

## **Dal microclima ai cambiamenti climatici: le grotte come laboratorio per lo studio degli effetti della temperatura sugli ecosistemi e sulla biodiversità**

**- CAVELAB –  
ORTO11TPXK**

*Principal Investigator: Marco Isaia – Università di Torino*

Le grotte rappresentano un modello ideale per lo studio dell'influenza della temperatura sui processi e le funzioni degli ecosistemi. Si tratta di sistemi semi-chiusi, con parametri ambientali tendenzialmente costanti (come temperatura, assenza di luce, basse densità e diversità di organismi) che li rendono facilmente modellizzabili. Su questa base il tema centrale del progetto, sviluppato da un gruppo di ricerca multidisciplinare, si sviluppa partendo da una precisa caratterizzazione biotica ed abiotica del sistema grotta, avvalendosi del supporto di tecnologia innovativa appositamente sviluppata. Una volta caratterizzato, l'ecosistema di grotta viene inserito in un quadro più ampio, considerando l'influenza diretta ed indiretta di fattori locali e globali, come la disponibilità di risorse trofiche, le perturbazioni antropiche, le strutture delle biocenosi e delle catene trofiche, il clima e le dinamiche glaciali passate. L'influenza della temperatura viene valutata su ogni componente dell'ecosistema, attraverso osservazioni dirette, esperimenti in campo e modelli statistici applicativi. Sulla base dei risultati il progetto auspica di fornire indicazioni sull'impiego di questi ecosistemi per la comprensione degli effetti sulle comunità biologiche ed il monitoraggio del riscaldamento globale. Il progetto si articola in 7 Work Package (WP) fortemente interconnessi tra loro, focalizzati su aspetti diversi aventi come oggetto di studio le grotte dell'arco alpino occidentale, con concrete opportunità di ricerca transdisciplinare.

Avviato nel Febbraio 2012, il progetto si è concluso formalmente nel Luglio 2015. Diverse ricerche sono ancora in corso, e diversi risultati verranno pubblicati in forma definitiva entro la fine del 2015. Il numero delle pubblicazioni scientifiche realizzate nell'ambito del progetto è 49, di cui 16 pubblicazioni scientifiche su riviste internazionali, 9 in corso di pubblicazione e 24 presentazioni a congressi internazionali e nazionali.

Per ogni WP si riportano di seguito i risultati salienti e la lista delle pubblicazioni ad essi inerenti:

### **WP1. Cave microclimate**

In una prima fase, le ricerche hanno affrontato i limiti strumentali e teorici di questo studio. Gli strumenti per gli studi meteorologici sono progettati per gli studi dell'atmosfera esterna, e sono intrinsecamente poco adatti alle misure sotterranee, sia per la loro risoluzione che stenta a rivelare le piccolissime fluttuazioni della micro-meteorologia delle grotte, sia perché l'ambiente di grotta è estremamente ostile per gli strumenti elettronici, soprattutto a causa dell'umidità. Per quanto concerne la temperatura, sono stati effettuati test con sensori di su un'ampia varietà di grotte anche fuori della lista di quelle incluse nel progetto [1, 3], mentre per quanto riguarda l'umidità è in fase di realizzazione un primo prototipo di evaporimetro di precisione in grado di misurare sovra- o sotto-saturazioni dell'aria di entità minime. Lo strumento è stato impostato e sviluppato parzialmente in collaborazione con Allemano Metrology ed è stato sperimentato in una delle grotte incluse nel progetto e presentato sia al Congresso Nazionale di Speleologia [4] che a un congresso internazionale in Turkmenistan [2]. Il problema della misurazione dell'umidità in grotta è di primaria importanza: 1) per la protezione delle grotte ad alta frequentazione turistica, a causa dei processi di condensazione che vengono innescate dalla presenza dei visitatori; 2) per i processi speleogenetici da condensazione in grandi sistemi sotterranei; 3) per la caratterizzazione degli ambienti ipogei dal punto di vista biologico.

In una seconda fase, i risultati sperimentali hanno delineato un quadro inatteso della micro-meteorologia delle cavità selezionate e dell'ambiente interstiziale ad esse associato (MSS), con scostamenti significativi dalle previsioni teoriche, che facevano riferimento alla fisica di grandi ambienti sotterranei. Al contrario, le cavità oggetto di studio nonché l'MSS presentano una variabilità ambientale molto maggiore del previsto, profondamente legata alla morfologia di dettaglio. Si tratta delle porte d'accesso al mondo sotterraneo, con una fisica che risente ancora degli squilibri esterni, che vengono comunque fortemente condizionati dalla forma stessa delle grotte. Per questo motivo si è delineato un modello teorico interpretativo generale dei processi microclimatici che vi avvengono, nel quale collocare i dati sperimentali. Sulla base di questo modello è stata presentata una tesi di laurea in Scienze Naturali inerente l'analisi dei dati sperimentali acquisiti nell'ambito del WP6. Lo studio dei processi generali è ora abbastanza adeguato e ha portato a spiegare diversi processi meteorologici peculiari, quali la formazione di nubi, di isole termiche e di ghiacciai in grotta, ma occorre ancora caratterizzare le situazioni caso per caso. I dati raccolti nell'ambito del progetto concorrono a fornire prove sperimentali dei processi delineati nei modelli teorici, al fine di produrre una pubblicazione completa attualmente in preparazione [5]. E' inoltre in preparazione un lavoro riguardante la modellizzazione fisica dell'ambiente interstiziale associato alle grotte (MSS). Nello stesso linea di ricerca, è stata realizzata una tesi in Fisica nella quale sono stati sviluppati programmi di analisi dati dei flussi d'aria sotterranei al fine di determinare l'origine delle pressioni motrici e degli scambi di energia profondi.

Uno sviluppo inatteso di queste ricerche è stato quello delle miniere dismesse. In diversi casi queste strutture industriali sono oggetto di recupero per una fruizione turistica o di adattamenti per speleo-terapia. Nei paesi dell'Est Europa si tratta di realtà che coinvolgono molti milioni di turisti per anno e aventi interi sanatori in sotterraneo. In Italia ci sono primi segni di interesse in Piemonte, Lombardia e Sicilia, oltre a realtà già in funzione. Questo sta ponendo nuovi problemi di tipo micro-climatico, e assolutamente una nuova attenzione ai flussi d'aria interni che sono essenziali non soltanto per l'ovvia rigenerazione delle atmosfere interne, ma anche per la riduzione dei livelli di radon, che in sotterranei poco ventilati

possono assumere valori al di sopra dei limiti di legge. In quest'ambito, derivato direttamente dal progetto, si sta realizzando una tesi di laurea in Scienze Naturali orientata a realizzare interventi passivi per abbattere i livelli di radon su punti localizzati in un sotterraneo.

1. Badino G., Torelli L., 2014. *The "Progetto Kronio": history and problems of an extreme exploration in an intact archaeological deposit. Primo Convegno di Archeologia di Sciacca. In: Domenica Gullì (eds), From Cave to Dolmen, Sciacca, 18/11/2011. Abstract Book, 31-42. Archaeopress Oxford, UK*
2. Badino G., 2014. *A new approach to measure humidity micro-fluctuations around saturation. In: Science, Technology and Innovative Technologies in the Prosperous Epoch of the Powerful State, Ashgabat, June 2014.*
3. Badino G., 2012. *Cave microclimate in arid environments of Central Asia. Turkmen Nature: Undiscovered Miracles of the Koytendag, Ashgabat, May 2012*
4. Badino G., 2015. *SSE: Un Nuovo Strumento per le Misure di umidità in Grotta. XXII Congresso Nazionale di Speleologia, Pertosa Auletta (Salerno), Giugno 2015*
5. Badino G., in preparation. *Note sulla Fisica delle grotte prossime alla superficie.*
6. Badino G., Chiarle A., Mammola S., Isaia M., 2014. *An outline of subterranean microclimate phenomenology. In: XXVIII European Congress of Arachnology, Torino, 24-29 Settembre 2014. Abstract Book, pp.6-6.*

## **WP2. Degradation of organic matter in cave ecosystems**

L'attività di ricerca svolta all'interno del WP2 ha riguardato la valutazione delle interazioni di tipo trofico (intese come biodisponibilità della materia organica) all'interno dell'ecosistema grotta. L'obiettivo principale era quello di caratterizzare dal punto di vista chimico, spettroscopico e fotochimico campioni di acqua sotterranea, per valutare le possibili conseguenze che la mancanza di esposizione alla radiazione solare può avere sui costituenti dell'acqua. Più nel dettaglio, è stata caratterizzata la materia organica disciolta (DOM) all'interno di acque rappresentative di alcune tipologie di ambienti acquatici sotterranei (pozze e fiumi sotterranei).

La DOM svolge un ruolo chiave nei cicli biogeochimici in relazione alla disponibilità dei nutrienti, all'attività microbica e alla produttività degli ecosistemi. La sua frazione cromofora (CDOM), ampiamente studiata nelle acque superficiali, costituisce inoltre il maggior assorbitore UV nei corpi idrici e la sua fotodegradazione (*photobleaching*) favorisce la penetrazione di raggi UV potenzialmente pericolosi per gli organismi acquatici. La CDOM è, inoltre, la principale responsabile della fototrasformazione di composti organici, naturali e xenobiotici, disciolti nei corpi idrici, contribuendo così alla formazione di materiale biodegradabile e di conseguenza biodisponibile. La CDOM è dunque attore principale nella fotochimica e nella fotobiologia dei sistemi acquatici, con effetti importanti anche per la loro troficità. Tali considerazioni evidenziano l'importanza della caratterizzazione fisico/chimica della CDOM, la quale è però resa molto difficile dalla sua elevata complessità strutturale. Importanti informazioni in merito sono spesso ottenute mediante la valutazione delle proprietà ottiche: dalla registrazione degli spettri di assorbimento e delle matrici di fluorescenza (EEMs) è infatti possibile ottenere importanti informazioni sulle sorgenti della DOM (fondamentali per la sua speciazione in termini di tipologia di composti organici che la compongono), sulla presenza di complessi metallici e sulle sue trasformazioni.

Nella fase di caratterizzazione chimica e spettroscopica delle acque sotterranee, è stata analizzata una serie di campioni di acqua sotterranea provenienti da tre grotte del territorio piemontese (grotte di Bossea, Caudano e Pugnetto, aree di studio già incluse negli altri WP del progetto), da una miniera abbandonata di talco di Prali e da una falda acquifera. Per ciascun sito di campionamento sono stati raccolti più campioni con caratteristiche differenti (presenza/assenza di luce artificiale, acque ferme o in movimento, presenza/assenza di materiale organico macroscopico all'interno delle pozze di prelievo). In alcuni casi il campionamento è stato ripetuto in diversi periodi dell'anno. In primo luogo sono stati valutati i parametri chimici, quali pH, concentrazione di anioni disciolti e contenuto di carbonio organico totale disciolto (DOC). Successivamente si è passati alla caratterizzazione fotochimica e spettroscopica della CDOM presente. Per la caratterizzazione spettroscopica sono stati registrati spettri UV-Vis e spettri di emissione fluorescente (EEMs - *Excitation Emission Matrices*). I parametri fotochimici della CDOM sono stati misurati mediante l'utilizzo di molecole sonda in grado di reagire con le specie reattive transienti fotoprodotte. Le velocità di formazione dei transienti sono state ottenute valutando la velocità iniziale di scomparsa delle molecole sonda (con l'eccezione del benzene, per il quale si è valutata la formazione del fenolo) durante irradiazione di 20 mL di campione di acqua mediante simulatore solare Solabox (sistema d'irradiazione dotato di lampada allo Xenon con spettro simile a quello solare e filtro con cut-off a 320nm). Dal *fit* dell'andamento della concentrazione di molecola sonda nel tempo è possibile ottenere informazioni sulla reattività della materia organica disciolta. È interessante notare che nessuno dei campioni studiati ha mostrato una significativa capacità di produrre  $1O_2$ , suggerendo che la CDOM in stato di tripletto sia scarsamente reattiva nei confronti di  $O_2$  nei campioni studiati. Inoltre, la formazione di  $\bullet OH$  è in gran parte imputabile alla presenza di nitrati. Questo risultato è probabilmente dovuto al livello generalmente basso di carbonio organico presente nei campioni studiati, che limiterebbero il ruolo della CDOM nella generazione di  $\bullet OH$ . Un'ulteriore dato è legato alle differenze, di diversi ordini di grandezza, nei valori delle rese quantiche di formazione di  $3CDOM^*$ ,  $\phi T^*$ . Questo comportamento è abbastanza insolito, considerando che la variabilità corrispondente in acque di superficie è spesso limitata ad un ordine di grandezza. Si può immaginare che la mancanza di irradiazione solare permetta la presenza, nell'acqua di grotta, di composti che non potrebbero sopravvivere a lungo nelle acque di superficie. La natura di tali composti è tuttavia, al momento, del tutto sconosciuta. Passando alla caratterizzazione spettroscopica dei campioni di acqua, per ogni campione è stato registrato lo spettro tra 300 e 500nm e sono stati valutati i parametri di assorbanza specifica, pendenza spettrale  $S$  e i rapporti  $E_2/E_3$  ( $E_2/E_3 = A_{250}/A_{365}$ ). Gli ultimi due parametri sono inversamente proporzionali al grado di aromaticità e/o al peso molecolare della componente organica disciolta. I diversi campioni si differenziano in modo considerevole in base alle caratteristiche chimiche e spettrali e si rileva una certa variabilità nei risultati su campioni prelevati dai medesimi siti in tempi diversi. Dai dati spettrali si evidenzia una notevole variabilità sia nel contenuto, sia nella tipologia di materia organica dei vari campioni. Ad esempio, i dati spettrali relativi alle acque della grotta di Bossea mostrano la presenza di un'elevata frazione di materiale alifatico poco assorbente con peso molecolare basso. Al contrario, nel caso delle acque prelevate dalla grotta di Caudano, si rivela la presenza di composti ad alto peso molecolare e/o di natura aromatica. Il lavoro di ricerca è quindi stato dedicato ad approfondire lo studio relativo

alla generazione di DOM a partire da alcuni di quelli che possono essere considerati composti precursori di tipo autoctono (quali il materiale proteico derivante dall'attività biologica) più probabilmente presenti in ambiente sotterraneo. L'attività di ricerca è stata quindi volta allo studio delle trasformazioni chimiche di soluzioni di L-tirosina e L-triptofano in quanto rappresentativi della materia organica autoctona che si può ritrovare negli ambienti acquatici naturali. Per entrambi gli aminoacidi è stata irradiata una soluzione di concentrazione 1mM con un simulatore solare. Successivamente si è passati alla caratterizzazione spettroscopica (registrazione dello spettro UV-Vis e delle matrici di fluorescenza EEMs) della soluzione ottenuta. La valutazione quantitativa della trasformazione degli aminoacidi in soluzione è stata fatta registrando i profili di scomparsa di questi, utilizzando un cromatografo liquido ad alte prestazioni HPLC.

La spettroscopia di assorbimento UV-vis ha mostrato che, durante l'irradiazione, entrambe le molecole tendono a trasformarsi in composti caratterizzati da un forte assorbimento nella regione del visibile, mentre la registrazione della matrice di eccitazione/emissione ha evidenziato la progressiva formazione di bande di fluorescenza nella regione attribuita al materiale di tipo umico. Si è quindi cercato di valutare la struttura chimica di tale materiale, mediante spettrometria di massa ad infusione diretta e analisi 2H-NMR. Per quanto riguarda la L-tirosina, entrambe le metodologie hanno evidenziato la presenza di derivati idrossilati e di dimeri. Tale risultato suggerisce un processo degradativo che parte dall'ossidazione con formazione di un radicale fenossilico della tirosina che subisce poi oligomerizzazione. Per quanto riguarda il triptofano invece, la sua velocità di trasformazione è tale da produrre intermedi che perdono le funzioni aminoacidiche e tendono ad aggregarsi in soluzione acquosa.

La capacità protogenica e l'interazione coi metalli dei prodotti derivati dalla fotodegradazione degli aminoacidi è stata valutata tramite titolazioni pH-metriche. I dati ottenuti dalla titolazione alcalimetrica di soluzioni di aminoacido irradiato sono stati elaborati per proporre un modello di protonazione (costanti di protonazione e concentrazione dei siti protogenici) dei prodotti di fotodegradazione. Titolazioni alcalimetriche sono poi state eseguite sulle stesse soluzioni aggiungendo cloruro di rame per valutare la capacità del materiale fotodegradato di interagire con questo metallo. È stato possibile proporre un modello di speciazione e calcolare le costanti di formazione dei complessi formati. Questo lavoro ha consentito di stimare la capacità sequestrante del materiale derivato da fotodegradazione verso specifici metalli. Rispetto al rame, i sottoprodotti della L-tirosina mostrano una capacità sequestrante superiore rispetto a quella dell'aminoacido precursore, mentre il risultato opposto è stato osservato nel caso del L-triptofano. Questo potrebbe significare che l'acqua di grotta, non sottoposta ad irradiazione, potrebbe avere una minore capacità di complessare metalli anche tossici rispetto alle acque di superficie. Considerando che la complessazione dei metalli ne provoca il trasporto anche su lunghe distanze, si può immaginare che specie potenzialmente tossiche siano meno mobili (e, quindi, meno pericolose) in acqua di grotta rispetto alle acque superficiali. Ne consegue che un eventuale inquinamento da metalli potrebbe avere conseguenze minori per i sistemi acquatici sotterranei. I dati accumulati nel corso del triennio di ricerca sono state pubblicate o sono in corso di pubblicazioni su riviste internazionali [7, 8, 9, 10] e presentate a congressi nazionali [11, 12, 13].

7. Berto S., Isaia M., Sur B., De Laurentiis E., Barsotti F., Buscaino R., Maurino V., Minero C., Vione D., 2013. UV-VIS spectral modifications of water samples under irradiation: lake vs. subterranean water. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 251 (2013) 85-93
8. De Laurentiis E., Minella M., Berto S., Maurino V., Minero C., Vione D., 2015. The fate of nitrogen upon nitrite irradiation: Formation of dissolved vs. gas-phase species. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2015, 307-308, 30-34
9. Berto S., De Laurentiis E., Tota T., Chiavazza E., Daniele PG., Minella M., Isaia M., Brigante M., Vione D. (submitted). Properties of the humic-like material arising from the photo-transformation of L-tyrosine: functional groups, acid-base properties, and copper complexation capability.
10. Vione D., De Laurentiis E., Berto S., Minero C., Hatipoglu A., Zekiye Ç. (submitted). Modeling the formation of nitrobenzene under conditions relevant to sunlit surface waters: Reaction pathways and formation of intermediates, *Chemosphere*, submitted.
11. Berto S., Isaia M., De Laurentiis E., Vione D., 2012. Spectral modifications of lake and subterranean waters under irradiation, XXIII Congresso Nazionale della Divisione di Chimica Analitica della S.C.I., Isola d'Elba, 16-20 Settembre, 2012, poster: pag. 182.
12. Berto S., Isaia M., De Laurentiis E., Vione D., 2013. Spectral modifications of subterranean waters under irradiation, XXIV Congresso Nazionale della Divisione di Chimica Analitica della S.C.I., Sestri Levante (GE), 15-19 Settembre, 2013, poster: pag. 187.
13. Berto S., De Laurentiis E., Tota T., Chiavazza E., Daniele PG., Minella M., Isaia M., Brigante M., Vione D. 2015. Characterization of phototransformation products of amino-acids, XXIV Congresso Nazionale della Divisione di Chimica Analitica della S.C.I., Trieste, 13-17 Settembre, 2015, orale: pag. 151.

### WP3. Fungal cave communities

Le ricerche sono condotte in collaborazione con il Laboratorio di Micologia dell'Università degli studi di Genova (Dr Mirca Zotti). Il primo intento è stato quello di caratterizzare la flora microfungina in alcune delle grotte incluse nel progetto e di approfondire le conseguenze della frequentazione turistica sulla comunità microfungina. A tale scopo sono state individuate undici stazioni di campionamento caratterizzate da un diverso grado di antropizzazione al fine di comparare la presenza di micromiceti a differenti livelli di pressione antropica. Parallelamente si sono condotte alcune ricerche preliminari presso le Grotte di San Calogero in Sicilia, caratterizzate da condizioni climatiche estremamente diverse e dalla presenza di aree a temperature estreme (37°C, 100% umidità), al fine di indagarne la flora micro fungina, anche in relazione ad eventuali similarità con le grotte alpine. In ogni stazione di prelevamento sono stati inoltre posti dei sensori per il rilevamento della temperatura e dell'umidità. In entrambi i casi campioni sono stati prelevati utilizzando materiale sterile al fine limitare al massimo l'inquinamento da parte di agenti esterni, utilizzando apposite borse termiche per ridurre gli effetti dovuti ad eventuali sbalzi termici. L'isolamento dei microfunghi è stato effettuato in laboratorio mediante l'applicazione del metodo delle diluizioni su piastra di Gams. Le piastre sono state incubate per una settimana in termostato a 16°C (Grotte di Bossea) e a 24°C (Grotte di San Calogero). Dopo sette giorni, è stato possibile procedere alla valutazioni delle CFU (*Colony Forming Units*) e all'isolamento e al trapianto dei ceppi su terreni di coltura idonei per procedere ad una prima identificazione su base morfologica. Per i taxa più problematici si è proceduto ad analisi di tipo molecolare.

Per quanto riguarda le Grotte di Bossea, i risultati ottenuti confermano la presenza di una componente fungina più ricca nelle aree caratterizzate da frequentazione turistica, dimostrata a livello statistico applicando tecniche avanzate di

regressione mista. I trend studiati evidenziano una relazione statisticamente significativa tra l'intensità del disturbo antropico e la ricchezza e abbondanza della flora fungina, con valori decisamente alti in prossimità del percorso turistico. La microflora fungina in prossimità del percorso turistico si presenta ricca, diversificata e caratterizzata principalmente da specie fortemente tolleranti, provenienti dall'esterno presumibilmente veicolate dal flusso turistico. Nonostante i bassi valori, risulta interessante la presenza di microfunghi anche nelle aree più remote della grotta dove la presenza dell'uomo è saltuaria o molto rara. I generi rinvenuti più ricorrenti sono *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor* e *Cladosporium*. I risultati ottenuti dagli studi sulla grotta di Bossea sono stati pubblicati su rivista internazionale e presentati a congressi nazionali e internazionali [14, 16, 18, 19, 20]. Si riscontra inoltre la presenza di taxa di difficile inquadramento sistematico, che hanno comportato ulteriori indagini di tipo molecolare e morfologico tutt'ora in corso [17]. Sulla base di questi risultati sono in corso ulteriori studi mirati all'individuazione di specie rare e probabilmente di alcuni taxa non ancora descritti. Il lavoro condotto presso le Grotte di San Calogero [15] ha portato all'identificazione di ceppi fungini anche nelle zone caratterizzate da condizioni estreme. I ceppi isolati sono riconducibili ai generi *Penicillium*, *Beauveria*, *Cladosporium*. È inoltre da segnalare l'isolamento di alcune colonie di Basidiomycota riconducibili ai generi *Trametes* e *Stereum*.

14. Mammola S., Di Piazza S., Zotti M., Isaia M. (under review) *Human-induced alterations of the cave mycobiota in an Alpine Show Cave (Italy, SW-Alps)*. *Acta Carsologica*
15. Di Piazza S., Isaia M., Vizzini A., Badino G., Voyron S., Zotti M. (under review). *Speleomycology in the Hydrothermal Caves of Monte Kronio (Sicily, Southern Italy)*. *Plant Biosystems*
16. Di Piazza S., Vizzini A., Voyron S., Zotti M., Isaia M., 2014. *Microfunghi in hypogean habitats*. In: XXVIII European Congress of Arachnology, Torino, 24-29 Settembre 2014. Abstract Book, pp. 37.
17. Di Piazza S., Isaia M., Vizzini A., Voyron S., Zotti M. (in preparation). *Cave mycobiota in Alpine caves, with notes on rare and unknown taxa*
18. Di Piazza S., Vizzini A., Isaia M., Voyron S., Zotti M. 2014. *Microfunghi delle grotte turistiche di Bossea*. XX Convegno Nazionale di Micologia (UMI), Bologna 15-16 settembre, 2014.
19. Zotti M., Di Piazza S., Vizzini A., Isaia M., 2012. *Micoflora delle grotte di Bossea (CN)*. XIX Convegno Nazionale di Micologia (UMI), Gubbio 11-12 Ottobre, 2012.
20. Di Piazza S., Isaia M., Vizzini A., Voyron S., Zotti M. 2015. *Mycodiversity of two Italian caves XVII Congress of European Mycologist - 20>25 SEPT'15 Funchal, Madeira, Portugal*.

#### WP4. Cave-dwelling biocoenosis and impact of disturbance

Il WP è suddiviso in due tematiche principali (a, b) strettamente collegate tra loro, la prima più generale, focalizzata sullo studio delle cenosi sotterranee e la seconda più specifica e di carattere applicativo, incentrata sullo studio dell'impatto del disturbo antropico sugli ecosistemi sotterranei tramite bioindicatori.

a) Lo studio sistematico delle cenosi sotterranee si rende indispensabile per studi di ecologia applicata e per approfondimenti rivolti alla conservazione e alla valorizzazione del patrimonio biologico naturale delle grotte. A questo proposito gli studi si sono concentrati in particolare sugli artropodi sotterranei, sia dal punto di vista sistematico-zoologico sia ecologico. Studi di carattere sistematico hanno portato alla descrizione di diverse specie di Aracnidi nuove per la scienza raccolte nell'ambito delle numerose attività di campo effettuate durante il triennio di ricerca [27, 28, 29] e ad approfondimenti sulla filogenesi di gruppi di Aracnidi molto rari, quali i Palpigradi [26]. Dal punto di vista ecologico sono state descritte le preferenze ecologiche, con particolare riferimento alla temperatura, di diverse specie di artropodi sotterranei, evidenziando in diversi casi una notevole sensibilità a questo parametro fisico [21,22,23,24,25], grazie anche al contributo fornito dalle ricerche condotte in sinergia con il WP1 e il WP5. I risultati conseguiti in questo particolare ambito hanno contribuito significativamente a fornire una base teorica e sperimentale per i successivi WP, incentrati sugli effetti del clima sulle cenosi sotterranee.

Una parte delle attività incluse in questo WP si sono focalizzate sulla caratterizzazione biologica e climatica di una delle grotte individuate nell'ambito del WP6, la Borna Maggiore del Puggnetto, un sito di importanza comunitaria noto per le peculiarità biogeografiche e per la ricchezza di elementi faunistici endemici. Al fine di paragonare la fauna e le condizioni climatiche interne a quelle dell'ambiente sotterraneo superficiale (MSS), un'egual numero di trappole e di sonde è stato piazzato all'interno e all'esterno della grotta, nei suoli rocciosi degli ambienti antistanti l'imbocco della cavità, a profondità diverse (40-60-80 cm). I dati climatici, raccolti nel Giugno 2013, sono stati analizzati scindendo le componenti stagionali e giornaliere delle oscillazioni, e analizzando le cause di varianza. In grotta si è evidenziata una notevole differenza delle medie, anche considerando stazioni distanti dall'ingresso (7,4 - 9,4 °C). Gli stessi dati sono stati utilizzati nell'ambito del WP1 per caratterizzare dal punto di vista fisico l'ambiente di MSS in relazione a quello di grotta. Questa tendenza, unita alla scarsa escursione termica annua (nelle stazioni interne < 0,6 °C), determina una buona varietà di ambienti in condizioni termiche differenti e relativamente costanti. Nelle serie delle stazioni interne prossime all'ingresso si sono notate anomalie concordanti fra loro nella fase di raffreddamento autunnale, che sarebbero ipoteticamente dovute a apporti di acqua di stillicidio, che influenzano la temperatura a partire dal momento in cui il suolo giunge a un surplus idrico che attiva la percolazione in profondità. Le condizioni termiche dei suoli rocciosi e pietrosi antistanti (MSS) risultano, almeno nei primi 80 cm, ben diverse da quelle delle grotte, non tanto per i valori medi, quanto per le escursioni termiche, decisamente più elevate rispetto all'interno e comprese fra i 10 e i 15 °C. I dati biologici raccolti con le trappole a caduta all'interno della grotta e in trappole di profondità in MSS sono stati argomento di tesi per una laurea magistrale (Biologia dell'Ambiente) e oggetto di una pubblicazione su rivista internazionale [25].

21. Mammola S., Isaia M., 2014. *Climatic segregation and intra-cave ecology of Meta menardi and M. bourneti (Araneae, Tetragnathidae)*. In: XXVIII European Congress of Arachnology, Torino, 24-29 Settembre 2014. Abstract Book, pp. 95.
22. Mammola S., Paschetta M., Isaia M., 2013. *Ecology and life history of Meta menardi (Latreille, 1804) e M. bourneti Simon, 1922 (Araneae, Tetragnathidae)*. XIX International Congress of Arachnology, Kenting, Taiwan, 23-28 June 2013.
23. Mammola S., Isaia M., 2014. *Niche differentiation in Meta bourneti and M. menardi (Araneae, Tetragnathidae) with notes on the life history*. *International Journal of Speleology* 43 (3): 343-353.

24. Chiavazzo E., Isaia M., Mammola S., Lepore E., Ventola L., Asinari P., Pugno N., 2015. Cave spiders choose optimal environmental factors with respect to the generated entropy when laying their cocoon. *Scientific Reports*: 5 (7611): 1-8
25. Mammola S., Piano E., Giachino P.M., Isaia M., 2015. Seasonal dynamics and micro-climatic preference of two Alpine endemic hypogean beetles. *International Journal of Speleology*: 44 (3): 1-11.
26. Giribet G., McIntyre E., Erhard C., Espinasa L., Rodrigo-Ferreira R.L., Francke O., Harvey M.S., Isaia M.; Kováč L., McCutchen L., Souza M.F.V.R., Zagmajster M., 2014. The first phylogenetic analysis of Palpigradi (Arachnida) - the most enigmatic arthropod order. *Invertebrate Systematics*, 28 (4): 350-360
27. Christian E., Isaia M., Paschetta M., Bruckner A., 2014. Differentiation among cave populations of the *Eukoenia spelaea* species-complex (Arachnida: Palpigradi) in the southwestern Alps. *Zootaxa*, 3794 (1): 52-86
28. Isaia M., Mammola S., Pantini P. (submitted). Further data on Alpine Troglolyphantes, with the description of four new species.
29. Mammola S., Hormiga G., Pantini P., Arnedo MA, Isaia M., (in preparation). Disclosing the diversity of the European Pimoidae spiders (Araneae, Pimoidae). Submitted to *Invertebrate Systematics*
30. Piano E., Mammola S., Pantini P., Isaia M., 2014. Comparison between spider assemblages inhabiting the cave and the associated MSS in the Pugnetto hypogean complex (NW Italy). In: XXVIII European Congress of Arachnology, Torino, 24-29 Settembre 2014. Abstract Book, pp. 122.

b) Lo studio dell'impatto antropico in ambiente sotterraneo ha riguardato principalmente la grotta di Bossea, scelta tra le grotte turistiche più note d'Italia, con un flusso di visitatori stimabile in circa 12-15.000 turisti l'anno. In particolare, gli studi si sono concentrati sullo studio della colonizzazione delle grotte turistiche da parte di organismi autotrofi estranei all'ecosistema sotterraneo ("lampenflora"), ed in particolare diatomee, cianobatteri e cloroficee. Lo studio, condotto in parallelo allo studio dell'impatto turistico sulla micoflora fungina [14], è stato pubblicato su una prestigiosa rivista internazionale [35] e presentato ad un congresso internazionale [37]. Grazie ad un preciso piano di raccolta dati mirato (circa 150 punti di campionamento) si sono allestiti una serie di complessi modelli di regressione che hanno mostrato una forte relazione con l'intensità della luce artificiale, che si dimostra la principale variabile che induce sia la colonizzazione che la proliferazione degli organismi autotrofi (cianobatteri, alghe verdi e diatomee) e quindi la principale causa di degrado dell'ecosistema ipogeo e degli speleotemi. Un ruolo secondario è svolto dall'umidità del substrato e dalla circolazione dell'aria, misurata come velocità del flusso d'aria sulla superficie colonizzata. A supporto dell'indagine ci si è avvalsi di tecniche di interpolazione in ambiente GIS utili per al fine di fornire rappresentazioni grafiche facilmente interpretabili.

Parallelamente, le ricerche condotte presso la grotta di Bossea, presentate a congressi internazionali [34, 35, 36, 37], hanno inoltre fornito un quadro completo della biodiversità diatomica della grotta di Bossea, prelevando campioni in circa 100 punti all'interno della grotta. I campioni, analizzati con tecniche di microfotografia elettronica in collaborazione con il Centro Pubblico di Ricerca "G. Lippmann" del Lussemburgo (Dr. Luc Ector e Lucien Hoffmann), hanno rivelato la presenza di specie inedite per la scienza, descritte e pubblicate su rivista internazionale [32]. La ricerca è stata affiancata da una precisa revisione critica della letteratura sulle specie di diatomee ritrovabili in grotta, pubblicata su rivista internazionale [34].

31. Piano, E., Bona, F., Falasco, E., La Morgia, V., Badino, G., Isaia, M., 2015. Environmental drivers of phototrophic biofilms in an Alpine show cave (SW-Italian Alps). *Science of the Total Environment*, 536: 1007-1018.
32. E. Falasco, F. Bona, M. Isaia, E. Piano; C.E. Wetzel, L. Hoffmann, L. Ector, 2015. *Nuphela trogliphila* sp. nov., an aerophilous diatom (Bacillariophyta) from the Bossea cave (NW Italy), with notes on its ecology. *Fottea*: 15(1): 1-9.
33. E. Falasco, L. Ector, M. Isaia, C.E. Wetzel, L. Hoffmann, F. Bona, 2014. Diatom flora in subterranean ecosystems: a review. DOI:10.5038/1827-806X.43.3.1. pp.231-251. *International Journal of Speleology*, vol. 43 (3)
34. Falasco E., Ector L., Isaia M., Piano E., Wetzel C. E., Hoffmann L., Bona F., 2014. Diatom flora in subterranean habitats: the study case of Bossea show cave (NWItaly). In: XXVIII European Congress of Arachnology, Torino, 24-29 Settembre 2014. Abstract Book, pp. pp.43
35. Piano E., Badino G., Bona F., Falasco E., La Morgia V., Isaia M., 2014. Environmental drivers of lampenflora growth in the Bossea showcave (NW-Italy). In: XXVIII European Congress of Arachnology, Torino, 24-29 Settembre 2014. Abstract Book, pp. 12136. Falasco E., Ector L., Isaia M., Piano E., Wetzel C.E., Hoffmann L., Bona F. (2014). Diatom flora of the Bossea show cave (NW Italy). 8th Central European Diatom Meeting, University of Zagreb, Croatia 10-13 Aprile 2014. Abstract book Pag. 25
37. Falasco E., Ector L., Isaia M., Piano E., Wetzel C. E., Hoffmann L., Bona F., 2014. Environmental drivers of lampenflora growth in the Bossea showcave (NW-Italy). In: XXVIII European Congress of Arachnology, Torino, 24-29 Settembre 2014. Abstract Book, pp. 121

#### WP5. Effects of past glaciations on species distribution

Le ricerche hanno riguardato in modo particolare le grotte individuate nell'ambito del WP6 e le dinamiche glaciali ad esse associate nonché particolari approfondimenti sul complesso ipogeo del Pugnetto, su cui si sono focalizzate ricerche di carattere ecologico svolte nell'ambito dello stesso WP.

Le ricerche inerenti il coinvolgimento delle grotte nelle dinamiche glaciali pleistoceniche hanno comportato l'esame dei dati bibliografici disponibili (materia di una tesi di laurea in Scienze Naturali) e numerose uscite in campo, che hanno fornito la verifica dei risultati tramite l'esame della posizione degli imbocchi delle grotte rispetto ai limiti glaciali noti, il rilevamento di presenza o di assenza tracce glaciali (strie, till, tor, coltri di alterazione) nelle vicinanze degli imbocchi o nei depositi di riempimento delle grotte. Questi dati, uniti all'esame dei dati bibliografici hanno contribuito in modo significativo alla ricostruzione di dettaglio dell'estensione dei ghiacciai sui versanti interni delle valli alpine e non solo, come si usa comunemente allo sbocco dei ghiacciai in pianura. In particolare, si è sviluppato un metodo di analisi basato sul confronto delle posizioni degli indizi di passaggio glaciale rispetto agli indizi di assenza di passaggio glaciale. Ciò è stato oggetto di un lavoro presentato a un congresso [36] e recentemente pubblicato [37].

Alcuni dati forniti da WP6 sono stati utilizzati per chiarire l'effetto delle glaciazioni sulle dinamiche di speciazione della fauna sotterranea. Le analisi sono confluite in un lavoro pubblicato su rivista internazionale e uno presentato ad un congresso internazionale, incentrati sulla relazione tra alcune specie di artropodi e la distribuzione pregressa dei ghiacciai. Sulla base dei risultati molecolari è emerso chiaramente l'effetto delle dinamiche glaciali sulla struttura genetica attuale delle popolazioni di alcune specie di artropodi. Si sono messo in evidenza, nel caso di popolazioni poco adattate

all'ambiente ipogeo, effetti demografici definibili a "collo di bottiglia", con bassi tassi di sopravvivenza nel periodo glaciale e perdita di diversità genetica seguita dall'espansione post glaciale delle popolazioni sopravvissute all'evento glaciale con conseguente diversificazione genetica recente [41]. Contrariamente all'effetto del collo di bottiglia, le popolazioni più adattate all'ambiente ipogeo presentano una diversità genetica più strutturata, a testimonianza del ruolo di rifugio avuto dall'ambiente ipogeo durante le glaciazioni.

Parallelamente, si sono condotte ricerche presso il complesso ipogeo del Pugnetto, al fine delineare un quadro della meteorologia della grotta che facesse da corredo alle ricerche biologiche condotte nel corso di questo stesso WP. I dati raccolti, mostrano una relativa costanza delle temperature del suolo, unita a una più ampia variabilità delle temperature dell'aria. Questo comporta differenze termiche in una stessa sezione della grotta, che possono giungere a superare i 2 °C anche all'interno della grotta e non solo nelle sezioni prossime al suo ingresso. Il rilevamento spaziale ha condotto alla deduzione che solo una parte della grotta è satura d'umidità: questo, unito al fatto che alcuni ambienti profondi interni presentano temperature influenzate dall'acqua di scorrimento interna, mentre altri sembrano piuttosto influenzati dalla scarsa soggiacenza, determina una forte differenziazione degli spazi interni della grotta dal punto di vista bioclimatico. Ciò spiega l'abbondanza di alcune specie in particolari ambienti. Data l'importanza degli apporti idrici esterni, si è eseguito un rilevamento geologico e un rilevamento strutturale delle famiglie di giunti interni alla grotta, per correggere i valori di soggiacenza tenendo conto dell'effettiva lunghezza del percorso nelle fratture dell'acqua di stillicidio, e per stabilire la provenienza dell'acqua che influenza la temperatura del "Ramo della Fontana". Dal punto di vista idrogeologico la grotta costituisce quindi una piccola parte di un sistema di fessure ben più vasto, permeabile per fratturazione, creato dalle perdite del rio Cenere. Il ruolo di rifugio svolto durante le glaciazioni dalla Grotta del Pugnetto e dagli ambienti circostanti è probabilmente da relazionare strettamente a questa peculiarità strutturale, che assicurerebbe la presenza di una vasta rete di ambienti sotterranei intercomunicanti, a modesta distanza dalla superficie esterna e con condizioni di temperatura ed umidità compatibili con la sopravvivenza di numerosi elementi faunistici durante le glaciazioni [25, 30, 38, 39,40].

In parallelo si è esaminata nel dettaglio la fauna artropodica delle grotte esaminate, effettuando in occasione delle visite per il posizionamento delle sonde, opportuni campionamenti. I campionamenti hanno fornito il materiale per indagini avviate precedentemente inerenti alcune peculiarità faunistiche della Alpi Occidentali. Il materiale così raccolto ha portato a compimento diversi lavori e alla loro pubblicazione su riviste internazionali (Bolzern et al., 2013; Isaia & Chiarle, 2015; Meregalli et al., 2013).

36. Motta M., 2014. *The Definition of the Extension of Quaternary Glaciers within Alpine Valleys, and his Application to Study of Subterranean Fauna*, QUAESTI 2014, EDIS, Zilina, Slovak Republic, 439-444.
37. Motta M., 2014 *The analysis of geomorphic indicators for the definition of the extension of Pleistocenic glaciers within alpine valleys: method and applications*. Acta Naturalis Scientia Volume: 2, Issue: 1, 2015 Publishing Society Ltd, Slovakia
38. Motta L., Motta M., 2014. *Oscillations of temperatures in Piedmont caves remarkable for speleofauna*, SCIECONF 2014, EDIS, Zilina, Slovak Republic, 412-417.
39. Motta L., Motta M., 2014. *The Climate of the Borna Maggiore di Pugnetto Cave (Lanzo Valley, Western Italian Alps)*. *Universal Journal of Geoscience* 3(3): 90-102, 2015
40. Motta L., Motta M. 2013. *The climate of the Borna Maggiore di Pugnetto Cave (Lanzo Valley, Western Italian Alps)*. 2013 Horizon Research Publishing
41. Mammola S., Arnedo M., Hormiga G., Isaia M., 2015. *Shedding light on darkness: an integrative approach to elucidate the evolutionary history of the Alpine-Appenninic trogliphilic Pimoa spiders*. pp.113-113. In *Abstract Book - XXVIII European Congress of Arachnology*
42. Bolzern A., Pantini P., Isaia M. (2013). *Revision of the Histopona italica group (Araneae: Agelenidae), with the description of two new species*. *Zootaxa*, 3640: 23- 41
43. Meregalli M., Menardo F., Klass K.-D., Cervella P. (2013). *Phylogeny of the Saxifraga-associated species of Dichotrachelus (Insecta: Coleoptera: Curculionidae), with remarks on their radiation in the Alps*. *Arthropod Systematics & Phylogeny*, 71(1): 43-68
44. Isaia M., Chiarle A., 2015. *Taxonomic notes on Cybaeus vignai Brignoli, 1977 (Araneae, Cybaeidae) and Dysdera cribrata Simon, 1882 (Araneae, Dysderidae) from the Italian Maritime Alps*. *Zoosystema* 37: 45-56.

## W6. Potential of cave ecosystems as indicators for global warming

Per valutare i potenziali effetti del riscaldamento globale sugli ecosistemi sotterranei è stato definito un set di 40 grotte distribuite lungo l'arco alpino occidentale in Piemonte e Val d'Aosta. L'individuazione dei siti di studio è avvenuto su base GIS, considerando in particolare la disponibilità di dati faunistici pregressi, raccolti dal gruppo di studio nel corso di precedenti indagini. Ognuna delle grotte scelte è stata visitata tra la primavera e l'estate del 2012 per il posizionamento all'ingresso e nelle zone più profonde delle sonde di temperatura e umidità. Nello stesso periodo dell'anno successivo (2013) le sonde sono state recuperate, scaricate e riposizionate. Nel corso delle stesse uscite si è provveduto alla raccolta di campioni di artropodi per le future analisi molecolari e per l'allestimento del database utile per la modellizzazione degli effetti del riscaldamento globale sulle biocenosi sotterranee specializzate. Il recupero delle sonde ha messo in evidenza una serie di limiti strumentali, dovuti principalmente al malfunzionamento delle sonde in condizioni di umidità costantemente prossime al 100%, come spesso avviene nelle grotte naturali. Nonostante ciò, le 38 serie di dati recuperati hanno fornito un dataset estremamente valido per le analisi e per il loro impiego nella modellizzazione.

I risultati, presentati nel corso di un congresso internazionale [45] hanno rilevato una notevole sensibilità di alcune specie di artropodi sotterranei alla temperatura in grotta e hanno evidenziato trend statisticamente significativi che prevedono l'estinzione di alcuni taxa endemici, tra cui diverse specie ad areale puntiforme di *Troglohyphnates* (Araneae, Linyphiidae), per gli scenari ad alta emissione previsti dall'*International Panel on Climate Change*. Il ruolo svolto potenzialmente da questi organismi sentinella del riscaldamento globale è stato discusso nel corso di un congresso internazionale e sarà oggetto di prossima pubblicazione [46, 47].

45. Mammola S., Paschetta M., Isaia, M., 2014. *Potential of cave ecosystems as indicators for global warming*. In: *XXVIII European Congress of Arachnology, Torino, 24-29 Settembre 2014. Abstract Book*, pp. 94.

46. Mammola S., Piano E., Isaia, M., 2015. *From past to future: the response of Troglodyphantes to climate change dynamics*. In: XIX European Congress of Arachnology, Brno, 24-28 Settembre 2015. Abstract Book, pp. 133

47. Mammola S., Isaia, M., in preparation. *From past to future: the response of Troglodyphantes to climate change dynamics*.

#### **W7. Dissemination and other activities**

Nell'ambito del WP1, la collaborazione con Alemanno Metrology si sta concretizzando nello sviluppo di tecnologia innovativa per la misura di precisione dell'umidità, aprendo la possibilità di produrre un brevetto per lo sfruttamento commerciale. Le grotte sfruttate a livello turistico coinvolte in CAVELAB, traggono benefici dal punto di vista della valorizzazione, della fruizione e della gestione. In particolare i lavori svolti nell'ambito del WP3 e del WP4 forniscono le linee guida per la gestione dell'impatto turistico nella grotta di Bossea, che ad oggi rappresenta il sito ipogeo più frequentato in Piemonte (circa 12000 visitatori l'anno). Nell'ambito del WP5, il lavoro si è svolto in stretta collaborazione con l'Ente gestore del Sito (Ente di gestione delle Aree protette dell'Area Metropolitana di Torino) e ha portato alla stipula di una Convenzione di ricerca tra l'Università di Torino e l'Ente in questione al fine di sviluppare progetti di ricerca comune. In particolare nel Dicembre 2012 è stata istituita una borsa di studio per studenti, finanziata interamente dall'Ente gestore, per realizzare pannelli divulgativi relativi alle ricerche svolte presso la grotta del Pugnetto che sono esposti presso il centro visita della grotta, inaugurato nel Settembre 2015.

Benefici aggiuntivi giungono dalle attività didattiche svolte nell'ambito del corso di Ecologia per Scienze Naturali tenuto dal Principal Investigator (seminari tematici, laboratori e uscite in campo incentrate sulla fauna di grotta) nonché dalla partecipazione a una trasmissione televisiva del PI avente come oggetto le peculiarità della fauna di grotta (Geo del 16.11.2015, disponibile online sul sito della trasmissione).

Le attività di CAVELAB sono state presentate nel corso di una sessione dedicata allestita nell'ambito del XXVIII Congresso Europeo di Aracnologia, tenutosi a Torino dal 24 al 31 Agosto 2014 e di cui il PI è stato il principale organizzatore. La sessione è rientrata nelle attività extra-congresso tradizionalmente previste per i congressisti, ed è stata allestita presso la grotta di Bossea, in data 31 Agosto 2014. In aggiunta alla sessione speciale dedicata e ai congressi internazionali illustranti il progetto nella sua totalità [48, 49], i risultati complessivi del progetto sono stati presentati nel corso di seminari su invito realizzati presso l'Università di Torino e presso alcune università straniere (Spagna, Croazia).

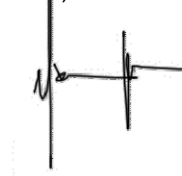
Il progetto ha finanziato in totale 5 assegni di ricerca di durata compresa tra i 12 e i 18 mesi, che hanno contribuito sostanzialmente alla riuscita del progetto in termini scientifici.

#### **General presentations**

48. Isaia M., 2014. *Caves as laboratories for the study of the effects of temperature on ecosystems and biodiversity: researches of the CaveLab Project at Bossea show-cave (NW-Italy)*. In: XXVIII European Congress of Arachnology, Torino, 24-29 Settembre 2014. Abstract Book, pp.67-67

49. Isaia M., Paschetta M., Chiarle A., Badino G., Berto S., Bona F., Meregalli M., Motta M., Motta L., Vione D., Vizzini A. (2013). *CAVELAB, an interdisciplinary research project for the study of cave ecosystems and their potentialities for the study of global change*. XIX International Congress of Arachnology, Kenting, Taiwan, 23-28 June 2013.

Torino, 30.09.2015

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'M. Isaia', written over a faint grid background.