

NOTIZIARIO

DELLA

SOCIETÀ ITALIANA DI PROTOZOOLOGIA

o GENNAIO - DICEMBRE 2001 o

o ANNO 6, N. 1 o

o SOCIETÀ ITALIANA DI
PROTOZOOLOGIA o

o Anno di fondazione, 1965 o

o Affiliata dal 1983 alla Society of
Protozoologists (U.S.A.) o

Società Italiana di Protozoologia (S.I.P.)

Fondazione della Società Italiana di Protozoologia

La S.I.P. è stata costituita nel 1965 grazie all'impegno pionieristico del primo nucleo di soci sostenitori, i Professori Tina Franceschi, Renzo Nobili, Elsa Bottazzi Massera, Bruno Schreiber.

Motivo ispiratore

"Incrementare gli studi di Protozoologia, riunendo i cultori della materia e promuovendo il coordinamento delle loro attività".

Sede legale

Museo di Storia Naturale e del Territorio, Università di Pisa, Certosa, Calci, Pisa.

Consiglio Direttivo 2000-2001

L. Gradoni, Roma	Presidente
O. Brandonisio, Bari	Segretario - Tesoriere
P.L. Fiori, Sassari	Consigliere
C. Miceli, Camerino	Consigliere
F. Verni, Pisa	Consigliere

Collegio dei Revisori dei conti 2000-2001

M. Gramiccia, Roma	Membro effettivo
C. Ortenzi, Camerino	Membro effettivo

Segreteria

Prof.ssa Olga Brandonisio
Istituto di Microbiologia Medica
Policlinico
Piazza Giulio Cesare 11
70124 Bari
Tel.: 080/5478491 Fax: 080/5478537
e-mail: brandoni@cimedoc.uniba.it

Notiziario S.I.P.

Comitato di Redazione: O. Coppellotti, M.U. Corrado, G. Dettori, M. Gramiccia, P. Luporini, P. Madoni, I. Viani

In questo numero

Il Punto (Comitato di Redazione)

Iniziativa S.I.P. a favore di giovani cultori della Protozoologia

- Relazione della Dott.ssa Paola Ceccacci (Camerino), vincitrice del premio Nobili-Franceschi per l'anno 1999

Presentazione delle Tesi di Dottorato in Protistologia

- Proposta, invito (M.U. Corrado, F. Dini)
- Tesi di Dottorato del Dott. Giulio Petroni (Pisa)
- Tesi di Dottorato della Dott.ssa Huguette Politi (Genova)

La Società di Protozoologia ricorda Nicola Ricci (R. Banchetti, F. Erra, F. Dini)

Congressi di interesse protozoologico, 2000-2001: impressioni, riflessioni

- Tavola Rotonda "El origen de las especies", Madrid, 8-10 Marzo 2001 (G. Rosati)
- Seminario "Light-material interaction: medical and environmental applications", Gafsa, 18 Maggio 2001 (O. Coppellotti)
- XI International Congress of Protozoology, Salisburgo, 15-19 Luglio 2001 (L. Gradoni)

Nuovi Soci

Invito ai Soci a fornire il proprio indirizzo di posta elettronica

Indirizzi di posta elettronica dei Soci

Prossimi Convegni

Agenda - Promemoria per i Soci
- Scadenze

Selezione bibliografica

Notiziario della Società Italiana di Protozoologia

Il Punto

Il Notiziario della Società Italiana di Protozoologia esce nel 2001 con il suo sesto numero. Sono infatti passati 6 anni da quando Giuseppe Dettori lanciò l'idea, e la rese operativa, di creare uno strumento che favorisse lo scambio reciproco di informazioni tra i Soci. Nacque così il Notiziario, come canale di comunicazione che permettesse ai Soci di esprimere le proprie opinioni, 'ascoltare ed essere ascoltati', dando spazio anche ai più giovani e promettenti cultori della disciplina. Se il ciclo vitale del Notiziario continua è proprio grazie all'entusiasmo di quanti hanno accolto favorevolmente l'iniziativa di Dettori ed hanno contribuito a scrivere i numeri del Notiziario, rendendolo utile ed interessante.

In questo ed in un contesto più ampio di promozione dei giovani ricercatori, si inquadra la relazione della Dott.ssa Paola Ceccacci (Camerino), vincitrice del premio biennale 'Nobili-Franceschi', di L.1.000.000, assegnato nel corso del XX Convegno della Società di Protozoologia, S. Margherita Ligure 1999, per la migliore Tesi di Laurea in Protozoologia discussa nel periodo intercorso tra l'a.a. 1997/1998 e Luglio 1999. Anche quest'anno, il Consiglio Direttivo designerà il vincitore del premio, che esporrà l'argomento della sua Tesi di Laurea nel corso del XXII Convegno della Società, La Spezia, 20-21 Settembre, 2001.

Ancora nell'ambito delle iniziative promosse dalla Società Italiana di Protozoologia a favore di giovani cultori della disciplina, vengono presentati i compendi della Tesi di Dottorato di Ricerca in 'Protistologia (Biologia sperimentale su eucarioti unicellulari)' del Dott. Giulio Petroni (Pisa) e della Dott.ssa Huguette Politi (Genova).

Il ricordo della figura di Nicola Ricci, prematuramente scomparso nell'Ottobre scorso, è per mano di Rosalba Banchetti, Fabrizio Erra e Fernando Dini che ne tracciano l'intenso profilo scientifico di ricercatore entusiasta e di studioso appassionato.

Alcuni Soci ci riferiscono le loro impressioni sui recenti Convegni cui hanno partecipato: Giovanna Rosati per la Tavola Rotonda "El origen de las especies", Madrid, Marzo 2001, Olimpia Coppelotti per il Seminario "Light-material interaction: medical and environmental applications", Gasfa, Maggio 2001, e Luigi Gradoni per XI International Congress of Protozoology, Salisburgo, Luglio 2001. Proprio nel 2001, l'International Congress of Protozoology ha celebrato 40 anni di storia con la sua XI edizione. Dal I a Praga nel 1961, il Congresso Internazionale di Protozoologia ha avuto luogo regolarmente e con cadenza quadriennale a Londra, Leningrado, Clermont-Ferrand, New York, Varsavia, Nairobi, Tsukuba, Berlino, Sydney e Salisburgo. L'appuntamento per il prossimo Congresso è stato stabilito in Cina, nel 2005.

Anche quest'anno la Società Italiana di Protozoologia si arricchisce di nuovi Soci, ammessi nel 2000, ai quali va il benvenuto da parte del Comitato di Redazione.

Come di consueto, viene fornito l'elenco degli e-mail dei Soci e viene rivolto l'invito, a chi non l'avesse ancora fatto, a comunicare il proprio indirizzo di posta elettronica.

Chiudono questa edizione 2001 del Notiziario, la segnalazione dei prossimi Congressi di interesse per i Protozoologi, l'agenda promemoria ed una breve selezione bibliografica.

A tutti, auguri di buon lavoro.

Per il Comitato di Redazione

Maria Umberta Corrado

Iniziativa della Società Italiana di Protozoologia a favore di Giovani Studiosi Cultori della Disciplina

Relazione del lavoro scientifico svolto dalla Dott.ssa Paola Ceccacci vincitrice del premio Nobili-Franceschi per l'anno 1999

Processo endocitotico stimolato dall'interazione tra segnale feromonale e recettore in *Euplotes raikovi*

La maggior parte delle molecole proteiche localizzate sulla superficie cellulare seguono un pattern di internalizzazione nella cellula e di riesposizione. In particolare le molecole con funzione di recettore, che sono in grado di attivare una risposta cellulare, internalizzano più velocemente e massivamente se interagiscono con il ligando, ed il meccanismo di internalizzazione svolge generalmente una azione regolatoria per molte funzioni cellulari.

Questi meccanismi sono studiati principalmente per i fattori di crescita dei vertebrati e per l'interazione tra feromone e recettore nel lievito *Saccharomyces* (1). Tuttavia, i meccanismi ipotizzati ed in parte dimostrati appaiono diversi tra le cellule animali ed il lievito.

In questo lavoro di tesi di laurea mi sono occupata di studiare il meccanismo di internalizzazione del complesso ligando-recettore di membrana in un sistema eucariotico unicellulare, più vicino alle cellule animali rispetto al lievito, il protozoo ciliato *Euplotes raikovi*.

Questo ciliato marino secreta proteine segnale, chiamate feromoni, che distinguono chimicamente l'uno dall'altro vari tipi di cellule nell'ambito di una stessa specie morfologica e regolano sia la proliferazione cellulare (mitosi), che il processo sessuale della coniugazione mediante interazioni di tipo, rispettivamente, autocrino e paracrino (2, 3).

L'oggetto di questa tesi è volto a chiarire se l'interazione di tipo autocrino tra feromone e recettore determina una internalizzazione del complesso per un tipico processo di endocitosi, così come avviene per molti recettori che sono in grado di attivare una risposta cellulare. Con la mia ricerca ho verificato che il recettore per il feromone *Er-1* (secreto dalle cellule di tipo I, omozigoti per l'allele *mat-1*) viene internalizzato, mediante endocitosi, quando è occupato dal ligando, sia che sia costituito dal feromone stesso o

da un suo agonista (come l'anticorpo per il feromone).

Per verificare l'esistenza dell'endocitosi mediata da recettore, ho allestito due tipi di esperimenti di immunofluorescenza: nel primo, ho utilizzato un anticorpo primario che mima l'azione del feromone e riconosce il dominio extracellulare del recettore di membrana (4), insieme ad un altro anticorpo primario che riconosce la porzione citoplasmatica del recettore (3). Entrambi questi anticorpi sono immunoriconosciuti da anticorpi secondari coniugati a molecole fluorescenti. Nel secondo tipo di esperimenti, ho utilizzato il feromone stesso coniugato ad un fluorocromo, insieme all'anticorpo che riconosce la porzione citoplasmatica del recettore. La visualizzazione delle immagini è stata fatta con la microscopia confocale.

Il processo di internalizzazione, che si verifica solo nell'interazione autocrina, coinvolge vescicole endocitotiche generalmente denominate endosomi precoci. Ho potuto verificare che questi sicuramente confluiscono nei lisosomi, infatti, nelle fasi avanzate del processo, ho visualizzato un accumulo della fluorescenza in vacuoli localizzati nell'area del citopigio, che nei ciliati è la regione di espulsione del materiale degradato dai lisosomi. Inoltre è rilevante il fatto che il processo di internalizzazione è dipendente dal tipo di interazione: infatti nell'interazione paracrina (quella che conduce al fenomeno della sessualità) non c'è internalizzazione del complesso feromone-recettore di membrana. Il fatto che l'internalizzazione sia correlata ad uno soltanto dei due processi lascia supporre che in questo sistema essa sia dipendente dal tipo di trasduzione del segnale che si verifica. Questo significa che il processo di internalizzazione nel ciliato *E. raikovi* avviene con un controllo molto simile a quello delle cellule dei vertebrati.

Riferimenti bibliografici

1. Zanolari, B., Riezman, H. (1991). Quantification of α -factor internalization and response during the *Saccharomyces cerevisiae* cell cycle. *Mol. Cell Biol.*, 11: 5251-5258.
2. Vallesi, A., Giuli, G., Bradshaw, R.A., Luporini, P. (1995). Autocrine mitogenic activity of pheromones produced by the protozoan ciliate *Euplotes raikovi*. *Nature*, 376: 522-524.
3. Ortenzi, C., Alimenti, C., Vallesi, A., Di Pretoro, B., La Terza, A., Luporini, P. (2000). The autocrine mitogenic loop of the ciliate *Euplotes raikovi*: the pheromone membrane-bound forms are the cell binding sites and potential signalling receptors for soluble pheromones. *Mol. Biol. Cell*, 11: 1445-1455.
4. Fiori, P.L., Miceli, C., Raffioni, S., Vallesi, A. (1990). Specific and common epitopes in mating pheromones of *Euplotes raikovi* revealed by monoclonal antibodies. *J. Protozool.*, 37: 187-190.

Proposta, invito per il 2002

In seguito alla riforma universitaria, che ha coinvolto anche i Dottorati di Ricerca, gli studiosi di Protistologia, anziché disporre di un dottorato a loro riservato, hanno trovato spazio in altri dottorati. Pertanto, i docenti tutori dei dottorandi che svolgono una ricerca di argomento protistologico sono invitati a far preparare dai propri dottorandi un breve compendio della loro Tesi di Dottorato che dovrà essere inviato insieme con i dati essenziali (nome del candidato, titolo e data di discussione della tesi) alla Segreteria della S.I.P.: Prof.ssa Olga Brandonisio, Istituto di Microbiologia Medica, Piazza Giulio Cesare 11, 70124 Bari.

Tel.: 080/5478491 Fax: 080/5478537
e-mail: brandoni@cimedoc.uniba.it

Maria Umberta Corrado, Fernando Dini

All'iniziativa hanno quest'anno aderito il Dott. Giulio Petroni (Pisa) e la Dott.ssa Huguette Politi (Genova) che hanno preparato un breve compendio delle rispettive Tesi di Dottorato che viene qui di seguito presentato.

Dottorato di Ricerca in Protistologia XIII ciclo (Biologia sperimentale su organismi unicellulari)

Tesi di Dottorato

Phylogenetic relationship among representatives comprising the order Euplotida (Ciliophora, Spirotrichea): 18S rDNA molecular and symbiotic approaches

(Tesi di Dottorato discussa l'8 gennaio 2001)

Giulio Petroni

Dipartimento Etologia, Ecologia, Evoluzione, Università degli Studi di Pisa

Da diversi anni la filogenesi molecolare si è associata alle tecniche tradizionali nello studio e nella ricostruzione dei processi evolutivi. Sono molti, ormai, i geni utilizzati a tale scopo le cui sequenze sono disponibili in banche-dati accessibili dalla rete. Sempre più chiari risultano i vantaggi e i problemi associati all'uso di ciascuno di questi geni (1). Il più utilizzato negli studi filogenetici è, a tutt'oggi, il gene codificante per l'rRNA della subunità ribosomale piccola (SSU) per il quale sono disponibili più di 10000 sequenze di organismi diversi. L'SSU rRNA è caratterizzato, sia dall'avere un contenuto informativo sufficiente a risolvere la maggior parte dei problemi filogenetici, che dal prestarsi come marcatore ottimale per il riconoscimento di popolazioni microbiche mediante ibridazione *in situ* (2).

Nell'ambito della mia tesi di dottorato mi sono occupato della caratterizzazione dell'SSU rRNA di rappresentanti dell'ordine Euplotida. La ricostruzione filogenetica ottenuta è stata criticamente confrontata con le ricostruzioni basate su caratteri morfologici. Ho inoltre iniziato un lavoro di caratterizzazione morfologica, molecolare, filogenetica e funzionale di organismi simbionti degli Euplotida. Nell'ambito del dottorato mi sono occupato della caratterizzazione morfologica di alcuni batteri endosimbionti del genere *Euplotes* e della caratterizzazione molecolare, filogenetica e funzionale degli epixenosomi, peculiari ectosimbionti del genere *Euplotidium* (3,4), che da diversi anni sono oggetto di studio del gruppo di ricerca di cui faccio parte.

Relazioni filogenetiche fra rappresentanti dell'ordine Euplotida (Ciliophora, Spirotrichea)

Il gene codificante per l'rRNA della subunità ribosomale piccola (SSU) è stato amplificato tramite PCR partendo o da DNA estratto o da esemplari fissati in etanolo. Il prodotto di

amplificazione è stato purificato e sequenziato in entrambe le direzioni. Complessivamente sono stati analizzati 21 ceppi di *Euplotes* appartenenti alle specie: *Euplotes crassus* (tre ceppi), *E. vannus* (tre ceppi), *E. minuta* (tre ceppi), *Euplotes* sp. ceppo PLR1, *E. parkei*, *E. rariseta*, *E. charon*, *E. magnicirratu* (due ceppi) *E. raikovi* (tre ceppi), *E. harpa*, *E. aediculatus*, *E. muscicola*. È stato inoltre sequenziato il 18S rDNA delle seguenti specie di Spirotrichea: *Euplotidium arenarium*, *Euplotidium itoi*, *Diophrys scutum*, *Diophrys appendiculata*, *Aspidisca* sp., *Phacodinium* sp. Specifici programmi disponibili nel pacchetto ARB sono stati utilizzati sia per allineare le sequenze ottenute con quelle degli altri ciliati disponibili in banca-dati sia per l'analisi filogenetica. Tale analisi è stata condotta utilizzando gli algoritmi di massima parsimonia e di "maximum likelihood" associati a diversi filtri. Sono state inoltre disegnate e fatte sintetizzare sonde oligonucleotidiche marcate con Cy3 o fluoresceina specifiche per la sequenza del 18S rRNA delle specie *E. crassus*, *E. vannus*, *E. minuta*. Un protocollo di ibridazione *in situ* specie-specifica per il rapido riconoscimento delle tre specie è stato messo a punto.

I risultati ottenuti hanno evidenziato nell'ambito del genere *Euplotes* che:

1) *E. crassus*, *E. vannus*, ed *E. minuta* sono tre specie diverse, facilmente riconoscibili e classificabili utilizzando le sonde oligonucleotidiche specificamente disegnate.

2) Nell'ambito del gruppo *E. crassus/E. vannus/E. minuta*, *E. crassus* ed *E. vannus* sono le specie che più si somigliano. *Euplotes* sp. ceppo PLR1 potrebbe rappresentare una quarta specie nell'ambito del gruppo.

3) *E. parkei*, una specie ad argiroma doppio, è chiaramente associata al gruppo *crassus/vannus/minuta* caratterizzato invece da un argiroma singolo.

4) *E. aediculatus*, una specie di acqua dolce

caratterizzata da argiroma doppio e 9 cirri frontoventrali, si associa stabilmente con *E. harpa*, una specie raccolta in acqua salmastra caratterizzata da argiroma doppio e 10 cirri frontoventrali. In entrambe le specie sono stati individuati batteri endosimbionti classificati su base morfologica come appartenenti al genere *Polinucleobacter*.

5) I rapporti filogenetici fra le specie *E. rariseta*, *E. charon*, *E. magnicirrus*, *E. muscicola* ed i gruppi precedentemente descritti (*E. crassus*/*E. vannus*/*E. minuta*/*E. parkei* ed *E. aediculatus*/*E. harpa*) non sono stati risolti con certezza.

6) *E. raikovi* risulterebbe essersi separato prima di tutte le altre specie caratterizzate.

Per quanto riguarda la ricostruzione filogenetica nell'ambito della classe Spirotrichea è stato evidenziato che:

1) I generi *Aspidisca* ed *Euplotes* formano un clade che a sua volta si associa al genere *Euplotidium*.

2) La posizione dei generi *Diophrys* ed *Uronychia* non è risolta in modo definitivo. In alcune ricostruzioni i due generi risultano debolmente associati e separantisi, nell'ambito degli Euplotida, in una posizione basale rispetto al gruppo *Euplotidium*/*Aspidisca*/*Euplotes*.

3) Il genere *Phacodinium*, a differenza di quanto riportato in Kyoon Shin et al. (5), risulterebbe emergere in una posizione basale negli Spirotrichea, prima di Stichotrichida, Euplotida ed Oligotrichida.

Una parte di questi risultati sono in corso di pubblicazione (6).

Caratterizzazione molecolare, filogenetica e funzionale degli epixenosomi.

Il gene codificante per l'rRNA della subunità ribosomiale piccola (SSU) è stato amplificato tramite PCR partendo da DNA estratto: a) da ceppi di *Euplotidium* con epixenosomi, b) da ceppi di *Euplotidium* privi di epixenosomi. Le amplificazioni sono state condotte in basse condizioni di stringenza utilizzando primer specifici per i tre regni: Bacteria, Archaea ed Eukarya in diverse combinazioni. Sono stati ottenuti amplificati dal complesso *Euplotidium*-epixenosomi sia con la coppia di primer eucariotici che con una combinazione atipica del primer 5'-AACCTGGTTGATCCTGCCAG-3', originariamente disegnato per i batteri, e del primer 5'-GGAGGTGATCCGCCGAG-3', originariamente disegnato per gli archaea. Entrambi I prodotti di amplificazione sono stati sia direttamente sequenziati che clonati ed i singoli cloni sequenziati. Le sequenze ottenute sono state allineate ad altre 10000 sequenze di 16/18S rDNA

eucariotici e procariotici ed inserite in un albero filogenetico universale utilizzando il metodo della massima parsimonia. L'analisi delle sequenze è stata effettuata mediante il programma ARB. L'amplificato ottenuto con la coppia di primer eucariotici è risultato omogeneo (si è ottenuta la stessa sequenza sia tramite sequenziamento diretto che tramite sequenziamento dei cloni), identico all'amplificato ottenuto dal ceppo di *Euplotidium* privi di epixenosomi, e chiaramente appartenente ad un ciliato mai sequenziato del gruppo degli ipotrichi. L'amplificato ottenuto con la coppia atipica di primer, l'uno batterico l'altro archaea, è risultato anch'esso omogeneo ed appartenente ad un nuovo batterio della divisione Verrucomicrobiales. Per verificare che le sequenze ed i cloni ottenuti derivassero effettivamente da *Euplotidium* e dagli epixenosomi sono stati effettuati esperimenti di ibridazione *in situ* ad alte condizioni di stringenza. Sono state disegnate e fatte sintetizzare sonde oligonucleotidiche marcate con Cy3 o fluoresceina (Eare-832, Eare-610, Eare-1269) specifiche per la sequenza del 18S rDNA del ciliato. E' stata sintetizzata, tramite trascrizione *in vitro* del clone V2a, una sonda polinucleotidica fluoresceinata (Epi277-T3) dalla regione più variabile della 16S rDNA del verrucobatterio. L'ibridazione *in situ* con tali sonde, ed in particolare con la combinazione Eare-832-Cy3 Epi277-T3, ha chiaramente confermato che le sequenze ottenute appartenevano l'una al ciliato l'altra all'epixenosoma.

I risultati ottenuti hanno dimostrato che gli epixenosomi sono batteri ed appartengono alla divisione, di recente costituzione, Verrucomicrobiales di cui al momento fanno parte tre sole specie coltivabili, un endosimbionte di nematodi del genere *Xiphinema* (7) e numerosi "cloni ambientali" (8). Gli epixenosomi, come tutti gli altri membri di questa divisione, hanno due mutazioni nella regione target della sonda "universale eubatterica" Eub338 che ne prevengono il legame. Questi risultati sono stati pubblicati in Petroni et al. (9).

I ceppi di *Euplotidium* con e senza epixenosomi sono inoltre stati utilizzati per un'indagine sul significato biologico della simbiosi fra gli epixenosomi ed i loro ospiti. L'ipotesi di lavoro era che gli epixenosomi potessero interferire con fenomeni di predazione e quindi fungere da difesa per gli *Euplotidium*. Tale ipotesi è stata sperimentalmente verificata mediante: 1) Analisi, nel corso del tempo (4h), della capacità predatoria di *Litonotus lamella* nei confronti di: *Euplotidium itoi* con epixenosomi, *Euplotidium itoi* senza epixenosomi ed *Euplotes crassus* (la preda normalmente utilizzata nell'allevamento di *Litonotus*). 2) Analisi del comportamento

predatorio di singoli *Litonotus lamella* nei confronti dei tre tipi di preda. 3) Analisi, nel corso del tempo (2h), della capacità predatoria di *Litonotus lamella* nei confronti di *Euplotidium itoi* con epixenosomi ed *Euplotidium itoi* senza epixenosomi trattati e non trattati con allossana, sostanza che inibisce l'estrusione degli epixenosomi.

I risultati ottenuti hanno dimostrato che *Litonotus lamella*: a) riconosce come preda e paralizza gli *Euplotidium* con o senza epixenosomi con un'efficienza paragonabile a quella mostrata per *Euplotes crassus*; b) ingerisce *Euplotidium* senza

epixenosomi o *Euplotidium* in cui la capacità estrusiva degli epixenosomi è stata inibita; c) non ingerisce mai *Euplotidium* con epixenosomi integri; d) Circa il 60% degli organismi paralizzati ma non predati recupera in breve tempo un comportamento normale se trasferiti in acqua di mare priva di predatori. Tutti questi risultati sono in favore dell'ipotesi che gli epixenosomi abbiano una funzione difensiva per il ciliato ospite e che l'estrusione degli epixenosomi sia direttamente coinvolta in tale funzione. Questi risultati sono stati pubblicati in Rosati et al. (10).

Riferimenti bibliografici

1. Philippe, H. (2000) Opinion: Long branch attraction and protist phylogeny. *Protist* 151, 307-316.
2. Amann, R. I., Ludwig, W., Schleifer, K.H. (1995) Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cell without cultivation. *Microbiol. Rev.* 59, 143-169.
3. Verni, F., Rosati, G. (1990) Peculiar epibionts in *Euplotidium itoi* (Ciliata, Hypotrichida) *J. Protozool.* 37, 337-343.
4. Rosati, G. (1999) Epixenosomes: symbionts of the hypotrich ciliate *Euplotidium itoi*. *Symbiosis* 26, 1-23.
5. Kyoong Shin, M., Wook Hwang, U., Kim, W., Wright, A.D.G., Krawczyk, C., Lynn, D.H. (2000) Phylogenetic position of the ciliates *Phacodinium* (order Phacodiniida) and *Protocruzia* (subclass Protocruziida) and systematics of the spirotrich ciliates examined by small subunit ribosomal RNA gene sequences. *Europ. J. Protistol.* 36, 293-302.
6. Petroni, G., Dini, F., Verni, F., Rosati, G. (2001) A molecular approach to the tangled intrageneric relationships underlying phylogeny in *Euplotes* (Ciliophora, Spirotrichea). *Mol. Phylogenet. Evol.* 21, (in press).
7. Vandekerckhove, T.T.M., Willems, A., Gillis, M., Coomans, A. (2000) Occurrence of novel verrucomicrobial species, endosymbiotic and associated with parthenogenesis in *Xiphinema americanum*-group species (Nematoda, Longidoridae). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 50, 2197-2205.
8. Hugenholtz, P., Goebel, B.M., Pace, N.R. (1998) Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. *J. Bacteriology* 180, 4765-4774.
9. Petroni, G., Spring, S., Schleifer, K.H., Verni, F., Rosati, G. (2000) Defensive extrusive ectosymbionts of *Euplotidium* (Ciliophora) that contain microtubule-like structures are bacteria related to *Verrucomicrobia*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 1813-1817.
10. Rosati, G., Petroni, G., Quochi, S., Modeo, L., Verni, F. (1999) Epixenosomes: peculiar epibionts of the hypotrich ciliate *Euplotidium itoi* defend their host against predators. *J. Euk. Microbiol.* 46, 278-282.

Tesi di Dottorato

Interazioni di membrana nella coniugazione di *Paramecium primaurelia*: caratterizzazione e ruolo di molecole appartenenti al sistema colinergico

(Tesi di Dottorato discussa l'8 gennaio 2001)

Huguette Politi

Dipartimento per lo Studio del Territorio e delle sue Risorse (DIP.TE.RIS), Università degli Studi di Genova

La mia ricerca si è proposta di caratterizzare

alcune molecole appartenenti al sistema colinergico in *Paramecium primaurelia*, allo scopo di studiarne il ruolo funzionale nel processo di coniugazione di questo eucariote primitivo. Tale processo sessuale comprende due eventi iniziali: il riconoscimento tra cellule compatibili per la coniugazione e l'adesione cellula-cellula che è seguita dalla formazione di coppie di coniuganti.

L'ipotesi che i glicoconiugati di membrana possano essere implicati nel processo di adesione dei coniuganti nei protozoi ciliati, deriva dall'effetto inibitore esercitato da alcune lectine sulle prime fasi della coniugazione. In linea con le indicazioni emerse dalla letteratura, una serie di studi precedenti ha individuato l'effetto inibitore del trattamento con le lectine LPA e WGA e con le loro molecole glucosidiche di legame, rispettivamente, acido N-Acetil-Neuramminico e N-Acetil-Glucosammina, sulle prime fasi della coniugazione di *P. primaurelia* (1).

E' noto che il sistema colinergico comprende una serie di molecole funzionalmente correlate: il neurotrasmettitore acetilcolina (ACh), il suo enzima biosintetico colinacetiltransferasi (ChAT), il suo enzima litico acetilcolinesterasi (AChE), nonché i suoi recettori di tipo nicotinico (nAChR) e di tipo muscarinico (mAChR) (2,3). E' stato inoltre provato che molecole segnale, come ACh, sono coinvolte nella regolazione delle interazioni cellulari durante la comunicazione fra cellule (4,5) anche singole, quali i gameti durante la fecondazione (6).

Utilizzando tecniche di tipo istochimico ed immunocitochimico, abbiamo dimostrato per la prima volta che in un protozoo ciliato, quale *P. primaurelia*, è presente un set completo di molecole appartenenti al sistema colinergico, localizzate sulla superficie delle cellule di mating type (mt) I e di mt II ed è stato anche dimostrato che il trattamento di cellule di mt I e di mt II con sostanze colinomimetiche, sia agoniste, sia antagoniste delle funzioni dei recettori di ACh, interferisce nel processo di adesione cellula-cellula ed altera il pattern di distribuzione dei glicoconiugati di superficie (7).

La mia ricerca si è focalizzata sull'analisi di tre molecole chiave del sistema colinergico: AChE, ChAT e nAChR. Ho condotto l'indagine sulle molecole colinergico-simili in campioni in fasi differenti del ciclo di sviluppo: cellule competenti per la coniugazione di mt I e di mt II, cellule mature non competenti per la coniugazione e cellule immature. Ho utilizzato tecniche di microscopia in fluorescenza tradizionale e laser confocale allo scopo di localizzare le molecole di interesse in *P. primaurelia*. Per indagare l'attività di modulazione di ACh nel processo di adesione cellula-cellula, le cellule di mt I e di mt II competenti per la coniugazione sono state esposte,

prima del loro trasferimento in un microambiente comune, ad inibitori dell'attività di colinesterasi. Tecniche di immuno-blot e di gel elettroforesi sono state usate per la caratterizzazione molecolare, mentre tecniche di clonaggio genico, attraverso strategie di PCR, sono state utilizzate allo scopo di determinare le sequenze geniche codificanti le proteine AChE e nAChR.

Per quanto riguarda l'enzima AChE, è stata individuata la sua attività sulla membrana superficiale delle cellule competenti per la coniugazione suggerendo un possibile ruolo dell'AChE nel regolare le interazioni cellula-cellula mediate da neurotrasmettitori, quali l'ACh. La presenza di attività di AChE nel citoplasma di cellule immature potrebbe invece corrispondere alla fase di sintesi e di attivazione del sito catalitico dell'enzima. Inoltre, il fatto che la massa molecolare dell'AChE corrisponda a 260 kDa sia nelle cellule immature, sia nelle cellule competenti per la coniugazione, potrebbe indicare che la coda di collagene, utilizzata per l'ancoraggio della molecola alla membrana plasmatica, sarebbe già presente nelle cellule incapaci di coniugare. In condizioni di immaturità, quindi, le molecole di AChE sembrano già pronte per essere trasferite dal sito di sintesi alla superficie cellulare (8).

Mediante tecniche di clonaggio genico è stato possibile dedurre una sequenza amminoacidica dedotta che mostra una elevata similarità con le sequenze di AChE note in altri organismi, anche se sono presenti specifiche sostituzioni a livello dei residui implicati nella funzione del sito di legame periferico per l'ACh, quale la sostituzione di una Thr al posto della Tyr-121 tipica delle AChE di vertebrati (9). Il complesso dei risultati indica che in *P. primaurelia* è presente l'attività di una singola colinesterasi, l'AChE, codificata da un solo gene, come suggerito dall'analisi di Southern blot in cui si evidenzia che il frammento clonato appartiene ad una sola banda di 3500 bp.

Circa l'enzima biosintetico di ACh, la presenza e l'attività di ChAT è stata dimostrata in stadi differenti del ciclo di sviluppo di *P. primaurelia* (10).

L'immunoreattività e l'attività dell'enzima sono state individuate in cellule mature competenti per la coniugazione o non competenti, soprattutto associate alla superficie cellulare; al contrario, non si sono raccolte prove della presenza e dell'attività di ChAT nelle cellule immature. Di conseguenza, la sintesi di ACh sembra avvenire esclusivamente in condizioni di maturità ed a livello corticale.

Questo risultato suggerisce una funzione del sistema colinergico nella comunicazione cellula-cellula o nell'interazione autocrina, durante il processo di differenziamento del mating type che dà come risultato la capacità delle cellule ad

accoppiarsi in coniugazione. Pertanto, ACh svolgerebbe un ruolo nell'innescare segnali di comunicazione cellula-cellula, che vengono recepiti dai recettori di ACh localizzati sulla superficie delle cellule di mt I e di mt II. Inoltre, quanto sopra discusso è in linea con la localizzazione dell'attività di AChE, rilevata nel citoplasma di cellule immature ed a livello di membrana superficiale nelle cellule competenti per la coniugazione (8).

Infine, per quanto concerne la presenza di nAChR in protozoi ciliati, questa è stata associata alla regolazione del movimento ciliare e della riproduzione vegetativa (11). Come già evidenziato, le prove *in vivo* effettuate su *P. primaurelia* hanno dimostrato che le cellule competenti per la coniugazione sono sensibili alle sostanze attivatrici ed inibitrici di nAChR. Inoltre, alcune caratteristiche lasciano ipotizzare che la sequenza clonata in *P. primaurelia* sia omologa ad un gene che codifica

una subunità α di nAChR. Sono state, infatti, evidenziate quattro regioni idrofobiche tipiche delle proteine che compongono i recettori nicotinici e pertanto è ipotizzabile che la molecola trovata in *P. primaurelia*, abbia la stessa struttura transmembrana. Sono, inoltre, presenti residui di proline che interrompendo il tratto di α elica transmembrana fornirebbero la flessibilità strutturale richiesta per le transizioni conformazionali reversibili delle regioni transmembrana delle proteine di trasporto attraverso isomerizzazione *cis-trans* del legame X-Pro, dove X è un amminoacido qualsiasi, (12). Infine, sono stati rilevati domini conservati Cys-Cys nella regione extracellulare della proteina. Le funzioni di questi domini sono ancora sconosciuti, ma potrebbero essere correlate alla struttura e alla localizzazione cellulare oppure all'interazione con le componenti extracellulari di questa proteina transmembrana (12).

Riferimenti bibliografici

1. Delmonte Corrado M.U., Locatelli D., Paleari L., Bottiroli G., 1997. Lectin-binding sites involved in *Paramecium primaurelia* mating pair formation. *J. Euk. Microbiol.*, 44:303-308.
2. Laasberg Y., Pedak A., Neuman T., 1987. The muscarinic receptor-mediated action of acetylcholine in the gastrulating chick embryo. *Comp. Biochem. Physiol.*, 86: 313-316.
3. Le Novere N., Changeux J. P., 1995. Molecular evolution of the nicotinic acetylcholine receptor: an example of multigene family in excitable cells. *J. Mol. Evol.* 40: 155-172.
4. Buznikov G. A., 1990. Neurotransmitters in Embryogenesis. Vol I. Harwood Acad. Publ., London, Paris, New York.
5. Falugi C., 1993. Localization and possible role of molecules associated with the cholinergic system during "non nervous" developmental events. *Eur. J. Histochem.*, 37: 287-294.
6. Baccetti B., Burrini A. G., Collodel G., Falugi C., Moretti E., Piomboni P., 1995. Localization of two classes of acetylcholine receptor-like molecules in sperms of different animal species. *Zygote*, 3: 207-217.
7. Trielli F., Politi H., Falugi C., Delmonte Corrado M. U., 1997. Presence of molecules related to the cholinergic system in *Paramecium primaurelia* and possible role in mating pair formation: an experimental study. *J. Exp. Zool.*, 279: 633-638.
8. Delmonte Corrado M.U., Politi H., Trielli F., Angelini C., Falugi C., 1999. Evidence for the presence of a mammalian-like cholinesterase in *Paramecium primaurelia* (Protista, Ciliophora), developmental cycle. *J. Exp. Zool.*, 283:102-105.
9. Sutherland D., McClellan J. S., Milner D., Soong W., Axon N., Sanders M., Hester A., Kao Y., Poczatek T., Routt S., Pezzementi L., 1997. Two cholinesterase activities and genes are present in *Anphioxus*. *J. Exp. Zool.*, 277: 213-229.
10. Delmonte Corrado M.U., Politi H., Ognibene M., Angelini C., Trielli F., Ballarini P., Falugi C., 2001. Synthesis of the signal molecule acetylcholine during the developmental cycle of *Paramecium primaurelia* (Protista, Ciliophora) and its possible function in conjugation. *J. Exp. Biol.*, 204:1901-1907.
11. Doughty M. J., Dryl S., 1981. Control of ciliary activity in *Paramecium*: an analysis of chemosensory transduction in a eukaryotic unicellular organism. *Progr. Neurobiol.*, 16: 1-115.
12. Grenningloh G., Rienitz A., Schmitt B., Methfessel C., Zensen M., Beyreuther K., Gundelfinger E. D., Betz H., 1987. The strychnine-binding subunit of the glycine receptor shows homology with nicotinic acetylcholine receptors. *Nature*, 328: 215-220.

La Società di Protozoologia ricorda Nicola Ricci

Il ricordo di Nicola Ricci, immaturamente, all'età di 53 anni, strappato alla famiglia, agli amici, all'Università di Pisa, alla Protistologia italiana, alla scienza, deve essere breve, nel pieno rispetto della sua natura di uomo semplice e in linea con il suo stringente ragionamento logico, che perseguiva tenacemente nei momenti reputati importanti.

Nicola Ricci ci ha lasciati il 28 ottobre ultimo scorso; cioè 28 giorni dopo che la Facoltà di Scienze di Pisa lo aveva onorato chiamandolo a ricoprire una delle più prestigiose cattedre nel settore naturalistico, quella di Zoologia che era stata di Nobili (1973), di Benazzi (1946), di Colosi (1938), di D'Ancona (1926), di Ficalbi (1905), per risalire a Savi (1814), con cui si perdono le tracce di ulteriori ascendenti; tutti principi della comunità zoologica italiana.

Nella seduta di Facoltà in cui fu proposta la chiamata di Nicola Ricci, fu detto che "se la Facoltà lo avesse chiamato a ricoprire la cattedra di Zoologia per Scienze Naturali, si sarebbe conclusa un'operazione iniziata alcuni lustri orsono e portata avanti in un'ottica di cooptazione da parte di Nobili, anch'esso prematuramente scomparso, il quale in qualità di mentore aveva selezionato ed opportunamente preparato culturalmente Ricci per garantirsi la sua naturale sostituzione". Chi mai avrebbe immaginato che il destino aveva già deciso di rendere un tale legame così stretto anche nella tragicità degli eventi?

Ricci, laureato a Pisa in Scienze Naturali nel 1970, svolse una rapida carriera accademica, compresa tra il 1972 ed il 1981, passando attraverso tutti gli stadi strutturati previsti dalla organizzazione universitaria di quei tempi: tecnico laureato nel 1972, assistente alla cattedra di Zoologia nel 1974, ed infine associato di Zoologia nel 1980. Il consistente lasso di tempo tra l'associazione e l'ordinariato, protrattosi non poco, anche per le vicissitudini concorsuali del sistema universitario, è soprattutto conseguenza di una scelta personale che Ricci volle esternare con lettere, strettamente autografe, indirizzate a membri del settore naturalistico, in cui spiegava i motivi per cui non voleva staccarsi da Pisa. Nel presentarsi ad un concorso che, finalmente, gli avrebbe permesso di rimanere nella sua città, egli preparò un curriculum didattico-scientifico molto dettagliato che, a posteriori, può considerarsi il testamento filosofico-scientifico di Ricci.

I protisti, complessi organismi unicellulari, hanno rappresentato il principale oggetto di studio eletto da Ricci. Per ampliare le sue conoscenze e confrontare le sue idee in un contesto internazionale si trasferì dal 1977 al 1978 presso l'Università dell'Illinois a Urbana, collaborando con uno dei gruppi di ricerca più importanti a livello mondiale su problemi evolutivisti. Da questa esperienza ricevette il suggello di validità alle sue idee, e quindi un'ulteriore spinta lungo la strada che già, pionieristicamente, aveva cominciato a seguire, cioè lo studio di come si muovono e quale significato adattativo abbiano questi movimenti dei protisti ciliati: organismi microscopici cosmopoliti ed ubiquitari che, a dispetto della loro unicellularità, non hanno niente da invidiare sul piano della complessità a molti animali superiori pluricellulari.

A latere di questo filone, Ricci perseguì altre ricerche concernenti il "differenziamento cellulare a livello morfologico" ed i "meccanismi con cui organismi unicellulari di sesso complementare riescono a riconoscersi ed interagire per garantire alti livelli di variabilità genetica". A parte la varietà degli argomenti, esiste un fattore unificante nella produzione di Ricci, rappresentato da un approccio evolutivista in linea con un suo profondo convincimento, che può essere riassunto dall'assioma di Dobzansky: "Niente ha senso in biologia se non nell'ottica dell'evoluzione."

Punto di riferimento per tutti coloro che in Italia si occupano di protisti, le ricerche di Ricci, unitamente alla sua personalità di studioso, hanno avuto anche larga risonanza internazionale, con continue richieste di conferenze, relazioni a congressi e simposi, offerte di collaborazione e cooptazione nel comitato editoriale e direttivo di prestigiose riviste scientifiche.

I suoi interessi strettamente scientifici non sono stati inferiori a quelli concernenti l'organizzazione della ricerca scientifica e della didattica. Aveva una sua idea dell'Università, ma non si negava al confronto con altre, diverse, visioni. Ha sempre conservato un suo stile, fatto di apertura, di capacità di ascolto, di autentica tolleranza e, al tempo stesso, di gelosa difesa della dignità della professione di docente universitario e di scrupoloso rispetto per i doveri comportamentali che essa impone, o dovrebbe imporre.

Per preparazione, curiosità e letture, Ricci non è stato un ricercatore rinchiuso nel suo campo di specializzazione, il che ha favorito il fascino stimolante della sua didattica. Spendeva per questa molto più di quello che gli veniva richiesto, e vi si dedicava con sempre rinvigorito entusiasmo, tanto che assistere alle sue lezioni era un'esperienza eccitante.

Per completare la figura del Ricci didatta, è bene riportare un brano della commemorazione che gli studenti hanno voluto fare nell'area Biologico-naturalistica: "le sue immagini, suggerite da una fervida fantasia costruttiva, ci facevano raggiungere con facilità anche concetti complessi o comunque cardini del tema trattato. Il suo temperamento giocoso e vulcanico si esprimeva al massimo durante le lezioni preparate con esemplare cura sia dal punto di vista strettamente scientifico, sia da quello didattico, rispetto al quale aveva straordinarie capacità di intuizione e di comunicazione."

La cosa a cui Ricci teneva maggiormente era la "Medaglia Maupas": riconoscimento scientifico attribuito nel 1890 a Maupas, per aver dimostrato la natura mortale dei protisti (mentre l'Enriquez sosteneva che ad invecchiare e morire era il ricercatore e non il protista), successivamente passata a Jennings, Sonneborn e Nanney (questi ultimi due, protistologi con "nominations" per il Premio Nobel), ed infine a Ricci nel 1994.

Congressi di interesse protozoologico, 2000-2001: impressioni, riflessioni

Tavola Rotonda “El origen de las especies”

Madrid, 8-10 Marzo 2001

Il convegno "El origen de las especies" è stato promosso dalla fondazione "la Caixa " che gestisce il recente, modernissimo Museo delle Scienze a pochi chilometri da Madrid. L'organizzazione scientifica è stata affidata a Lynn Margulis. Il convegno era rivolto ad un pubblico qualificato ma non specializzato e si è svolto in inglese ed in spagnolo. I lavori, divisi in tre sezioni: archeozoica, proterozoica e fanerozoica, sono andati avanti per tre giorni densissimi. Nella prima parte Morowitz (USA) ci ha introdotto sulle origini del metabolismo illustrando quali cicli organici si possono essere formati senza enzimi; poi si è trattato della speciazione nei procarioti (se si può davvero parlare di speciazione) di trasferimento orizzontale di geni, della possibile origine della vita nelle profondità della terra (Pedersen, Svezia) e di eucariogenesi su base molecolare (Gupta). Nella seconda parte l' eucariogenesi è stata l'argomento centrale e, naturalmente Lynn Margulis ha tenuto banco proponendo, insieme a M. Dolan, il sistema di organelli da lei definito "cariomastigonte", presente in molti protisti amictocodriati, come precursore del nucleo libero. Nella terza giornata si è parlato soprattutto dell' importanza della simbiosi nell' evoluzione di vari gruppi. Uno studio interessante mi è sembrato quello di Aziz Heddi riguardante l'influenza di batteri simbiotici sulla speciazione di alcuni insetti. I protozoi sono stati affidati a me. Per ovvi motivi (di competenza e di tempo) mi sono limitata ai ciliati.

Giovanna Rosati

Relazione: “Xenosomes, organelles, and origin of the species in Ciliates” presentata da Giovanna Rosati

Ciliates show a unique cellular complexity unmatched by other protistan eukaryotic cells. A series of characters (presence of cilia, nuclear dimorphism, the presence of a mouth, conjugation) are almost constantly present in Ciliates and set them apart from other protozoa.. Nevertheless, they greatly differ from each other not only in their morphological structure, but in their physiological, biochemical, ecological, and behavioral traits, as well. The term "xenosome", originally coined by Soldo (1974) for bacterial symbionts, was extended by Corliss (1985) to the organelles that have been introduced into the cell according to the endosymbiosis theory. The knowledge acquired over the time all indicates that "xenosomes" have played and still play a crucial role in diversifying the ecological niches of Ciliates, and consequently in their speciation. Ciliates are widespread in all natural environments. The great majority of them are aerobic but an anaerobic lifestyle has evolved independently in many unrelated groups ensuring them abundant alimentary resources and a reduced competition. It is now clear that many of these Ciliates can live in anaerobic habitats thanks to ancient as well as present symbiotic associations with bacteria. Indeed these anaerobic ciliates possess hydrogenosomes, organelles with a pathway producing hydrogen. There is increasing evidence in favor of the notion that hydrogenosomes arose from mitochondria rather than descend from different endosymbionts; in any case they are of symbiotic origin and can be considered xenosomes. Many of the anaerobic ciliates also have other organisms living inside and/or attached to their external surfaces. The symbionts belong to three different prokaryotic groups: purple non sulfur photosynthetic bacteria, methanogens bacteria (both living inside the cell), and sulfate-reducing bacteria, living on the surface of the host. All three groups have a common trait: they can consume hydrogen as a substrate. This suggests that the production of H₂ by the ciliates at the hydrogenosomal level is significant in maintaining these symbiotic associations. As the productivity of H₂ evolving fermentation depends on the maintenance of a low H₂ pressure, one could argue that the evolution has favored the retention of these types of functional consortium to increase the efficiency of the anaerobic ciliate metabolism.

Some ciliates completely depend on their endosymbionts. Ciliates of a group of *Euplotes* species are not able to reproduce once deprived of the bacteria they commonly harbor in their cytoplasm. The bacteria, too, belonging to the *Polynucleobacter* genus, cannot survive outside their host; interestingly they have

an extremely reduced genome. They are becoming cellular organelles! This, in all likelihood, is also true for the peculiar photosynthetic symbiont that transformed the planctonic ciliate *Mesodinium rubrum* from etherotroph to autotroph, i.e. from consumer to producer.

Ectosymbiotic associations which originated as an adaptive tool against environmental difficulties, might represent an initial step of some evolutive processes and species differentiation. We studied in detail the case of the sand-dwelling ciliates of the *Euplotidium* genus and their peculiar ectosymbionts, referred to as epixenosomes. These ectosymbionts have a complex life history in which two main stages are recognizable. In stage I they have a typical prokaryotic structure and divide by direct binary fission. Stage II cells show a complex organization, more complex than the majority of prokaryotic organisms. The following structures are always present: 1) an apical dome-shaped zone in which DNA and proteins have been found; 2) the extrusive apparatus, immersed in a proteic matrix different from the remaining cytoplasm, consisting of a coiled ribbon tightly rolled up around a central core; 3) a network of tubules 20-24 nm in diameter, delimited by a wall made up of globular structures, which are sensitive to antitubulin drugs and react positively with antitubulin antibodies. The multiplication and the transformation of epixenosomes from stage I to stage II are correlated with the host cell cycle. Membrane receptors, located at the top of the organism, detect external signals (of an unknown nature). The consequent activation of the adenylate cyclase-cyclic cAMP system triggers the ejection. During the ejection, the ribbon of the extrusive apparatus unrolls from the inside and forms a hollow tube about 40 µm long. It terminates with a "head" mainly consisting of the genetic material of the epixenosome.

The nature of epixenosomes has only recently been recognized by means of comparative sequence analysis of amplified small subunit rRNA genes and in situ hybridization with fluorescently labelled rRNA probes: they are bacteria phylogenetically related to *Verrucomicrobia*. Epixenosomes are to date the first report of symbionts in this recently discovered bacterial division.

This symbiotic association appears constant in nature. In the laboratory *Euplotidium* stocks tend to lose epixenosomes when moderate starvation slows their cell cycle. The lack of epixenosomes does not modify either the behavior or the fission rate of the ciliate. This observation led us to hypothesize that, in the natural environment, the presence of the ectosymbionts might play a crucial role, such as a defense against predators. This hypothesis was experimentally verified by comparing the behavior of the raptorial feeding ciliate *Litonotus lamella* when preying upon *E. itoi* without epixenosomes and *E. itoi* with epixenosomes.

The results obtained strongly support the hypothesis that epixenosomes provide their host with an efficient defensive tool against predation and that the extrusive apparatus is involved in this matter. Thus ectosymbionts play a role that, in other Ciliates, is played by specific cellular organelles such as trichocysts and other extrusomes. One may even speculate about whether epixenosome-like organisms, internalized and genetically integrated with the host, have given rise to some kinds of extrusomes.

Seminario “Light-material interaction: medical and environmental applications”

Gafsa, 18 Maggio 2001

Nella nuovissima Faculté des Sciences di Gafsa (République Tunisienne), situata all’inizio del deserto del Sahara, si è tenuto il Seminario “Light-Material Interaction: medical and environmental applications”, sotto la supervisione del Rettore dell’Université de Sfax pour le Sud. Vi partecipavano ricercatori delle Università di Tunisi, Gafsa, Gabès e Padova. Il tema del Seminario riguarda problematiche particolarmente importanti per la Biologia e la Medicina, che prendono in considerazione le interazioni di tipo diretto tra luce di determinata lunghezza d’onda e le cellule o i tessuti e quelle di tipo indiretto, in cui la luce eccita molecole che trasferiscono l’energia dovuta all’eccitazione alle cellule o ai tessuti. In particolare, sono state considerate alcune importanti applicazioni della fotobiologia nella fotochemioterapia dei tumori, in agricoltura con l’uso degli insetticidi fotoattivabili e nel trattamento delle acque di scarico. Pigmenti, quali le porfirine e le ftalocianine, sono in grado di innescare reazioni di fotosensibilizzazione che possono avere effetti drastici sulle cellule. A questo proposito si è discusso anche sulla possibilità di fotodistruzione di protozoi parassiti, quali *Giardia intestinalis* ed *Entamoeba histolytica*, presenti in considerevoli concentrazioni nelle acque di scarico dei paesi africani, alla luce dei promettenti risultati ottenuti in laboratorio su protozoi normalmente presenti in acqua dolce e al fine di poter effettuare una prima depurazione delle acque destinate all’agricoltura.

Olimpia Coppellotti

XI International Congress of Protozoology

Salisburgo, 15-19 Luglio 2001

Questo congresso doveva tenersi a Gerusalemme: quattro anni fa la scelta fu quella di partecipare alla grande scommessa sulla pace in Medio Oriente ed alla rinata internazionalizzazione di questa città. Ma il fallimento delle trattative di pace tra Israeliani e Palestinesi a Camp David ed il rapido deteriorarsi della situazione hanno indotto gli organizzatori a cambiare sede. In tempo di record è stata messa in piedi una organizzazione che ha permesso di accogliere nella tranquilla cittadina austriaca 380 partecipanti da 47 Paesi (il gruppo dei protozoologi italiani, 23, era tra i più numerosi).

Nutrito il programma scientifico, con 5 letture plenarie, 13 simposi, 14 sessioni con 133 comunicazioni orali e 152 poster. Simposi e sessioni hanno praticamente coperto ogni area della moderna protozoologia di base e applicata (cioè ecologia, tossicologia e parassitologia). Un appunto: ancora una volta l'organizzazione degli argomenti non ha seguito un criterio di tipo orizzontale: così, sessioni a carattere generale quali *Cell Biology*, *Physiology*, *Cell Structure* e *Molecular Biology* hanno incluso solo determinati organismi "free living" (soprattutto *Tetrahymena*, *Paramecium* ed *Euplotes*). Per converso, molti protozoi parassiti sono stati inclusi in sessioni monografiche identificate dal nome generico (*Trypanosomes & Leishmania*, *Plasmodium*, ecc.) o dalla patologia associata (*Malaria*, *Toxoplasmosis*, ecc.). Ciò ha drasticamente diviso i congressisti in due o tre tronconi principali, che finivano per incontrarsi solo ai coffee breaks e solo quando le sessioni terminavano in maniera sincronizzata!

Tra i pochi simposi "trasversali" è stato molto interessante quello su *Biodiversity*. Sono state fornite visioni di insieme di tipo filogenetico/evolutivo molto aggiornate e utili per i cultori di tutte le branche della protozoologia. Molto istruttivo il dibattito sul numero stimato di specie all'interno dei vari taxa (un esempio: le specie dei ciliati a vita libera, sono 3.000 o 30.000?), che raramente perverrà ad una conclusione in tempi ragionevoli!

Non poteva mancare la vera novità del congresso (almeno secondo il parere del parassitologo), cioè la presentazione di risultati scaturiti dai vari progetti di "genoma sequencing" che si sono appena conclusi, o che sono in fase di completamento. Questi hanno interessato organismi quali *Encephalitozoon cuniculi*, *Plasmodium falciparum*, *Leishmania major*, *Trypanosoma brucei* e *T. cruzi*. Assolutamente sconvolgente (per chi ha rincorso per anni un singolo gene di *Leishmania*) l'informazione che, con adeguati fondi, le attuali potenzialità permettono di sequenziare e parzialmente interpretare un'intero genoma di protozoo nell'arco di qualche mese. Si tratta ovviamente di potenzialità possedute solo da imprese private "high tech" in grado di convogliare grossi investimenti. Sembra però che a noi, che lavoriamo in strutture pubbliche di ricerca povere per definizione, qualcosa ci sia rimasto da fare: per esempio l'analisi funzionale di tutto questo materiale, il che non è poco.

Luigi Gradoni

Nuovi Soci

Durante il XXI Convegno Nazionale della S.I.P. a Casalmaggiore, l'Assemblea dei Soci ha approvato la proposta di ammissione nella S.I.P. dei richiedenti: Dott. Federico Buonanno (Dipartimento di Biologia Molecolare, Cellulare, Animale, Camerino), Prof.ssa Carla Falugi (Dipartimento di Biologia Sperimentale, Ambientale e Applicata, Genova), Dott.ssa Michela Menegon (Istituto Superiore di Sanità, Laboratorio di Parassitologia, Roma), Dott.ssa Francesca Perandin (Istituto di Microbiologia, Spedali Civili, Brescia) Dott. Giuseppe Ravizzola (Istituto di Microbiologia, Spedali Civili, Brescia) Dott.ssa Anna Rosa Sannella (Istituto Superiore di Sanità, Laboratorio di Parassitologia, Roma). Ai nuovi Soci, un caloroso augurio di benvenuto e di buon lavoro da parte della Redazione di questo Notiziario.

Invito ai Soci a fornire il proprio indirizzo di Posta elettronica

E' questo un invito ai Soci a fornire alla Segreteria della nostra Società i propri indirizzi di posta elettronica in modo da garantire uno scambio di informazioni tra gli Associati più efficace, rapido e meno costoso se paragonato a quelli tradizionali.

Qui di seguito, è inserito un terzo parziale elenco di indirizzi di posta elettronica di alcuni soci S.I.P. Gli indirizzi sono stati in parte tratti dalla home page della Società americana di Protozoologia (indirizzo: <http://www.uga.edu/protozoa/>) e in parte provengono da scambi informali interpersonali.

Indirizzi di Posta elettronica dei Soci: quinto elenco parziale

Cognome	Nome	Indirizzo E-mail personale	Indirizzo E-mail Istituzione	
Albergoni	Vincenzo	biopod09@bio.unipd.it		Padova
Angelici	M. Cristina	angelici@iss.it		Roma
Banchetti	Rosalba	rbanchetti@deee.unipi.it		Pisa
Brandonisio	Olga	brandoni@cimedoc.uniba.it		Bari
Calderaro	Adriana		Micromed@ipruniv.cce.unipr.it	Parma
Cappuccinelli	Piero		Microb@ssmain.uuiss.it	Sassari
Chessa	M. Giovanna	gchessa@dipteris.unige.it		Genova
Coppellotti	Olimpia	olimpiak@civ.bio.unipd.it		Padova
Corrado	M. Umberta	corrado@dipteris.unige.it		Genova
Dettori	Giuseppe	giuseppe.dettori@unipr.it	Micromed@ipruniv.cce.unipr.it	Parma
Dini	Fernando	f.dini@deee.unipi.it		Pisa
Falugi	Carla	falugi@unige.it		Genova
Fiori	Luigi	fioripl@ssmain.uniss.it		Sassari
Frontali	Clara	frontali@iss.infn.it		Roma
Galati	Lucia		Micromed@ipruniv.cce.unipr.it	Parma
Gradoni	Luigi	gradoni@iss.it		Roma
Gramiccia	Marina	gramicci@iss.it		Roma
Guidolin	Laura	guidolin@civ.bio.unipd.it		Padova
Irato	Paola	pirato@ux1.unipd.it		Padova
La Rosa	Giuseppe	larosa@iss.it		Roma
Luporini	Pierangelo	luporini@cambio.unicam.it		Camerino
Madoni	Paolo	madoni@dsa.unipr.it		Parma
Majori	Giancarlo	majori@iss.it		Roma
Mattana	Antonella		Dsfanto@ssmain.uniss.it	Sassari
Miceli	Cristina	miceli@cambio.unicam.it		Camerino
Paleari	Laura	paleari@ermes.cba.unige.it		Genova
Piccinni	Ester	piccinni@civ.bio.unipd.it		Padova
Politi	Huguette	huguettep@hotmail.com		Genova
Pozio	Edoardo	pozio@.iss.it		Roma
Ramoino	Paola	ramoino@dipteris.unige.it		Genova
Rosati	Giovanna	rosatig@deee.unipi.it		Pisa
Rossi	Patrizia	rossi@iss.it		Roma
Severini	Carlo	severini@iss.it		Roma
Tagliafierro	Grazia	tgfgra@unige.it		Genova
Trielli	Francesca	frabarb@hotmail.com		Genova
Valbonesi	Alessandro	valbo@cambio.unicam.it		Camerino
Verni	Franco	f.verni@deee.unipi.it		Pisa
Viani	Isabella		Micromed@ipruniv.cce.unipr.it	Parma
Viarengo	Aldo	viarengo@al.unipmn.it		Genova

Prossimi Convegni

8-10 Novembre 2001 – 3° Congresso Nazionale Società Italiana di Medicina Tropicale (SIMET) e Società Italiana di Medicina dei Viaggi e delle Migrazioni (SIMVIM), Firenze, www.tropcongr.unifi.it

11-14 Giugno 2002 – XXII Congresso Nazionale Società Italiana di Parassitologia (SOIPA), Torino, www.veter.unito.it

2003 – 4th European Congress of Protistology and 10th European Conference on Ciliate Biology, Italia.

2005 – XII International Congress of Protozoology, Cina.

Agenda

ANNO	MESE	Promemoria dei Soci
2002	2	I Soci sono tenuti a versare la quota sociale entro il primo bimestre di ogni esercizio finanziario. Termine ultimo: 28-2.
	9-10	XXIII Convegno Nazionale SIP
	12	31-12 - Chiusura Esercizio Finanziario 2002 - Preparazione Bilancio Consuntivo 2002 - Preparazione Bilancio Preventivo 2003

Selezione bibliografica

Explore the World Using Protozoa. Edited by O.R. Anderson and M. Druger. Arlington, VA, National Science Teachers Association, Lawrence, KS, Society of Protozoologists, US\$ 29.95.

W. Peters and G. Pasvol. *Tropical Medicine and Parassitology*, 5th Edition, Harcourt Health Sciences, 2001.

F. Bernieri, D. Crotti, D. Galli, A. Raglio. *Manuale Illustrato di Diagnostica Parassitologica*, Centro Stampa Olgiati, Legnano, 2001.

D.J. Patterson and M.A. Burford. *Guide to Protozoa of Marine Aquaculture Ponds.* The University of Sydney /CSIRO Marine Research, CSIRO PUBLISHING, June 2001, US\$ 29.95.

Fertilization in Protozoa and Metazoa Animals: Cellular and Molecular Aspects. J.J. Tarin and A. Cano, Springer Verlag, October 2000, US\$ 137.95.

The Illustrated Guide to the Protozoa II. Edit by Society of Protozoologists, 2002, US\$ 135.