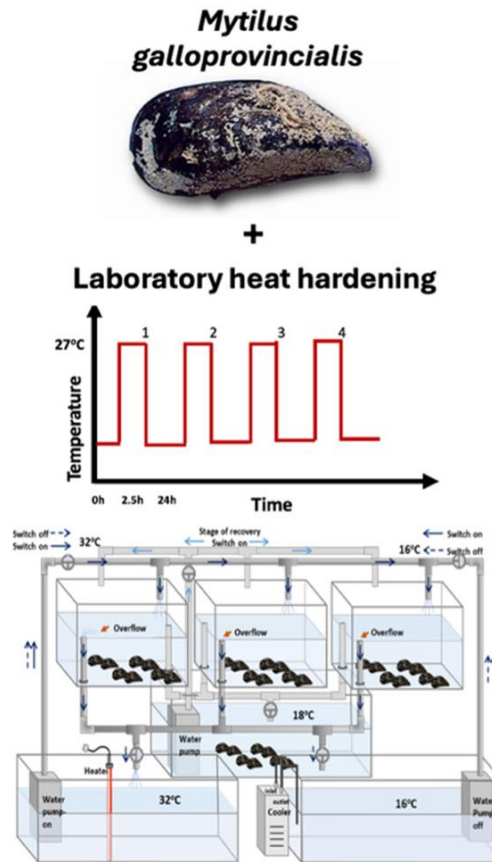


Marine Heat Wave in the Aegean Sea in June 2021

T record nell'estate del 2022!

SCOPO DELLO STUDIO

Valutare la resilienza di mitili *Mytilus galloprovincialis* induriti dal calore alle mutevoli condizioni ambientali.



- Espressione di geni e relative proteine riguardanti la **risposta allo shock termico** (HSR)
- Metabolismo energetico
- Autofagia
- Apoptosi
- Infiammazione

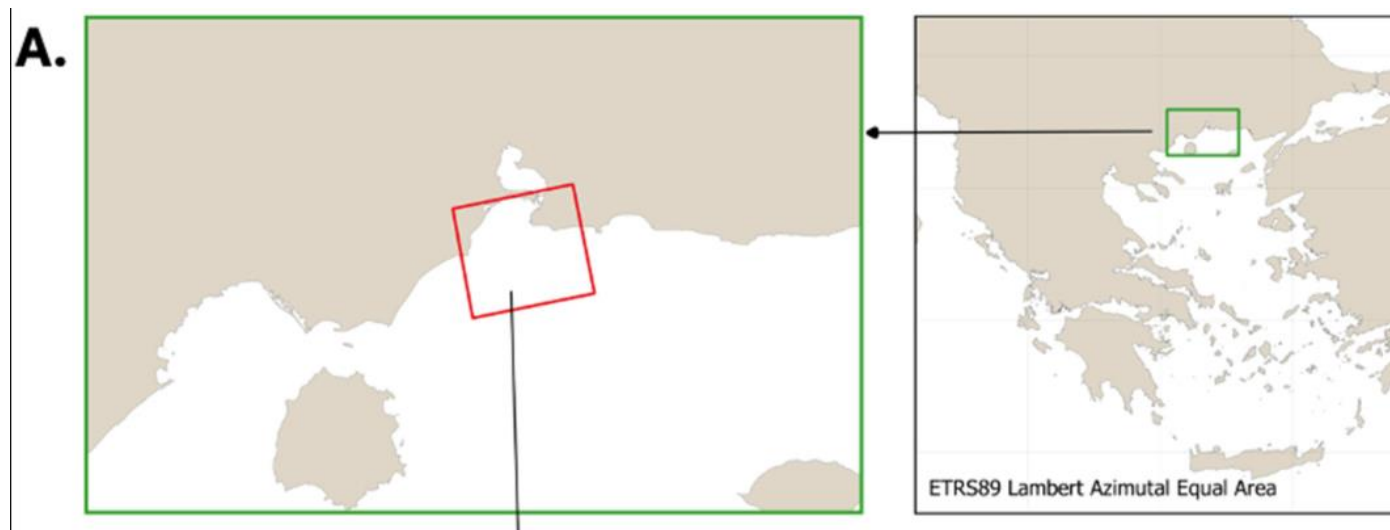
MATERIALI E METODI

CAMPIONAMENTO

Mitili raccolti (**n~30**) da un allevamento locale nel Golfo di Vistonikos (primi giorni di aprile 2022).

→ peso, lunghezza e larghezza specifici

→ T° acqua iniziale = 18°C



MATERIALI E METODI

IN LABORATORIO

- 1 settimana in vasche da 1000 L con acqua di mare naturale aerata e a ricircolo
- alimentate quotidianamente con specifiche microalghe coltivate
- T° acqua ($18\text{ °C} \pm 0,5$), salinità e pH costanti

(fase di non indurimento –NH)

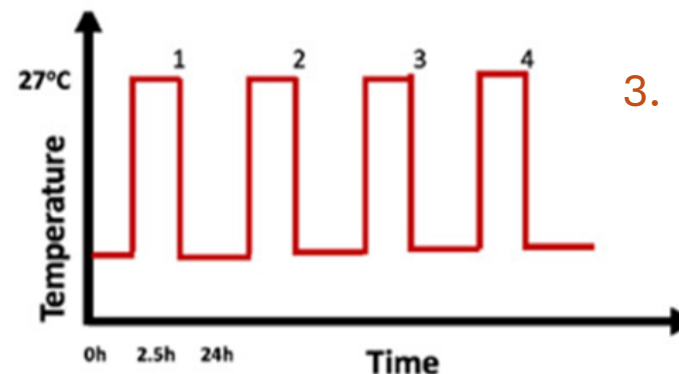


Fase di indurimento (H)

Metodo "Repeated - critical thermal maximum (CTM)" di Hutchison (1961)

4 cicli ripetuti di stress termico:

1. **shock termico** di 2,5 ore con un aumento ($1,5\text{ °C min}^{-1}$) della temperatura **da 18 °C a 27 °C**
2. **fase di recupero** di 24 ore a 18 °C ($1,5\text{ °C min}^{-1}$)
3. **Acclimatazione** a 18 °C per una settimana

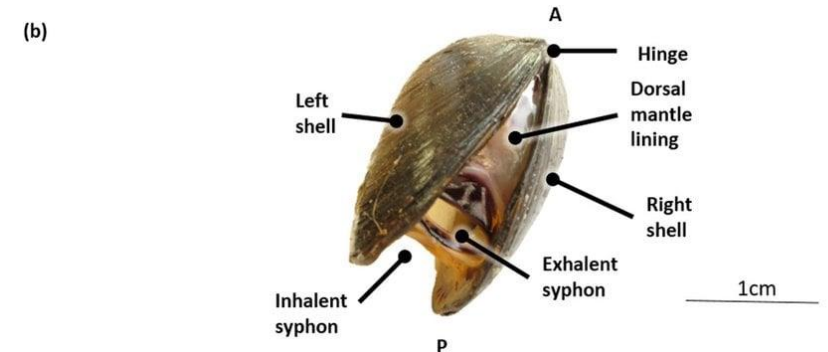
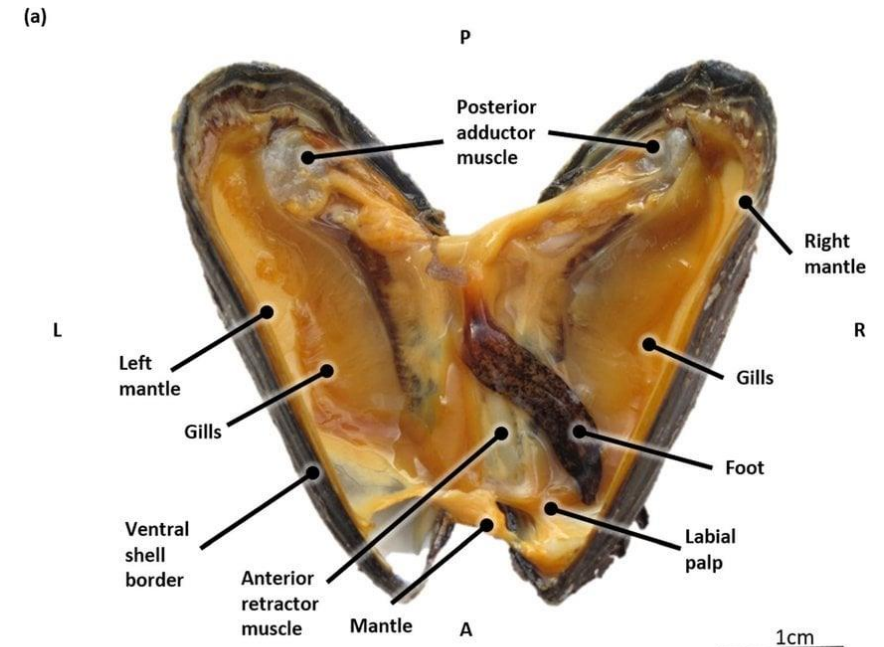


MATERIALI E METODI

ESPOSIZIONE SUL CAMPO e PRELIEVO DI CAMPIONI



- Mitili (H e NH) trasferiti e ricollocati nell'unità di allevamento originale.
- 3 giorni di campionamento (T crescente = 22,1°C > 26,4°C > 28,2°C)
- n=5 per ogni data e gruppo
- Prelievo del mantello

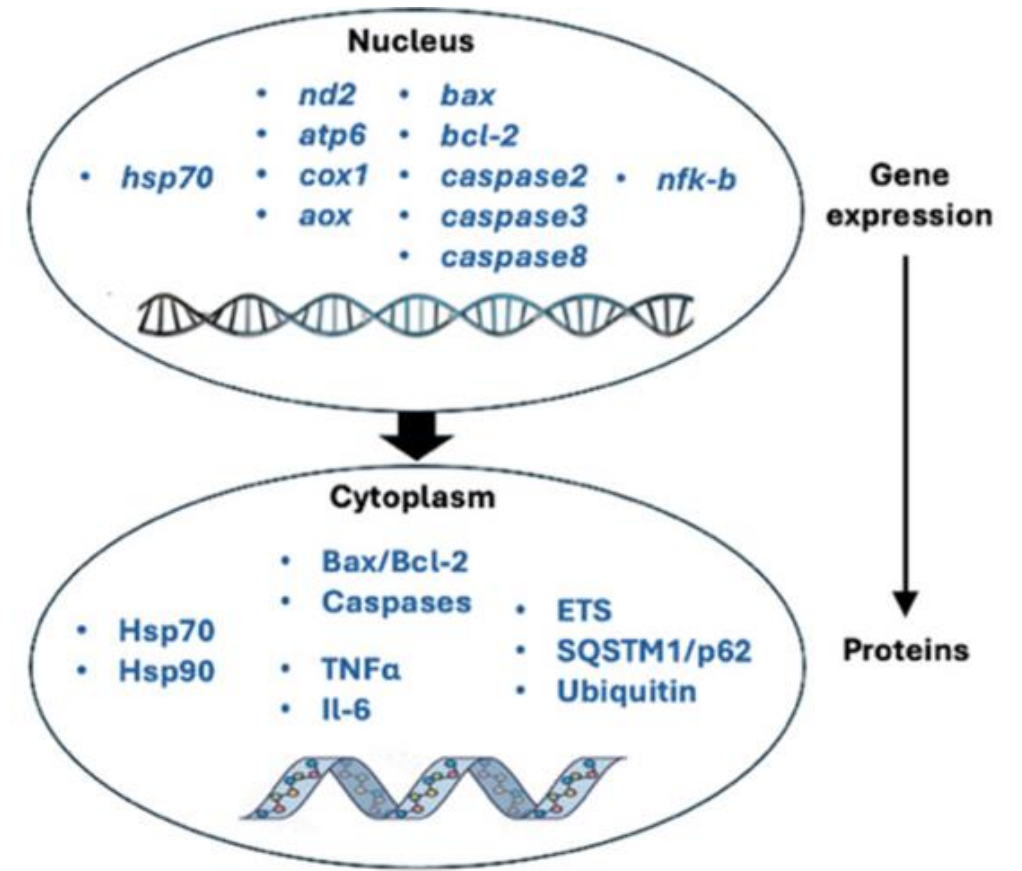


MATERIALI E METODI

PROCEDURE ANALITICHE

Determinazione dell'espressione genica a livello di mRNA

SDS-PAGE/immunoblot e Dotblot



RISULTATI

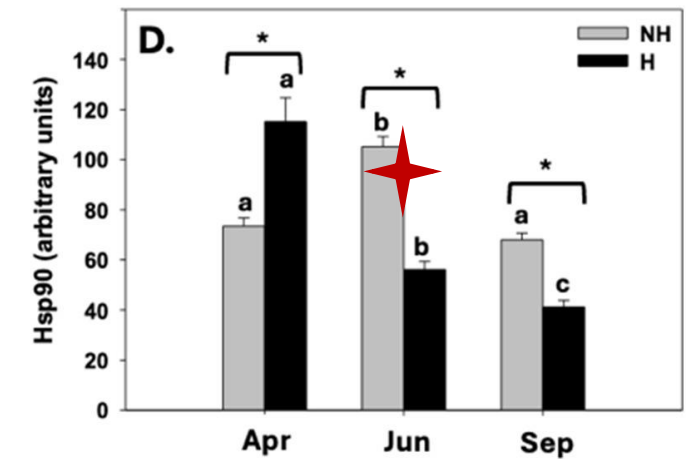
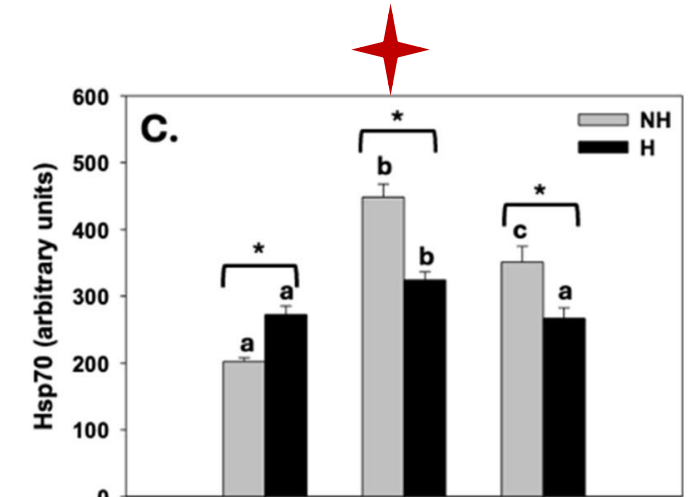
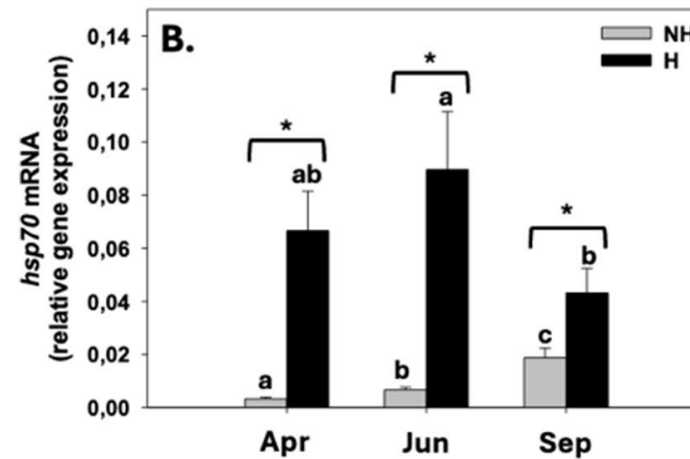
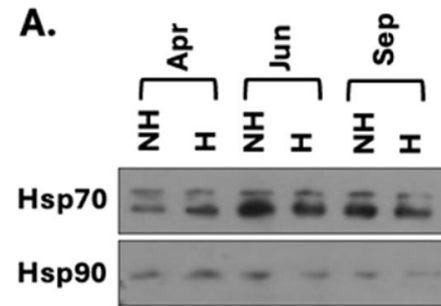
Risposta allo shock termico

→ Hsp70 e Hsp90

le cozze **H** mantengono i geni pronti (alto mRNA),

MA

gestiscono le proteine in modo diverso e potenzialmente più "economico" rispetto alle cozze non abituate (**NH**), che subiscono un forte picco di stress proteico a giugno.

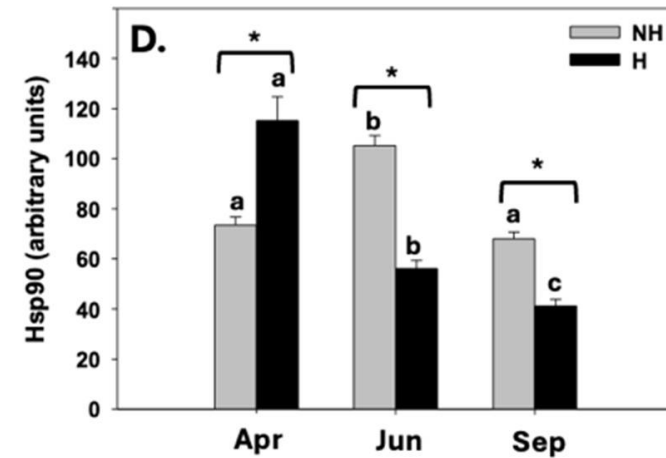
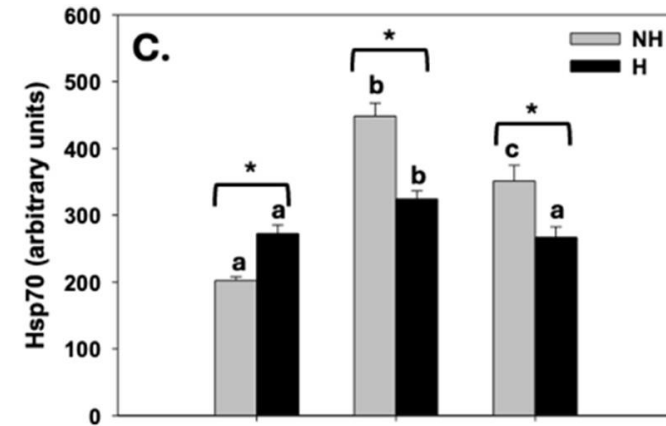


Immunoblot rappresentativi di Hsp70 e Hsp90 (A) e variazioni stagionali dei livelli di mRNA di *hsp70* (B), Hsp70 (C) e Hsp90 (D) nel mantello di mitili *Mytilus galloprovincialis* induriti termicamente (H) e non induriti (NH) in laboratorio, esposti a condizioni di campo.

RISULTATI

Il paradosso delle hsp

- Le cozze H hanno *meno* proteine di NH
- «+ proteine = + protezione»
- In questo caso producono meno proteine perché sono più EFFICIENTI!
- **Livello costante di energia?**



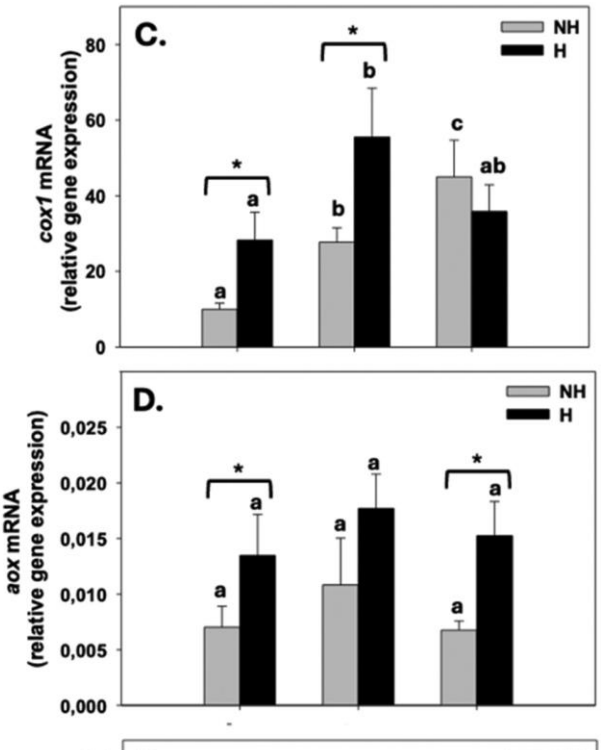
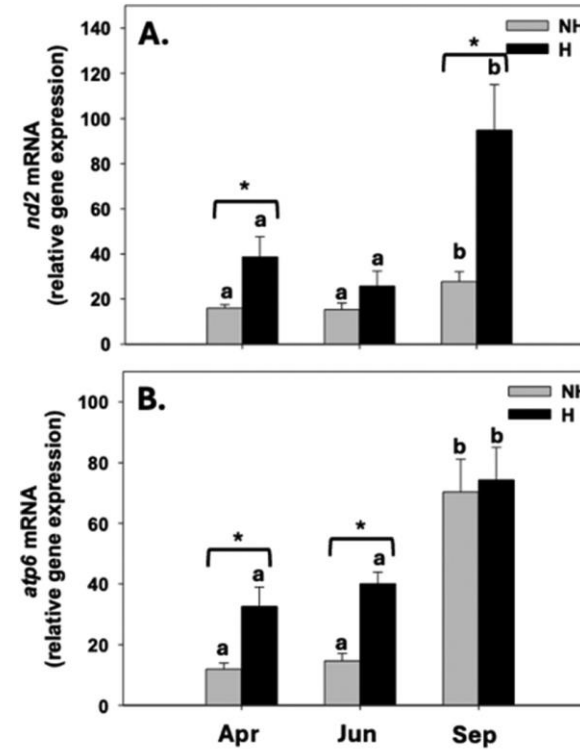
RISULTATI

Metabolismo energetico

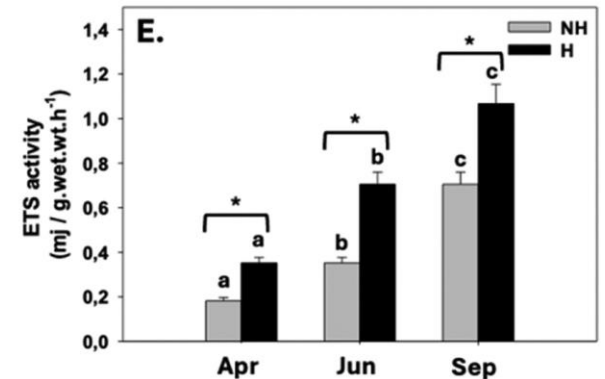
- nd2 (A), atp6 (B), cox1 (C), aox (D)
- ETS (E)

Le cozze H mantengono una maggiore capacità respiratoria (attività ETS) e un livello più alto di trascrizione per i geni chiave dei mitocondri.

Strategia attiva!!!



Variazioni stagionali dei livelli di mRNA di *nd2* (A), *atp6* (B), *cox1* (C), *aox* (D) e dei livelli di attività ETS (E) nel mantello di mitili *Mytilus galloprovincialis* induriti termicamente (H) e non induriti (NH) in laboratorio, esposti a condizioni di campo.



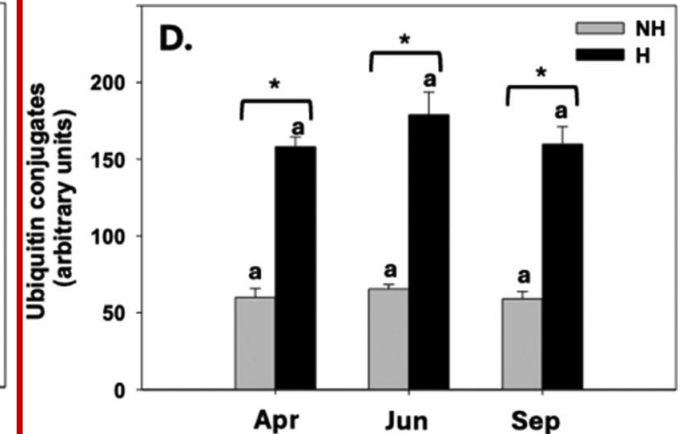
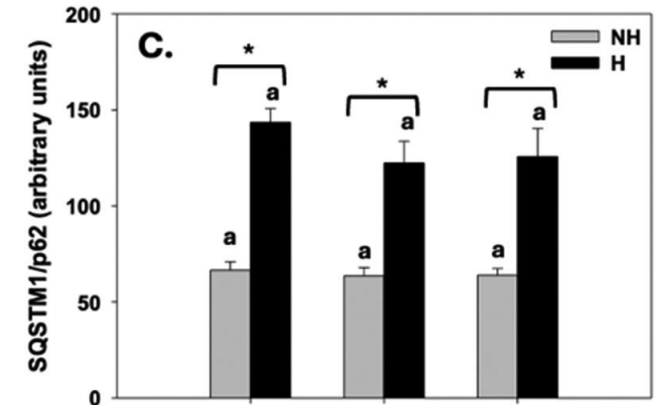
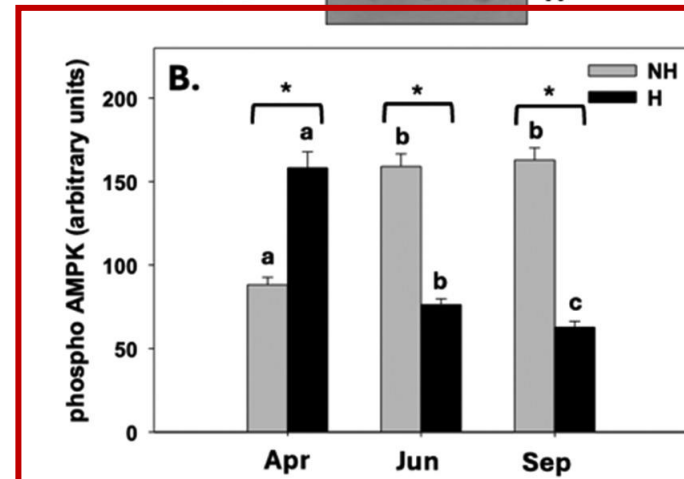
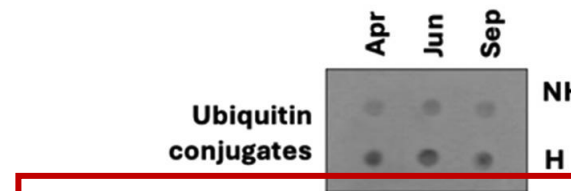
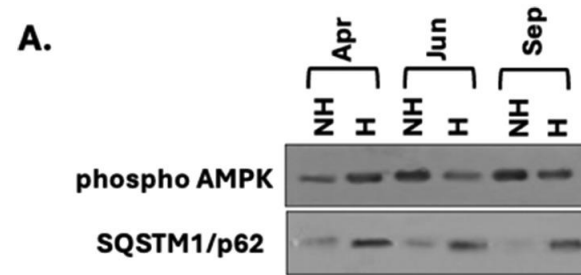
RISULTATI

Metabolismo energetico

➤ fosfo AMPK (B)

Maggiore efficienza cozze H:
risposta rapida ad aprile e
risparmio energetico nei mesi
successivi

➤ ulteriore prova del
mantenimento del potenziale
energetico



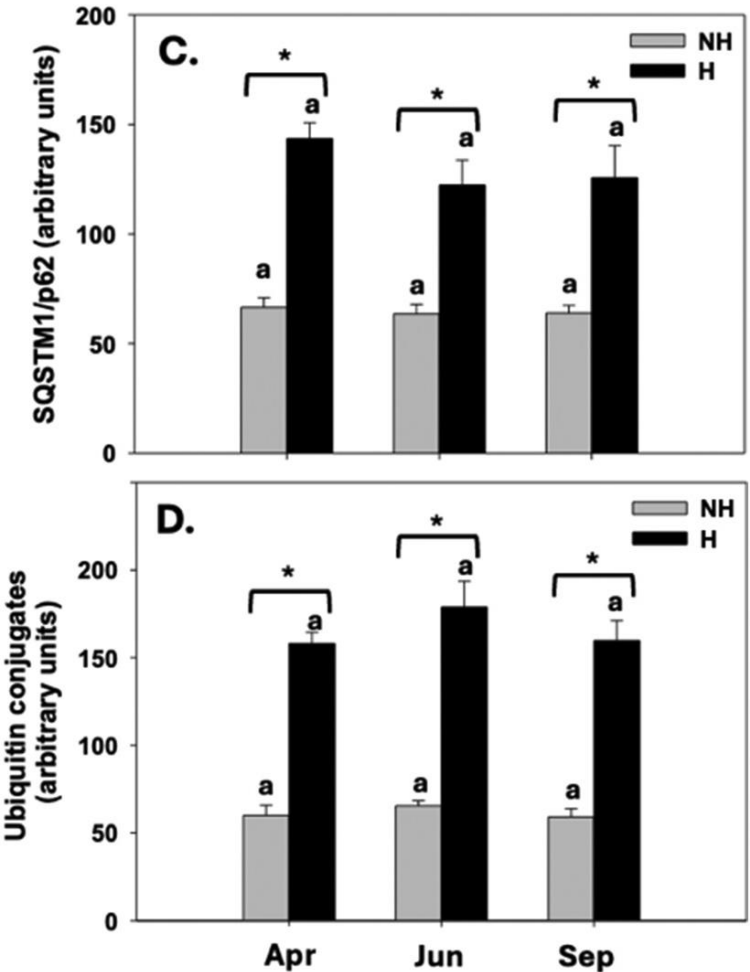
Immunoblot rappresentativi di AMPK fosforilato, SQSTM1/p62 e coniugati di ubiquitina (A), e variazioni stagionali dei livelli di AMPK fosforilato (B), SQSTM1/p62 (C) e coniugati di ubiquitina (D) nel mantello di mitili *Mytilus galloprovincialis* induriti termicamente (H) e non induriti (NH) in laboratorio, esposti a condizioni di campo.

RISULTATI

Autofagia

- SQSTM1/p62
- Ubiquitin conjugates

- Non ci sono differenze statisticamente significative tra i campionamenti
- le cozze H mantengono i sistemi di pulizia cellulare ad **alti livelli ma stabili** per prevenire l'accumulo di danni proteici.

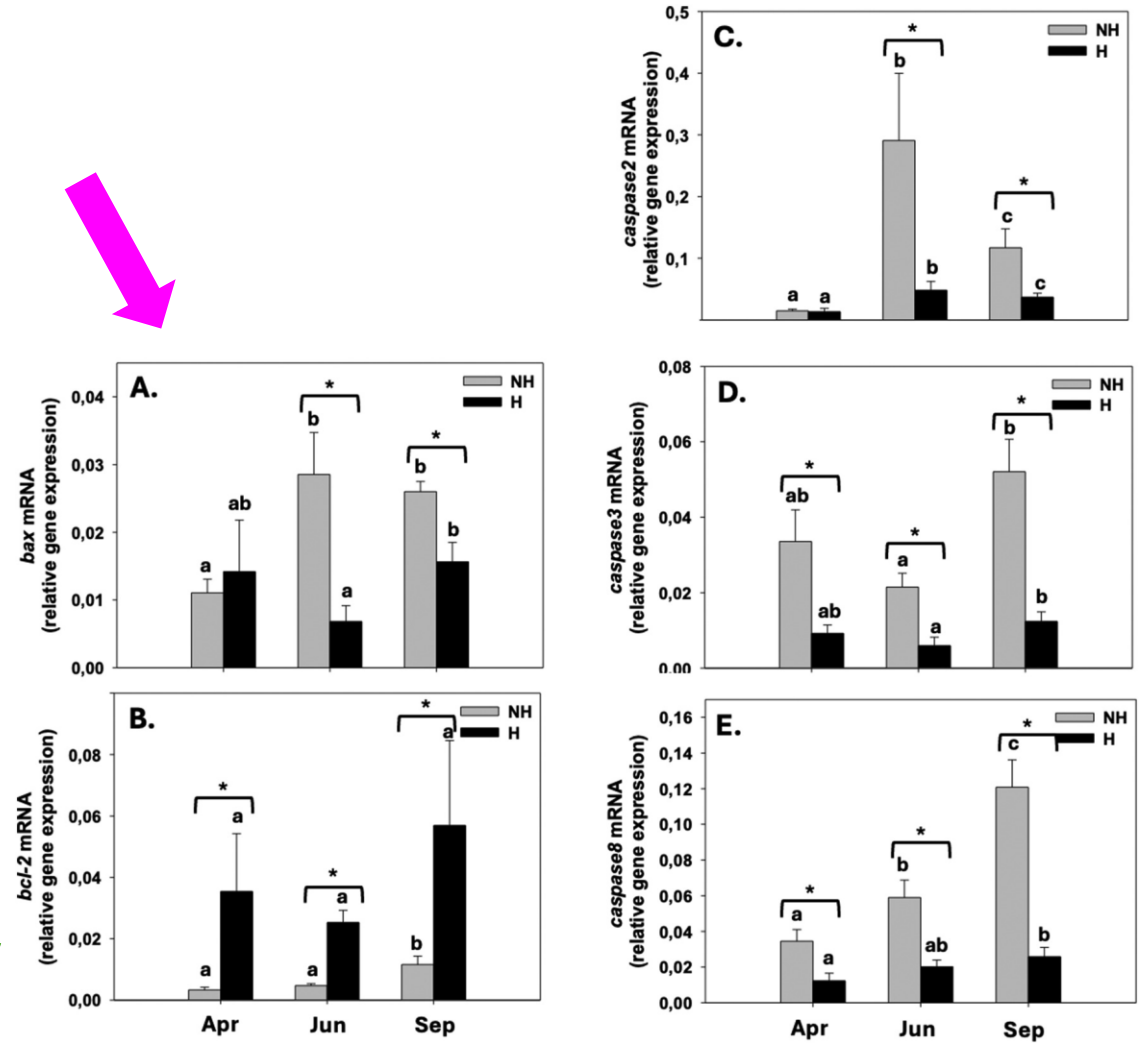


RISULTATI

Apoptosi

- **Bax**: promuove la morte cellulare
- **Bcl-2**: protegge la cellula
- Caspasi: smantellano la cellula

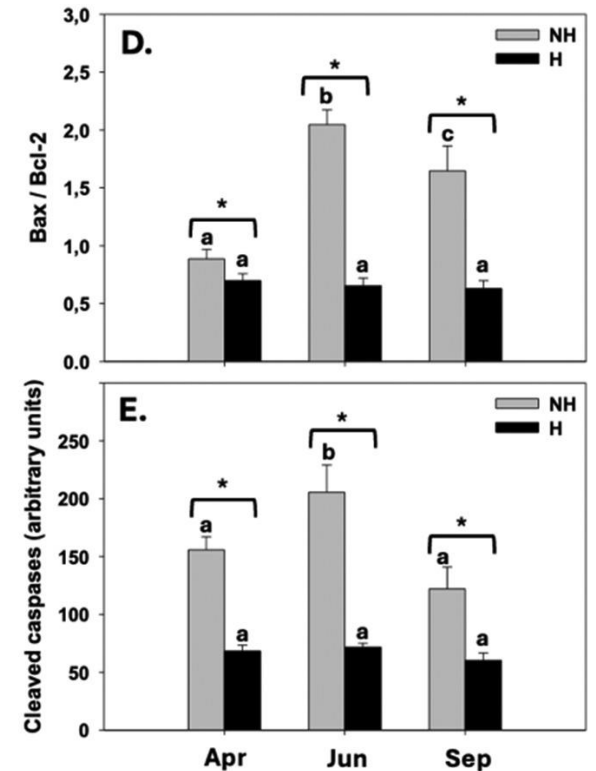
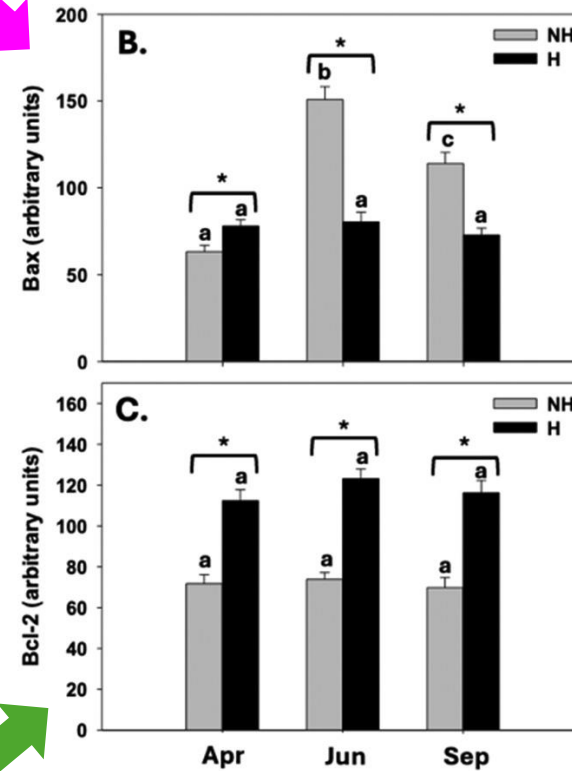
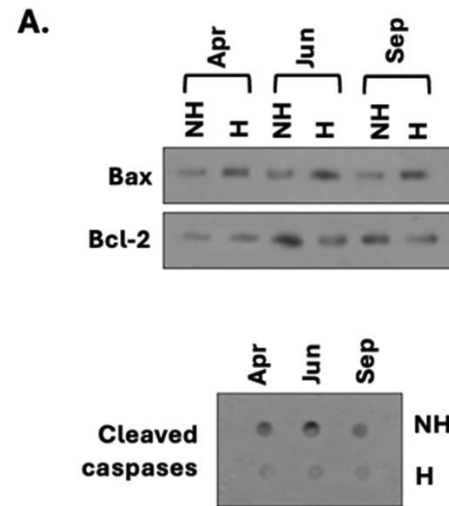
Cozze H: resistenza alla morte e efficienza della protezione



Variazioni stagionali dei livelli di mRNA di *bax* (A), *bcl-2* (B), *caspasi2* (C), *caspasi3* (D) e *caspasi8* (E) nel mantello di mitili *Mytilus galloprovincialis* induriti termicamente (H) e non induriti (NH) in laboratorio, esposti a condizioni di campo.

RISULTATI

Stabilità di H - -> resilienza!



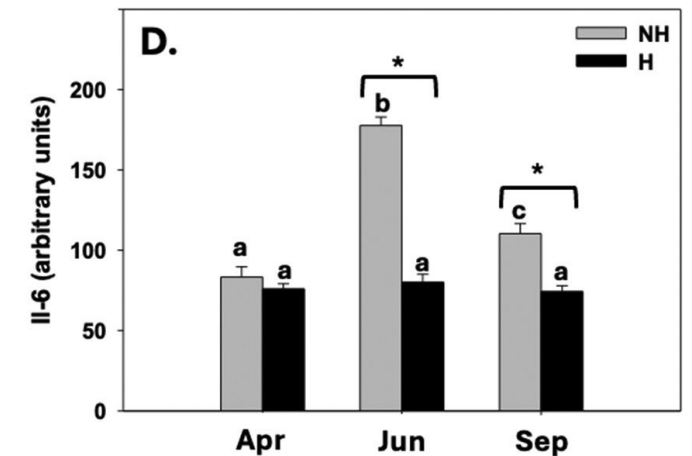
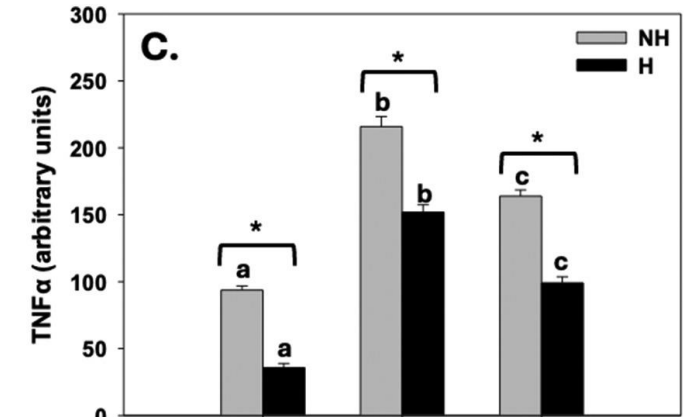
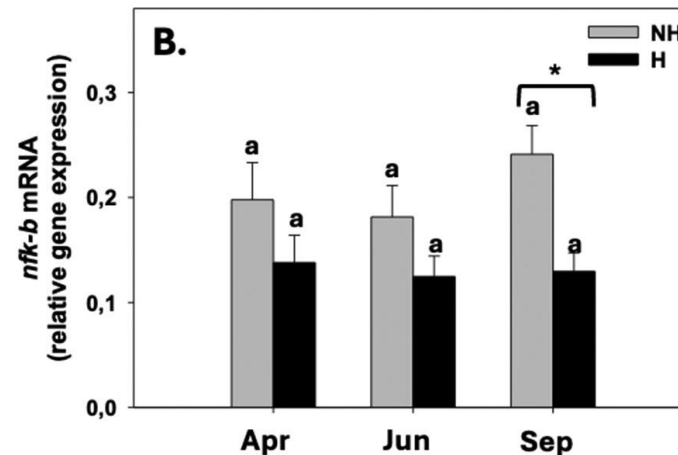
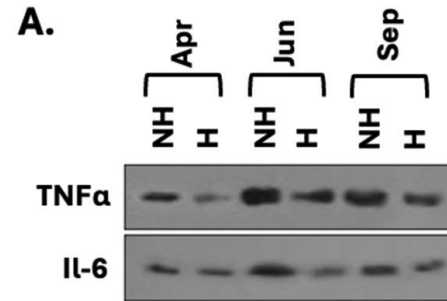
Immunoblot rappresentativi di Bax, Bcl-2 e caspasi clivate (A) e variazioni stagionali dei livelli di Bax (B), Bcl-2 (C), rapporto Bax/Bcl-2 (D) e caspasi clivate (E) nel mantello di mitili *Mytilus galloprovincialis* induriti termicamente (H) e non induriti (NH) in laboratorio, esposti a condizioni di campo.

RISULTATI

Infiammazione

- *nfk-b*: fattore di trascrizione
- TNF α , Il-6: citochine

Le cozze **H** mostrano una risposta molto piú controllata e contenuta



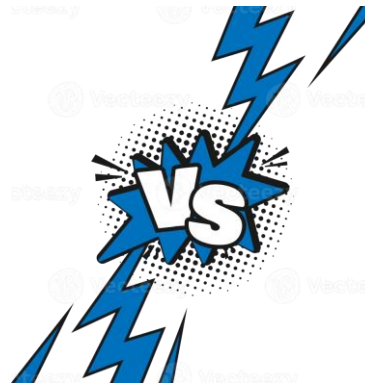
Immunoblot rappresentativi di TNF α e Il-6 (A) e variazioni stagionali dei livelli di mRNA *nfk-b* (B), TNF α (C) e Il-6 (D) nel mantello di mitili *Mytilus galloprovincialis* induriti termicamente (H) e non induriti (NH) in laboratorio, esposti a condizioni di campo.

CONCLUSIONI

L'indurimento termico non è solo una resistenza al picco di calore, ma una **riprogrammazione metabolica** che garantisce stabilità per l'intera stagione estiva.

Cozze NH

- Risposta ritardata
- stress energetico
- morte cellulare



Cozze H

- Allarme precoce
- ATP efficiente
- sopravvivenza



ULTERIORI CONSIDERAZIONI

Limiti del laboratorio vs
realtà ambientale più
complessa

i meccanismi biochimici coinvolti
nella "memoria cellulare dello stress"
acquisita non sono ancora noti.

La robustezza cellulare acquisita rende i mitili
potenzialmente più resistenti anche ad altri
stress ambientali simultanei.

Grazie per l'attenzione!

