

NOTIZIARIO

DELLA

SOCIETÀ ITALIANA DI PROTOZOOLOGIA



o GENNAIO - DICEMBRE 2006 o

o ANNO 11, 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 2004-2006

F. Verni, Pisa	Presidente
M.U. Corrado, Genova	Segretario - Tesoriere
C. Miceli, Camerino	Consigliere
P. Rappelli, Sassari	Consigliere
D. Savoia, Torino	Consigliere

Collegio dei Revisori dei conti 2004-2006

F. Trielli, Genova	Membro effettivo
A. Vallesi, Camerino	Membro effettivo

Segreteria

Prof.ssa Maria Umberta Corrado
Dipartimento per lo Studio del Territorio e delle sue Risorse (DIP.TE.RIS.)
C.so Europa 26
I-16132 Genova
Tel.: 010/3538031 Fax: 010/3538209
e-mail: corrado@dipteris.unige.it

Notiziario S.I.P.

Comitato di Redazione: O. Coppelotti, M.U. Corrado, G. Dettori, F. Dini, M. Gramiccia, P. Luporini, P. Madoni, F. Trielli.

In questo numero

Il Punto (Comitato di Redazione)

Iniziativa della Società Italiana di Protozoologia a favore di giovani studiosi cultori della disciplina

- Premio 'Nobili-Franceschi 2006'
Compendio della Tesi di Laurea vincitrice *ex aequo*:
- Dott.ssa Francesca Sifredi (Genova)

- Invito per l'anno 2008

Dottorato di Ricerca

Compendio della Tesi di Dottorato:
- Dott. Andrea Amaroli (Genova)

- Invito per l'anno 2007 (M.U. Corrado, F. Dini)

Proposte di Borse Post-dottorato

Congressi di interesse protozoologico 2005/2006: impressioni, riflessioni

- XIth International Meeting on the Biology and Pathogenicity of Free-Living Amoebae, České Budějovice, Repubblica Ceca, Settembre 2005 (O. Coppelotti)
- XXV Convegno Nazionale S.I.P., Castiglioncello, Ottobre 2005 (F. Verni)
- Convegno Simbiosi (Rosati)
- XXVI Convegno Nazionale S.I.P., Macerata, Giugno/Luglio 2006 (C. Ortenzi)
- I Convegno Toxo & Food, Palermo, Maggio 2006 (M. C. Angelici)
- IIIth International Symposium on Testate Amoebae, Anversa, Settembre 2006 (O. Coppelotti)

Indirizzi di posta elettronica dei Soci

Prossimi Convegni

Agenda

Selezione bibliografica

Il Punto

L'undicesimo numero del Notiziario esce a distanza rispetto alla data del XXVI Convegno della Società Italiana di Protozoologia, che ha avuto luogo il 30 giugno e il 1 luglio a Macerata.

Nell'ambito delle iniziative della Società Italiana di Protozoologia a favore di giovani studiosi cultori della disciplina, questa edizione del Premio 'Nobili-Franceschi 2006' è stata caratterizzata, come la precedente, da un'ampia partecipazione di Tesi di Laurea discusse in diversi Atenei italiani. Vincitrici *ex aequo* del Premio, conferito dal Consiglio Direttivo della Società nel corso del XXVI Convegno a Macerata, sono state le Tesi di Laurea del Dott. Luca Ballatori (Pisa, Relatori: Prof. Franco Verni e Dott.ssa Cinzia Ceppatelli) e della Dott.ssa Francesca Sifredi (Genova, Relatori: Prof.ssa Maria Umberta Corrado e Dott.ssa Francesca Trielli). In questa occasione, ospitiamo il compendio della Tesi di Laurea della Dott.ssa Francesca Sifredi.

Per la prossima edizione del Premio 'Nobili-Franceschi 2008', verranno prese in considerazione le Tesi di Laurea discusse nel periodo compreso tra Maggio 2006 e Aprile 2008. A questo proposito, viene rinnovato l'invito ai Relatori di Tesi di Laurea Specialistica di argomento protistologico a inviare una copia delle Tesi che intendono candidare al Premio.

Nella sezione dedicata ai Dottorati di Ricerca, presentiamo il compendio della Tesi di Dottorato del Dott. Andrea Amaroli (Genova).

Le proposte di Borse Post-dottorato si riferiscono all'offerta della Prof.ssa Emily Wiley (Claremont, CA), della Prof.ssa Rebecca Zufall (Huston, TX) e della prof.ssa Laura Landweber (Princeton, NJ) per candidati che vogliano svolgere attività di ricerca nel campo della biologia molecolare dei protisti.

Per quanto riguarda i Congressi 2005/2006, un resoconto del XIth International Meeting on the Biology and Pathogenicity of Free-Living Amoebae, České Budějovice, Repubblica Ceca, Settembre 2005 e del III International Symposium on Testate Amoebae, Anversa, Settembre 2006 viene presentato dalla Prof.ssa Olimpia Coppellotti, e una relazione sul I Convegno Toxo & Food, Palermo, Maggio 2006 dalla Dott.ssa Maria Cristina Angelici.

Gli organizzatori del XXV e del XXVI Convegno della SIP, rispettivamente, Prof. Franco Verni e Prof. Claudio Ortenzi, riferiscono le loro impressioni.

Nelle ultime pagine del Notiziario è riportato l'elenco degli indirizzi di posta elettronica dei Soci. Chi riscontrasse errori nell'indirizzo, è invitato a contattare la Segreteria della Società.

Come di consueto, il Notiziario si chiude con la segnalazione dei prossimi Congressi di interesse per i Soci, l'agenda e una breve selezione bibliografica.

Inoltre, ci sembra opportuno ricordare in questa sede la composizione del nuovo consiglio direttivo per il biennio 2007/2008 che deriva dall'esito delle elezioni appena concluse. Presidente è confermato il Prof. Franco Verni (Pisa); Consiglieri: Prof.ssa Maria Umberta Corrado (Genova), Dott.ssa Maria Cristina Angelici (Roma), Prof.ssa Adriana Vallesi (Camerino) e Dott. Giulio Petroni (Pisa); Revisori dei Conti: Dott.ssa Francesca Trielli e Dott. Andrea Amaroli (Genova).

A tutti, l'augurio di buon lavoro.

Per il Comitato di Redazione

Maria Umberta Corrado

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

Premio 'Nobili-Franceschi 2006'

Alla Segreteria della S.I.P. sono pervenute le seguenti Tesi di Laurea candidate al premio Nobili-Franceschi 2006 per la migliore Tesi di argomento protistologico discussa nel periodo tra Maggio 2004 e Aprile 2006.

- Dott. Luca Ballatori, Laurea in Scienze Biologiche, Università degli Studi di Pisa
"Spirostomum teres e Daphnia magna. Bioindicatori a confronto per l'analisi ecotossicologica delle acque e sviluppo di una nuova tecnica investigativa".
Relatori: Prof. Franco Verni, Dott.ssa Cinzia Ceppatelli
- Dott.ssa Lara Mangini, Laurea in Scienze Biologiche, Università degli Studi di Pisa
"Caratterizzazione molecolare, filogenesi e distribuzione spaziale di alcuni protozoi marini interstiziali appartenenti alla classe dei Karyorelictea".
Relatori: Prof. Giovanni Santangelo, Dott. Giulio Petroni
- Dott.ssa Giorgia Mantero, Laurea in Scienze Biologiche, Università degli Studi di Genova
"Individuazione di molecole correlate all'enzima ossido nitrico sintetasi in Paramecium primaurelia".
Relatori: Prof.ssa Maria Umberta Corrado, Dott. Andrea Amaroli
- Dott. Emilio Mura, Laurea in Scienze Biologiche, Università degli Studi di Sassari
"Studio dell'espressione di geni putativamente coinvolti nell'RNA interderence in Trichomonas vaginalis".
Relatore: Prof. Pier Luigi Fiori
- Dott.ssa Paola Polonia, Laurea in Scienze Biologiche, Università degli Studi di Pisa
"Nuove indagini su particolari batteri simbiotici di ciliati del genere Euplotidium. Proposta di Candidatus Epixenosoma ejectans gen.nov, spec nov."
Relatore Prof.ssa Giovanna Rosati
- Dott.ssa Maurica Ricci, Laurea in Scienze Biologiche, Università degli Studi di Pisa
"Litonotus-Euplotes: un modello di comunicazione cellulare. Isolamento e determinazione delle proteine target".
Relatori: Prof. Franco Verni, Dott. Massimo Masetti
- Dott.ssa Francesca Sifredi, Laurea in Scienze Ambientali, Università degli Studi di Genova
"Effetti di composti xenobiotici sulle attività cellulari di Euplotes crassus, protista ciliato della microfauna interstiziale marina".
Relatori: Prof.ssa Maria Umberta Corrado, Dott.ssa Francesca Trielli

Nel corso del XXVI Convegno della Società Italiana di Protozoologia, che si è tenuto a Macerata, 30 Giugno-1 Luglio 2006, è stato assegnato dalla Commissione esaminatrice costituita dal Consiglio Direttivo della S.I.P. il Premio 'Nobili-Franceschi', istituito in onore del Prof. Renzo Nobili (Pisa) e della Prof.ssa Tina Crippa Franceschi (Genova), due dei fondatori della Società, alla miglior Tesi di Laurea di argomento protistologico discussa nel periodo tra Maggio 2004 ed Aprile 2006. Vincitori *ex aequo* sono stati il Dott. Luca Ballatori e la Dott.ssa Francesca Sifredi.

In questa edizione del Notiziario riportiamo un compendio della Tesi della Dott.ssa Francesca Sifredi.

**Compendio della Tesi di Laurea della Dott.ssa Francesca Sifredi,
vincitrice del premio ‘Nobili-Franceschi 2006’**

“Effetti di composti xenobiotici sulle attività cellulari di *Euplotes crassus*, protista ciliato della microfauna interstiziale marina”

Tesi discussa il 20 Marzo 2006

Università degli Studi di Genova

Relatori: Prof.ssa Maria Umberta Corrado, Dott.ssa Francesca Trielli

La premessa di questo lavoro di Tesi si riferisce alla possibilità di utilizzare ciliati marini come saggi biologici per lo “screening” pre-chimico dei sedimenti delle zone costiere ed estuariali. Tali zone sono sottoposte ad una forte pressione antropica e considerate a rischio di inquinamento a causa della continua immissione di scarichi urbani e fluviali di origine agricola o industriale.

La maggior parte dei composti xenobiotici, quali detergenti, pesticidi e metalli pesanti, è in grado di alterare la vitalità e il ritmo riproduttivo delle cellule esposte, determinando effetti citotossici a lungo termine. I pesticidi organofosforici sono potenziali inibitori dell'enzima acetilcolinesterasi (AChE), l'enzima litico del sistema neurotrasmettitore colinergico che presiede, attraverso l'invio di un messaggero chimico l'acetilcolina (ACh), alla trasmissione dell'impulso nervoso negli Insetti e negli organismi più evoluti. L'enzima AChE rimuove rapidamente l'ACh dal recettore, idrolizzandola a colina e gruppo acetato, in modo da rendere il recettore disponibile a una nuova stimolazione.

Altri composti xenobiotici, quali i metalli pesanti e i composti organoclorurati, possono determinare la destabilizzazione delle membrane dei lisosomi, organelli-compartmento della cellula eucariotica, attuando processi degradativi (di natura idrolitica) e giocando un ruolo chiave nel trasporto intracellulare di macromolecole, come il “sequestro” di inquinanti organici, inorganici e dei loro metaboliti.

I saggi di tossicità in laboratorio assumono un ruolo fondamentale in quanto forniscono informazioni utili per identificare, già in una prima fase, situazioni che richiedono un'indagine più approfondita. Sotto questo profilo, sta diventando sempre più importante l'individuazione di organismi alternativi ai macroinvertebrati e vertebrati, i cui meccanismi di

risposta a perturbazioni ambientali siano diretti e sensibili. In quest'ottica, numerose specie di protisti si configurano come biomodelli di eccellenza, per lo sviluppo di nuove tecnologie ambientali.

In questo lavoro di Tesi ho esaminato gli effetti di alcuni composti xenobiotici sulle attività cellulari di *Euplotes crassus*, protista ciliato della microfauna interstiziale marina della zona intertidale.

A tale scopo ho preso in esame un fitofarmaco neurotossico organofosforico, il basudin, usato in agricoltura come insetticida polivalente ad azione citotropica, alle concentrazioni di 0,1 µl/l, 1 µl/l, 10 µl/l, 100 µl/l, 1 ml/l e 10 ml/l; un fitofarmaco organoclorurato, l'AFD25, un efficace acaricida, alle concentrazioni di 0,33 µg/ml, 3,3 µg/ml, 33 µg/ml, 330 µg/ml, 3,3 mg/ml e 33 mg/ml; un metallo pesante assai tossico, il mercurio, alle concentrazioni di 0,1 µM, 0,25 µM, 0,5 µM, 1 µM, 2 µM e 5 µM; miscele di tali composti xenobiotici a diverse concentrazioni, ossia MIX 1 contenente basudin 1µl/l, AFD25 3,3 µg/ml e mercurio 0,25 µM; MIX 2 contenente basudin 0,1 µl/l, AFD25 0,33 µg/ml e mercurio 0,1 µM; MIX 3 contenente basudin 1 µl/l e AFD25 3,3 µg/ml.

Dapprima, ho studiato l'effetto di tali composti sulla vitalità cellulare osservata dopo 60 minuti e 24 ore di esposizione; in una seconda fase, ne ho osservato l'influenza sul ritmo riproduttivo, rilevato dopo 24 e 48 ore di esposizione ai composti, per valutarne l'effetto citotossico nel tempo.

I risultati di una serie di indagini precedenti avevano dimostrato la presenza di molecole funzionalmente correlate ai sistemi trasmettitori colinergico in *Paramecium primaurelia* e *Dictyostelium discoideum* (Trielli et al., 1997; Delmonte Corrado et al., 1999, 2001, 2005; Falugi et al., 2002; Amaroli et al., 2003, 2005). Recentemente, i risultati di un lavoro di Tesi hanno dimostrato la presenza in *E. crassus* di

attività di AChE, che è stata caratterizzata utilizzando inibitori specifici e variando parametri chimico-fisici, quali pH e temperatura.

Considerando che l'inibizione delle attività di colinesterasi (ChE) rappresenta un "biomarker" specifico dell'esposizione ai fitofarmaci neurotossici (Sultatos, 1994; Fulton e Key, 2001; Sarker et al., 2006), ho utilizzato l'attività di AChE di *E. crassus* come marcatore di stress chimico dovuto alla presenza di molecole anticolinergiche, quali il basudin. Inoltre, poiché l'alterazione delle attività di ChE può essere indicatore di uno stato generale di stress indotto da classi di inquinanti ambientali diverse dai fitofarmaci neurotossici (Guilhermino et al. 1998), ho misurato, per via spettrofotometrica, l'attività di AChE di colture cellulari di *E. crassus* dopo esposizione *in vivo* a AFD25, mercurio o miscele di basudin, AFD25 e mercurio.

Infine, ho valutato l'effetto dell'esposizione a basudin, AFD25, mercurio e miscele di tali composti sulla stabilità delle membrane lisosomiali che rappresenta un biomarker generale di condizioni di stress dovute ad accumulo di sostanze xenobiotiche (Moore, 1990; Viarengo e Nott, 1993; Lowe e Pipe, 1994).

I risultati delle analisi condotte hanno dimostrato elevata sensibilità di *E. crassus* all'esposizione a ridotte concentrazioni dei fitofarmaci utilizzati, che producevano effetti significativi sia sulla vitalità cellulare, che sul ritmo riproduttivo.

E' interessante osservare che la dose di basudin consigliata dalla Ditta distributrice (Ciba-Geigy) è di 1,5-3 ml/l, mentre i nostri risultati indicano che la dose di basudin letale per il 50% della popolazione (LC_{50}) è di 1 μ l/l e di 0,39 μ l/l, rispettivamente, dopo 60 minuti e 24 ore di esposizione. La LC_{50} per l'AFD25 è, di 104,5 μ g/ml e di 4,88 μ g/ml, rispettivamente, dopo 60 minuti e 24 ore di esposizione, mentre la dose consigliata dalla Ditta distributrice (CIFO) è di 3-4 mg/ml. Pur considerando la notevole diluizione che si verifica in ambiente marino, la LC_{50} che risulta dai nostri dati appare essere fino a 3.000 volte inferiore alla dose consigliata.

Anche l'esposizione a metalli pesanti, quali il mercurio, produceva effetti significativi sulla vitalità e sul ritmo riproduttivo di *E. crassus*, osservabili già a concentrazioni molto ridotte. I risultati hanno individuato la LC_{50} alla concentrazione di 0,93 μ M per 60 minuti di esposizione e di 0,33 μ M per 24 ore, valori che risultano compresi nel range di tolleranza al mercurio (0,2 μ M-0,65 μ M) espresso da una serie di ceppi di *E. crassus* (Dini, 1981).

Le analisi spettrofotometriche (Ellman et al., 1961) hanno evidenziato inibizione significativa dell'attività di AChE, in seguito ad esposizione a basudin (0,1 μ l/l e 1 μ l/l) e a AFD25 (3,3 μ g/ml), e aumento dell'attività enzimatica in seguito ad esposizione a mercurio (0,5 μ M e 1 μ M). L'ultimo risultato è in accordo con quanto suggerito per i metazoi da alcuni autori (Payne et al., 1996), secondo i quali l'incremento dell'attività di AChE può indicare una condizione generale di stress indotta da inquinanti ambientali. Tale aumento potrebbe essere correlato con l'attivazione di forme pesanti a elevata attività, come osservato per il sistema esterasi del crostaceo *Callinassa thyrrena* dopo esposizione a mercurio (Thaker e Haritos, 1989) o a un processo di polimerizzazione di forme monomeriche e dimeriche di tale enzima dovuto, a sua volta, a un aumento della concentrazione di Ca^{2+} intracellulare, come riportato in colture di cellule di mammifero (De La Porte et al., 1984; Day e Greenfield, 2002). In effetti è stato osservato che l'esposizione a mercurio causa in *E. crassus* un aumento della concentrazione di Ca^{2+} citosolico (Viarengo et al., 1996).

Infine, il Neutral Red Retention Assay, metodo citochimico per la valutazione della stabilità delle membrane lisosomiali (Lowe et al., 1992), ha evidenziato che l'AFD25 e il mercurio determinavano destabilizzazione delle membrane con conseguente rilascio del colorante dai lisosomi, in accordo con i risultati ottenuti su organismi marini esposti a metalli pesanti e composti organoclorurati (Lowe e Pipe, 1994; Marchi et al., 2004; Fernandez Freire et al., 2005).

Di particolare interesse sono i risultati relativi all'esposizione a miscele di composti xenobiotici, poiché nell'ambiente generalmente si verifica presenza contemporanea di numerose sostanze eterogenee potenzialmente tossiche che, agendo simultaneamente sulla popolazione naturale, possono creare antagonismi, sinergie ed effetti additivi. Gli effetti osservati su *E. crassus* esposto a MIX1, MIX2 e MIX3 sono apparsi difficilmente prevedibili sulla base di quelli osservati dopo l'esposizione ai singoli composti.

Concludendo, i risultati dei saggi di tossicità, eseguiti con basudin, AFD25 e mercurio hanno individuato in *E. crassus* un valido saggio biologico, da affiancare ad altri organismi in batterie di biotest per il monitoraggio degli ambienti marini costieri, utilizzabile per lo "screening" pre-chimico dei sedimenti delle zone costiere ed estuariali e per individuare eventuali situazioni di contaminazione dovute alla presenza di fitofarmaci organofosforici ed organoclorurati e di metalli pesanti.

Riferimenti bibliografici

- Amaroli A., Gallus L., Passalacqua M., Falugi C., Viarengo A., Delmonte Corrado M.U. (2003). *Europ. J. Protistol.*, 39: 213-222.
- Amaroli A., Trielli F., Falugi C., Delmonte Corrado M.U. (2005). *Notiziario dei Metodi Analitici IRSA/CNR*, 8-16.
- Day T., Greenfield S.A. (2002). *Neuroscience*, 111: 649-656.
- De La Porte S., Vigny M., Massoulié J., Koenig J. (1984). *Dev. Biol.*, 106: 450-456.
- Delmonte Corrado M.U., Politi H., Trielli F., Angelini C., Falugi C. (1999). *J. Exp. Zool.*, 283: 102-105.
- Delmonte Corrado M.U., Politi H., Ognibene M., Angelini C., Trielli F., Ballarini P., Falugi C. (2001). *J. Exp. Biol.*, 204: 1901-1907.
- Delmonte Corrado M.U., Trielli F., Amaroli A., Ognibene M., Falugi C. (2005). In: *Water Pollution: New Research. Vol. 1.* A.R. Burk (ed.), Nova Science Publishers, Hauppauge, NY, USA, 181-200.
- Dini F. (1981). *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 4: 195-202.
- Ellman J.L., Curtney K.D., Andres V., Featherstone R.M. (1961). *Biochem. Pharm.*, 7: 88-95.
- Falugi C., Amaroli A., Evangelisti V., Viarengo A., Delmonte Corrado M.U. (2002). *Chemosphere*, 48: 407-414.
- Fernandez Freire P., Labrador V., Perez Martin J.M., Hazen M.J. (2005). *Toxicology*, 210: 37-44.
- Fulton M.H., Key P.B. (2001). *Environ. Toxicol. Chem.*, 20: 37-45.
- Guilhermino L., Barros P., Silva M.C., Soares A.M.V.M. (1998). *Biomarkers*, 3: 157-163.
- Lowe D.M., Moore M.N., Evans B.M. (1992). *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 91: 135-140.
- Lowe D.M. e Pipe R.K. (1994). *Aquat. Toxicol.*, 30: 357-365.
- Marchi B., Burlando B., Moore M.N. e Viarengo A. (2004). *Aquatic Toxicology*, 66: 197-204.
- Moore M.N. (1990). *Histochem. J.*, 22: 187-191.
- Payne J.F., Mathieu A., Melvin W., Fancey L.L. (1996). *Mar. Poll. Bull.*, 32: 225-231.
- Sarkar A., Ray D., Shrivastava A.N., Sarker S. (2006). *Ecotoxicol.*, 15: 333-340.
- Sultatos L.G. (1994). *J. Toxicol. Environ. Health.*, 43: 271-289.
- Thaker A.A., Haritos A.A. (1989). *Comp. Biochem. Physiol.*, 94C: 199-205.
- Trielli F., Politi H., Falugi C., Delmonte Corrado M.U. (1997). *J. Exp. Zool.*, 279: 633-638.
- Viarengo A., Nott J.A. (1993). *Comp. Biochem. Physiol.*, 104C: 355-372.
- Viarengo A., Accomando R., Ferrando I., Beltrame F., Fato M., Marcenaro G. (1996). *Comp. Biochem. Physiol.*, 113C: 161-168.

Invito per l'anno 2008

I relatori di Tesi di Laurea Specialistica (quinquennale) di argomento protistologico, discusse nel periodo tra Maggio 2006 e Aprile 2008, sono invitati a far pervenire entro il 31 Maggio 2008 una copia delle Tesi che intendono proporre per il Premio 'Nobili-Franceschi 2008', alla Segreteria della Società. Le Tesi possono essere inviate sotto forma elettronica (.pdf/.doc o CDrom) oppure cartacea.

Dottorati di Ricerca

Come di consueto, vengono presentati i compendi delle Tesi di Dottorato di Ricerca di argomento protistologico. All'iniziativa quest'anno ha aderito il Dott. Andrea Amaroli (Genova).

Dottorato di Ricerca in Scienze Ambientali (Scienza del Mare) (XVIII ciclo, borsa finanziata dalla Regione Liguria)

Tesi di Dottorato

“Valutazione tossicologica della presenza di fitofarmaci neurotossici nelle acque delle zone estuariali della Liguria, utilizzando il protista *Dictyostelium discoideum*”

(Tesi discussa il 26/05/06; tutore Prof.ssa Gabriella Gallo, co-tutore Prof.ssa Maria Umberta Corrado)

Andrea Amaroli

Dipartimento per lo Studio del Territorio e delle sue Risorse, Università degli Studi di Genova

Nelle ultime due decadi l'uso intensivo di fitofarmaci neurotossici, quali i composti organofosfati e carbammati, ha determinato numerosi problemi ecotossicologici, quali l'intossicazione acuta degli operatori e l'avvelenamento degli organismi non-target, sia del suolo che delle acque interne e costiere (Walker et al 2001). La tossicità principale di queste sostanze è dovuta all'inibizione dell'attività di acetilcolinesterasi (AChE), l'enzima litico del sistema neurotrasmettitore colinergico, che rappresenta un “biomarker” specifico dell'esposizione a tali composti (Kennedy, 1991).

Recentemente, la “US Environmental Protection Agency” e la “Organisation for Economic Co-operation and Development” hanno sollecitato l'individuazione di “modelli alternativi”, ossia di sistemi sperimentali che non coinvolgano l'utilizzo di macroinvertebrati e vertebrati, i cui meccanismi di risposta a perturbazioni ambientali siano diretti e sensibili. In quest'ottica, molte specie di Protisti si configurano come validi strumenti per lo sviluppo di nuove tecnologie ambientali.

In studi precedenti, è stata individuata l'attività di AChE in *Paramecium primaurelia*, espressa in relazione alle fasi del ciclo di sviluppo e coinvolta nella modulazione del processo di adesione cellula-cellula dei coniuganti (Trielli et al., 1997; Delmonte Corrado et al., 1999, 2001). L'indagine sulla presenza di enzimi colinesterasi (ChE) è stata

quindi estesa a *Dictyostelium discoideum* allo scopo di ottenere uno strumento d'indagine delle zone estuariali e degli ambienti umidi che fosse snello, di rapido utilizzo, di costo limitato e possibilmente preliminare all'uso dell'indagine chimica, più costosa ed elaborata, nonché di definire un protocollo di utilizzo di tale biomodello che permettesse di ottimizzare le analisi con il minimo di prove sperimentali.

D. discoideum, che vive in zone umide, è caratterizzato da organizzazione cellulare semplice e ciclo vitale complesso che comprende due fasi mutualisticamente esclusive, inducibili in laboratorio, la fase solitaria/moltiplicativa e la fase aggregata con differenziamento di due tipi cellulari: le cellule somatiche del disco basale e dello stelo destinate a morire e le spore, cellule generative, che conservano la capacità riproduttiva.

In amebe in fase moltiplicativa di *D. discoideum* ho individuato la presenza di attività di ChE. Utilizzando tecniche citochimiche, spettrofotometriche ed elettroforetiche, ho evidenziato un'attività di AChE simile a quella di *Electrophorus electricus* e un'attività di pseudocolinesterasi, denominata propionilcolinesterasi (PrChE), capace di idrolizzare il substrato ioduro di propioniltiocolina (Falugi et al., 2002) e considerata una forma primitiva di ChE (Talesa et al., 1990). Ho quindi esaminato la sensibilità delle ChE di *D. discoideum* al pesticida organofosfato basudin. Mentre l'attività di PrChE si è dimostrata molto sensibile a concentrazioni di basudin di

$1/10^4$ v/v, l'attività di AChE è risultata scarsamente sensibile. Poiché le informazioni disponibili in letteratura circa la PrChE sono scarse, probabilmente perché questo enzima è quasi del tutto assente nei vertebrati, ho proceduto a caratterizzare tale attività di *D. discoideum* variando alcuni parametri fisico-chimici, quali la lunghezza d'onda di lettura allo spettrofotometro, la concentrazione di Triton X-100 usata per estrarre le proteine, nonché la concentrazione di Triton X-100, la temperatura e il pH della soluzione di lettura. Inoltre, ho valutato la sensibilità della PrChE agli inibitori classici delle ChE quali iso-OMPA, inibitore specifico delle pseudocolinesterasi, BW, inibitore specifico dell'AChE, ed eserina, inibitore sia delle pseudocolinesterasi che dell'AChE.

Variando lo spettro di lunghezze d'onda da 500 a 300 nm, la PrChE di *D. discoideum* presentava un picco di assorbanza a 412 nm, valore utilizzato anche nel caso dell'analisi spettrofotometrica dell'AChE dei vertebrati. Per l'estrazione delle proteine ho considerato le concentrazioni di Triton X-100 di 0%, 0,1%, 0,5%, 1%, 2% e 5%. La maggiore attività di PrChE si osservava nei campioni estratti con le concentrazioni di Triton X-100 dell'1% e del 2%. Per quanto riguarda la possibile interferenza del Triton X-100 presente nella soluzione di lettura sull'attività di PrChE, la massima attività enzimatica si otteneva alle concentrazioni da 0,1% a 2% e ciò indicava che quest'ultima fosse la concentrazione ottimale di Triton X-100, sia per l'estrazione delle proteine che per la lettura dell'attività allo spettrofotometro.

Le letture dell'attività enzimatica, effettuate al variare della temperatura e del pH della soluzione di lettura, hanno indicato come l'attività di PrChE fosse molto sensibile a tali parametri, sottolineando la necessità di lavorare in condizioni standard a pH 8,0 e a 25°C. Infine, l'attività è risultata sensibile a iso-OMPA, inibitore specifico di enzimi pseudocolinesterasi.

Sulla base di questi risultati, ho esaminato la sensibilità della PrChE ad altri composti organofosfati, quali cidal e diazinone, nonché carbammati, quali carbaril e pirimicarb, (alla concentrazione di $1/10^6$ v/v), largamente utilizzati in agricoltura per le loro proprietà insetticide. In tutti i casi, l'attività di PrChE risultava significativamente inibita. Ho quindi provveduto a normare il metodo che è stato pubblicato sul Notiziario dei Metodi Analitici, *IRSA/CNR* (Amaroli et al., 2005).

Tale metodica è stata applicata per un'indagine delle zone estuariali della Liguria, in quanto è noto che le sostanze inquinanti disperse nell'ambiente spesso finiscono, più o meno

rapidamente, negli ambienti acquatici, dove possono essere assorbite dalle particelle in sospensione e quindi accumulate a livello dei sedimenti. Pertanto, i depositi sedimentari all'interfaccia delle zone marine e continentali rappresentano veri filtri e serbatoi per gli agenti inquinanti, costituendo importanti fonti di contaminazione per gli organismi. Queste zone costiere, estuariali e umide in particolare, sono caratterizzate da una elevata biodiversità e sono biotopi molto importanti per la riproduzione di numerose specie animali e vegetali. Inoltre, l'inquinamento di tali zone può avere ripercussioni sulla popolazione umana fruitrice delle risorse di questi ambienti (allevamenti, turismo).

Nel Ponente Ligure, dove le coltivazioni sono fortemente insediate tra l'ambiente urbano e buona parte dell'economia è basata sul turismo estivo, particolare attenzione deve essere rivolta all'inquinamento da composti agrochimici tra cui i fitofarmaci neurotossici. Esiste infatti una produzione floro-vivaistica specializzata che, in competizione con i produttori europei del nord e, da alcuni anni, anche con i produttori del sud-est asiatico, tende a un utilizzo sempre più massiccio di pesticidi. Appare quindi chiara in queste zone l'esigenza di un continuo monitoraggio ambientale allo scopo di poter raggiungere un "equilibrio sostenibile" tra agricoltura e turismo da una parte e tutela dell'ambiente e della salute pubblica dall'altra.

In seguito a consultazione con funzionari dell'Assessorato all'Ambiente della Regione Liguria, Dott. Garaventa, Dott.^{ssa} Chiarandini e Dott. Jannone, della Camera di Commercio di Savona, Dott. Minuto e Dott. Bonaccorti, dell'ARPAL Provincia di Genova, Dott. Raffetto e Dott.^{ssa} Tomei, dell'ARPAL Provincia di Savona, Dott.^{ssa} Pollero e Ing. Durante, dell'ARPAL Provincia di Imperia, Dott.^{ssa} Graziano e Dott. Galleri, e sulla base delle conoscenze relative alle diverse realtà territoriali, nonché dei risultati ottenuti da precedenti programmi di monitoraggio, sono stati individuati quali siti di interesse per l'indagine sulla presenza di fitofarmaci neurotossici, il torrente Argentina ad Arma di Taggia (IM) e il torrente Centa ad Albenga (SV), che rappresentano *aree critiche* in quanto sottoposti a specifiche pressioni antropiche, e il torrente Arrestra a Cogoleto (GE) con funzione di *area di bianco* poiché scarsamente sottoposto a impatto antropico.

Il torrente Centa nella zona di Albenga e il torrente Argentina nella piana di Arma di Taggia sono situati in un territorio che sino al Confine di Stato è caratterizzato da un'agricoltura intensiva e specializzata con forte prevalenza di olivicoltura,

frutticoltura e orticoltura, e dove, nella stagione estiva, a causa del flusso turistico, si verifica un incremento notevole della popolazione, principalmente nei centri balneari costieri. Al contrario, il torrente Arrestra, situato sul confine tra la provincia di Genova e quella di Savona, percorre aree boschive di particolare pregio (zona del Parco del monte Beigua) e, solo nella parte finale, una zona scarsamente abitata con rare coltivazioni a orto.

Per il piano di monitoraggio, le aree di campionamento sono state scelte in base all'ubicazione delle coltivazioni e alle caratteristiche del corso d'acqua (accessibilità all'alveo, granulometria del sedimento). Per il torrente Argentina sono state prese in esame due stazioni, una a 100 m e una a 400 m dalla battigia. Per il torrente Centa sono state prese in esame una stazione situata a 50 m e una seconda stazione posta a 400 m. Infine, per il torrente Arrestra sono state prese in esame una stazione a 50 m e una a 200 m dalla battigia.

Per ogni stazione è stato raccolto un campione singolo, sia del sedimento che dell'acqua superficiale. Il campionamento è stato eseguito con cadenza mensile, in accordo con l'ARPAL di Imperia, la IV settimana di ogni mese, in relazione anche alle condizioni meteorologiche e del mare. Dopo il prelievo, i campioni venivano mantenuti refrigerati in borsa termica a circa 4°C e, in laboratorio, venivano conservati a 4°C per analisi effettuate entro 24 ore, oppure a -20°C per analisi in tempi successivi, in accordo con quanto raccomandato nella Rassegna dei Metodi Analitici e di Campionamento dell'Agenzia Nazionale per la Protezione dell'Ambiente (2001).

I campioni di sedimento sono stati setacciati al fine di separare la sola componente di dimensioni inferiori a 4 mm con cui sono stati preparati gli elutriati, ottenuti mediante energica agitazione di una specifica aliquota di sedimento umido diluito con acqua pura, per un'ora, a 25°C. Gli elutriati e i campioni di acqua sono stati quindi centrifugati e il surnatante filtrato, come suggerito nel Programma di Monitoraggio per il Controllo dell'Ambiente Marino-Costiero (triennio 2001-2003) del Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio, Servizio Difesa Mare, Metodologie Analitiche di riferimento, ICRAM. I campioni così ottenuti sono stati tamponati a pH 8,0 prima di essere utilizzati per l'analisi. Le cellule di *D. discoideum* sono state quindi esposte ai campioni per 15 minuti a 25°C e l'attività di PrChE analizzata alla stessa temperatura, seguendo il metodo spettrofotometrico di Ellman et al. (1961), opportunamente modificato. Tutti gli esperimenti sono stati eseguiti in triplicato e il test-*t* di Student è stato usato per comparare il valore medio

dell'attività di PrChE delle cellule esposte ai diversi campioni e del controllo.

Le cellule di *D. discoideum* esposte ai campioni di acqua e di sedimento (elutriato) prelevati dal 2003 al 2006 dal torrente Arrestra mostravano attività di PrChE non significativamente differente ($P > 0,05$) rispetto al controllo rappresentato dall'acqua San Bernardo sorgente Rocciaviva. Situazione diversa si verificava quando le cellule di *D. discoideum* venivano esposte ai campioni di acqua e di sedimento (elutriato) del torrente Argentina. Infatti, le cellule esposte agli elutriati della stazione a 400 m dalla battigia dei mesi di novembre 2003, 2004, 2005 e di dicembre 2004 e 2005 mostravano aumento significativo ($P < 0,05$) dell'attività di PrChE. Situazione analoga si è osservata per le cellule esposte agli elutriati della stazione a 100 m dalla battigia dei mesi di dicembre 2004 e 2005. Per quanto riguarda le acque superficiali, i campioni esposti a tali acque non hanno mostrato alterazioni dell'attività di PrChE ($P > 0,05$).

I campioni di acqua prelevati dal torrente Centa negli anni 2004, 2005 e 2006 non hanno modificato in modo significativo l'attività di PrChE di *D. discoideum* ($P > 0,05$), mentre i campioni di acqua dei mesi di dicembre e gennaio 2003 hanno indotto nelle cellule esposte una inibizione significativa ($P < 0,05$) di tale attività enzimatica. Per quanto riguarda i sedimenti, nessun elutriato relativo all'anno 2003 ha alterato l'attività di PrChE di *D. discoideum* ($P > 0,05$), mentre gli elutriati della stazione a 50 m relativi ai mesi di novembre e dicembre 2004 e 2005 e della stazione a 400 m relativi ai mesi di novembre e dicembre 2004 e di novembre 2005 hanno indotto un aumento significativo (rispettivamente, $P < 0,001$ e $P < 0,05$) dell'attività di PrChE nelle cellule esposte.

La variazione dell'attività di PrChE causata nelle cellule di *D. discoideum* dai soli campioni prelevati nei mesi autunnali e invernali appare particolarmente interessante. In questi campioni, la presenza di sostanze in grado di alterare tale attività enzimatica potrebbe essere legata all'influenza della temperatura sulla sedimentazione degli inquinanti, alla variazione stagionale della componente batterica e conseguente variazione della capacità di degradazione dei composti agrochimici nei sedimenti e/o al maggior dilavamento dei campi che si osserva in questi mesi caratterizzati da più intense precipitazioni. Per quanto riguarda l'aumento dell'attività di PrChE, è noto che variazioni di pH, della salinità e della concentrazione di metalli pesanti possono avere effetto sull'attività di ChE. I fenomeni di

mareggiata, più frequenti nei mesi autunnali e invernali, potrebbero alterare la salinità e di conseguenza il pH dei campioni analizzati. Tuttavia, i campioni che ho esaminato presentavano pH simile, compreso tra 7,3 e 7,8, che veniva tamponato prima dell'analisi a pH 8,0. Inoltre, in prove eseguite in laboratorio, le cellule di *D. discoideum* esposte ad acqua di mare tamponata a pH 8,0 o ad acqua dolce tamponata a pH 8,0 mostravano attività simile di PrChE. È importante ricordare che nel Ponente Ligure la maggior parte della produzione agricola e florovivaistica avviene in serra e quindi non presenta periodi di riposo nei mesi autunno-invernali. Di conseguenza, ho indagato se particolari prodotti contenenti metalli pesanti, utilizzati come fungicidi e insetticidi, organoclorurati ad azione acaricida e idrocarburi policiclici aromatici, potessero alterare l'attività di PrChE.

Ho quindi preso in esame alcuni metalli pesanti che si trovano in diversi composti utilizzati in agricoltura. In particolare, il cloruro di cadmio e il cloruro di mercurio presenti in diversi fungicidi, il nitrato di argento presente in fungicidi ed erbicidi, il solfato di zinco costituente di molti erbicidi e microbiocidi, l'alluminio/potassio solfato presente in erbicidi e insetticidi, il cloruro di magnesio presente in insetticidi, erbicidi, microbiocidi e molluschicidi, il citrato di piombo presente in rodenticidi, insetticidi ed erbicidi e infine il solfato di rame costituente di fungicidi, algicidi, molluschicidi. Le cellule di *D. discoideum* esposte a cloruro di cadmio alla concentrazione di 20 μM e a solfato di rame alla concentrazione di 50 μM presentavano, rispettivamente, una inibizione del 40% ($P < 0,001$) e del 50% ($P < 0,001$) dell'attività di PrChE. Al contrario, l'esposizione a cloruro di mercurio alla concentrazione di 10 μM induceva un aumento del 48% ($P < 0,001$) dell'attività di PrChE. Analogamente, l'esposizione a 50 μM di nitrato di argento e di alluminio/potassio solfato induceva in entrambi i casi un aumento significativo del 16% ($P < 0,05$) dell'attività di PrChE. I rimanenti metalli pesanti utilizzati non avevano effetto su questa attività enzimatica. Infine, ho preso in esame l'acaricida dicofol, un organoclorurato e il

benzo-[α]-pirene, un idrocarburo. Mentre il benzo-[α]-pirene alla concentrazione di 10 μM inibiva di circa il 30% ($P < 0,05$) l'attività di PrChE, il dicofol alla concentrazione di 1/10⁴ v/v non alterava questa attività enzimatica.

In conclusione, l'individuazione del notevole effetto inibitore dei pesticidi neurotossici sull'attività di PrChE di *D. discoideum* propone tale enzima come biomarker ambientale specifico di esposizione a fitofarmaci neurotossici particolarmente dannosi.

Nessuno dei campioni di acqua e di sedimento delle zone estuariali dei torrenti Arrestra e Argentina ha indotto inibizione dell'attività di PrChE di *D. discoideum*, suggerendo la probabile assenza di pesticidi neurotossici idrosolubili in queste zone. Discorso analogo per il torrente Centa, a esclusione dei campioni di acqua dei mesi di dicembre e di gennaio 2003 che hanno indotto una lieve ma significativa inibizione dell'attività enzimatica. Tuttavia, l'aumento dell'attività di PrChE di *D. discoideum* nelle cellule esposte ai campioni di sedimento delle zone estuariali del torrente Centa e del torrente Argentina indicherebbe in queste zone una ricorrente situazione di stress ambientale nei periodi autunno-invernali. Tale risultato appare ancora più evidente se paragonato a quanto osservato per il torrente Arrestra dove nessuno dei campioni di acqua e di sedimento ha indotto significative variazioni dell'attività di PrChE nelle cellule esposte. Dalle analisi eseguite in laboratorio è possibile escludere che i risultati siano "artefatti" dovuti a variazioni di pH e/o salinità dei campioni. Poiché le analisi in vitro hanno evidenziato che alcuni metalli pesanti, quali il cloruro di mercurio, il nitrato di argento e l'alluminio/potassio solfato presenti in diversi fungicidi ed erbicidi, possono indurre un aumento significativo dell'attività di PrChE nelle cellule esposte di *D. discoideum*, è possibile supporre la presenza di questi metalli nei sedimenti del Torrente Centa e del Torrente Argentina. L'insieme dei dati ottenuti indica l'esigenza per i Torrenti Centa e Argentina di un continuo monitoraggio e suggerisce la necessità di eseguire una più approfondita indagine chimica.

Riferimenti bibliografici

- Amaroli A., Trielli F., Falugi C., Corrado M.U. Valutazione tossicologica della presenza di fitofarmaci neurotossici nelle acque, utilizzando *Dictyostelium discoideum* (Protisti). Notiziario dei Metodi Analitici, IRSA/CNR, 8-16, 2005.
- Delmonte Corrado M.U., Politi H., Trielli F., Angelini C., Falugi C. Evidence for the presence of a mammalian-like cholinesterase in *Paramecium primaurelia* (Protista, Ciliophora) developmental cycle. J. Exp. Zool., 283: 102-105, 1999.
- Delmonte Corrado M.U., Politi H., Ognibene M., Angelini C., Trielli F., Ballarini P., Falugi C. (2001). Synthesis of the signal molecule acetylcholine in *Paramecium primaurelia* (Protista, Ciliophora) developmental cycle and possible

- function in conjugation. *J. Exp. Biol.*, 204: 1901-1907.
- Ellman G.L., Curtney K.D., Andres V., Featherstone R.M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharm.*, 7: 88-95, 1961.
- Falugi, C., Amaroli, A., Evangelisti V., Viarengo, A., Delmonte Corrado M.U. Cholinesterase activity and effects of its inhibition by neurotoxic drugs in *Dictyostelium discoideum*. *Chemosphere*, 48: 407-414, 2002.
- Kennedy, S.W. The mechanism of organophosphate inhibition of cholinesterase. Proposal for a new approach to measuring inhibition. In: *Cholinesterase-inhibition Insecticides: their Impact on Wildlife and the Environment. Chemicals in Agriculture. Vol. 2.* P. Mineau (ed.). Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 74-87, 1991.
- Talesa V., Contenti S., Mangiabene C., Pascolini R., Rosi G., Principato G.B. Propionylcholinesterase from *Murex brandaris*: comparison with other invertebrate cholinesterases. *Comp. Biochem. Physiol.*, 96C: 39-43, 1990.
- Trielli F., Politi H., Falugi C., Delmonte Corrado M.U. Presence of molecules related to the cholinergic system in *Paramecium primaurelia* (Protista, Ciliophora) and possible role in mating pair formation: an experimental study. *J. Exp. Zool.*, 279: 633-638, 1997.
- Walker C.H., Hopkin S.P., Sibly R.M., Peakall D.B. *Principles of Ecotoxicology*. 2nd ed. Taylor and Francis, London.

Invito per l'anno 2007

I docenti Tutori dei Dottorandi che discuteranno nel 2007 una Tesi di Dottorato di Ricerca di argomento protistologico sono invitati a far preparare dai propri Dottorandi un breve compendio della loro Tesi che dovrà essere inviato insieme con i dati essenziali (nome del dottorando, nome del tutore, titolo e data di discussione della Tesi) alla Segreteria della Società.

Maria Umberta Corrado, Fernando Dini

Proposte di Borse Post-dottorato

- ◆ In data 30 Marzo 2006 abbiamo ricevuto il seguente messaggio e-mail di interesse per i Soci.

TEACHING POSTDOCTORAL FELLOW

Where: Joint Science Department of the Claremont Colleges, Claremont, CA

Subject Areas: Molecular biology, chromatin biology

Duration: 1 – 3 years, negotiable

Description: The successful candidate will carry out research related to the identification and characterization of proteins involved in heterochromatin formation in the ciliated protozoan *Tetrahymena thermophila*. Other responsibilities include mentoring undergraduate research projects and developing/teaching courses in the general areas of molecular/cell biology, genetics, or biochemistry. Courses in other areas would also be possible. The teaching load is negotiable, but can vary between one half course and two courses per year depending on interest.

The Claremont Colleges are a consortium of highly selective undergraduate liberal arts colleges whose campuses are adjacent to each other. The campuses, which include Scripps, Claremont McKenna, Pitzer, Harvey-Mudd, and Pomona Colleges, are located east of Los Angeles in the foothills of the San Gabriel mountains, close to Cal-Tech and a short drive from other state universities including UCLA, USC, and UC Irvine.

The Joint Science Department of the Scripps, Claremont McKenna, and Pitzer Colleges is an interdisciplinary department of 30 faculty representing Chemistry, Biology, and Physics. The department is rapidly growing, housed in a modern well-equipped facility, and has external funding from NSF, NIH, and a number of private foundations. See the W.M. Keck Joint Science Center website (<http://www.jsd.claremont.edu/>).

To Apply: Please send a CV, a list of 3-4 references with contact information, and a cover letter summarizing current research and any previous teaching experience and/or motivation toward a college teaching/research career.

Send to: Emily Wiley
W.M. Keck Science Center
925 N. Mills Ave.
Claremont, CA 91711
Tel. (909) 607-9698
ewiley@jsd.claremont.edu

- ◆ In data 18 Settembre 2006 abbiamo ricevuto il seguente messaggio e-mail di interesse per i Soci.

POSTDOC IN GENOME AND MOLECULAR EVOLUTION

A postdoc position is available in Becky Zufall's lab (<http://bchs.uh.edu/~rzufall/>) at the University of Houston to study the evolution of genome processing in ciliates.

The goal of the funded research is to understand the diversification of genome architecture and its implications for patterns of molecular evolution by examining diverse ciliates with extensively fragmented genomes. Specific research projects are flexible and the candidate is encouraged to develop additional lines of inquiry complementary to ongoing research in the lab.

Candidates with a background in evolution and molecular genetics, and an interest in protists, are encouraged to apply. The start date is negotiable, but the position is available immediately, for an initial period of one year.

To apply, send an email containing a letter of interest, a C.V., and two references to rzufall@uh.edu.

Rebecca Zufall
Dept of Biology and Biochemistry
353 Science and Research 2
University of Houston
Houston, TX 77204
713-743-8172 (office)
713-743-8136 (lab)
rzufall@uh.edu
<http://bchs.uh.edu/~rzufall/>

◆ In data 10 Ottobre 2006 abbiamo ricevuto il seguente messaggio e-mail di interesse per i Soci.

POSTDOC OPPORTUNITY: OXYTRICHA DNA RECOMBINATION, REARRANGEMENT AND SMALL RNAs

A postdoctoral position is available in the Department of Ecology and Evolutionary Biology to study the mechanism of scrambled gene and genome rearrangements in ciliates, particularly the role of noncoding RNAs or epigenetic factors, using experimental tools. Strong experimental training and experience from the Ph.D., ability to work independently and creatively, and strong research and written/oral communication skills are necessary.

The initial appointment is for one year, and can be extended, upon mutual agreement.

Send CV and names and email addresses of three references to:

Laura Landweber

lfl@Princeton.edu

Dept. of Ecology & Evolutionary Biology

Princeton University, Princeton, NJ 08544.

<http://www.princeton.edu/~lfl>

Princeton University is an equal opportunity/affirmative action employer.

For information about applying to Princeton, please link to

<http://web.princeton.edu/sites/dof/ApplicantsInfo.htm>.

Congressi di interesse protozoologico 2005-2006: impressioni, riflessioni

XIth International Meeting on the Biology and Pathogenicity of Free-Living Amoebae

České Budějovice, Repubblica Ceca, 5-9 settembre 2005

L'XIth International Meeting on the Biology and Pathogenicity of Free-Living Amoebae si è tenuto nell'incantevole cittadina ceca di České Budějovice ed ha visto l'intervento dei principali studiosi della biologia e patogenicità delle amebe a vita libera, quali Francine Marciano-Cabral, Frederick L. Schuster, Govinda Visvesvara e Johan De Jonckheere. Di quest'ultimo, particolarmente apprezzabile la keynote lecture sulla tassonomia molecolare del genere *Naegleria* e di altri valkampfiidi. Il Meeting, a cui hanno partecipato sessantasei ricercatori provenienti da numerosi paesi, è stato organizzato in modo estremamente preciso ed accurato da Iva Dyková e dai suoi collaboratori dell'Institute of Parasitology, Academy of Sciences of the Czech Republic. E' stato suddiviso in giornate dedicate rispettivamente a *Naegleria*, *Acanthamoeba* e *Balamuthia*; la parte finale è stata dedicata all'ameba marina *Neoparamoeba* parassita di pesci. Trentotto sono state le comunicazioni orali e diciotto i poster. Anche se su *Acanthamoeba* s'incentravano numerose comunicazioni che trattavano dell'epidemiologia, morfologia e identificazione molecolare, la novità del Convegno è costituita soprattutto da *Balamuthia mandrillaris*, organismo da non molti anni riconosciuto come responsabile di infezioni al sistema nervoso centrale. Sono stati presentati studi sulla patogenicità e diagnosi clinica mediante PCR da parte, tra gli altri, del gruppo di Naveed Ahmed Khan ed è degno di nota il primo isolamento di tale specie dal suolo, e di altre specie simili, da parte di Thelma Dunnebacke-Dixon.

Olimpia Coppellotti

XXV Convegno Nazionale della Società Italiana di Protozoologia

Castiglioncello, 7-8 Ottobre 2005

Franco Verni

Simbiosi

Guangzhou, Cina, 10-15 Luglio 2005

Rosati

I° Convegno Toxo & Food

Has the time come for control of Toxoplasma-infection through Toxoplasma-free food?

Palermo, 8-10 Maggio 2006

Dall'8 al 10 Maggio 2006 si è svolto il primo Convegno in Italia che ha affrontato il problema delle "food-born disease" in campo protozoologico. Si tratta del "Toxo and Food" organizzato a Palermo a cura dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia a livello Internazionale proprio per promuovere la conoscenza degli studi multidisciplinari che si sviluppano intorno ad una infezione allo scopo di capire le origini e i percorsi tipici di una zoonosi.

Il Convegno ha messo in luce gli argomenti della diffusione dell'infezione da *Toxoplasma gondii* nel mondo animale tra gli ospiti intermedi e l'ospite definitivo (felidi) della parassitosi, compresi quelli che partecipano alla filiera e quindi al consumo umano, senza trascurare le possibilità della contaminazione ambientale, anch'essa veicolo d'infezione per l'uomo. Le vie di trasmissione e il rischio di contagio di questa importante infezione protozoaria sono state focalizzate allo scopo di sensibilizzare la classe dirigente in tema di sanità animale verso un auspicabile programma di controllo nel settore veterinario ed ambientale dell'infezione stessa. Una pianificazione di controllo per la toxoplasmosi nel settore delle carni avviate alla filiera, ad esempio, ridurrebbe da solo un'ampia fetta delle risorse economiche impiegate nel settore sanitario per lo screening ed il controllo delle infezioni da *Toxoplasma* in gravidanza. Poche altre infezioni, infatti, come questa, potrebbero essere controllate almeno all'80 % con buone pratiche di prevenzione ed educazione sanitaria ed invece, a tutt'oggi, rappresentano un reale e complicato problema sanitario. Ci auguriamo che questa sia la prima pietra di un'ampia costruzione di conoscenze ed interventi in tal senso attivi.

Maria Cristina Angelici

XXVI Convegno Nazionale della Società Italiana di Protozoologia

Macerata, 30 Giugno – 1 Luglio 2006

La sede che ha ospitato il 26° Convegno, il Polo didattico Luigi Bertelli, è una struttura nata da poco, che comprende in un unico complesso la *Facoltà di Scienze della formazione*, la *Scuola di specializzazione all'insegnamento secondario* e il *Dipartimento di Scienze dell'educazione e della formazione*, e che mette inoltre a disposizione di studenti, docenti e ricercatori una biblioteca scientifico-didattica centralizzata, servizi di ristorazione e di foresteria, una palestra e un asilo nido. Nell'Ateneo maceratese l'idea di progettare e realizzare un Polo multifunzionale è nata innanzitutto dalla consapevolezza che, almeno a livello universitario, non possa esistere una buona didattica senza una efficace attività di ricerca, condizione questa certamente favorita in una struttura che è allo stesso tempo *scientifica* e *didattica*, e nella quale studenti, docenti e ricercatori hanno dunque l'opportunità di condividere un medesimo stile di vita.

Il Convegno ha visto la partecipazione di 45 studiosi italiani (comprendenti ricercatori universitari e dell'Istituto Superiore di Sanità) e di colleghi stranieri, il Dr. J.H.P. Hackstein (Dipartimento di Microbiologia Evolutiva, Radboud University Nijmegen, The Netherlands), il Dr. R. Hirt (School of Biology, The University of Newcastle, UK) e il Prof. S.I. Fokin (Visiting Professor presso il Dipartimento di Biologia dell'Università di Pisa).

Come di consueto, le tematiche affrontate hanno riguardato sia la biologia di protozoi a vita libera sia la biologia di protozoi parassiti, e si sono concretizzate in 24 comunicazioni e 3 letture magistrali.

Diversi risultati interessanti sono stati presentati per quanto riguarda la fisiologia, l'ecologia e la biochimica dei protozoi a vita libera, come nel caso del biomonitoraggio ambientale effettuato sfruttando l'attività di colinesterasi nei protisti (Francesca Trielli, Università di Genova) e della sintesi della molecola segnale ossido nitrico in *Paramecium primaurelia* (Andrea Amaroli, Università di Genova). I gruppi di ricerca delle Università di Camerino e Macerata hanno presentato gli ultimi risultati sui feromoni di protozoi ciliati del genere *Euplotes*, con particolare riguardo alla struttura di quelli adattati al freddo del protozoo *E. nobilii* (Claudio Alimenti, Università di Camerino), all'analisi in vitro delle interazioni tra feromoni nativi e ossidati con i loro recettori (Federico Buonanno, Università di Macerata), e ai possibili meccanismi di riparazione dei feromoni ossidati (Nicoleta Dobri, Università di Camerino). *E. raikovi* è stato anche studiato dai ricercatori dell'Università di Camerino per quanto riguarda l'espressione e la localizzazione cellulare di kinasi (Barbara Di Pretoro), mentre i protozoi psicrofili sono stati oggetto di studi sugli isotipi di gamma-tubulina nel ciliato antartico *Euplotes focardii*, riguardanti sia la loro funzione (Sandra Pucciarelli), sia la loro conformazione (Francesca Marziale). Un altro ciliato antartico, *Euplotes nobilii*, è stato esaminato per quanto riguarda il gene HSP70 (Valerio Passini). La famiglia genica HSP70 è stata anche oggetto di ricerca su *Tetrahymena thermophila* per quanto riguarda l'inducibilità e la caratterizzazione dei promotori (Sabrina Barchetta); in questo ciliato è stata rilevata la presenza di una nuova proteina, la fenestrina, osservata anche in mammiferi (Ewa Joachimiak).

Sono stati esposti i risultati relativi alla caratterizzazione di simbionti di protozoi ciliati, come nel caso del simbionte "*Holospora-like*" di *Frontonia sp.* (Filippo Ferrantini, Università di Pisa) e dei simbionti procariotici di *Euplotes harpa* (Claudia Vannini, Università di Pisa). Alle infezioni dei protozoi ciliati da parte di microsporidi è stata dedicata una lettura magistrale tenuta dal Prof. Sergei Fokin. Non sono mancati studi di carattere evolutivo, che hanno coinvolto i ricercatori dell'Università di Pisa in ricerche sull'origine delle tubuline batteriche (Giulio Petroni), nello studio ultrastrutturale del ciliato *Sonderia sp.* (Letizia Modeo) e nell'analisi delle relazioni filogenetiche tra ciliati frontonidi (Ilaria Andreoli). All'evoluzione di mitocondri, idrogenosomi e mitosomi è stata infine dedicata la lettura magistrale da parte del Prof. Johannes H.P. Hackstein.

Per quanto riguarda i protozoi parassiti, è stata fornita un'interessante panoramica sullo stato dell'arte dei vaccini per la *Leishmania canina* (Luigi Gradoni, Istituto Superiore di Sanità), e con riguardo a *Leishmania major*, sono stati presentati i risultati di una ricerca sull'attività biologica in vitro delle dermaseptine (Dianella Savoia, Università di Torino). Da segnalare per la particolare rilevanza è stata la splendida relazione del Prof. Robert Hirt, dedicata all'evoluzione molecolare e alla patogenesi di *Trichomonas vaginalis*. Nuove scoperte sulle prime linee di difesa da parte dell'ospite contro *Trichomonas* sono state presentate da Pierluigi Fiori (Università di Sassari) e, sempre su questo tema, sono stati presentati i risultati di ricerche riguardanti la presenza di proteine formanti pori da parte di questo protista parassita (Nicia Diaz, Università di Sassari). Infine, sono stati presentati studi sulle infezioni da *Toxoplasma* in rapporto agli stili di vita umani (M. Cristina Angelici, Istituto



Superiore di Sanità) e sull'utilizzazione di trattamento fotodinamico per il trattamento delle infezioni da amebe parassite (Olimpia Coppellotti, Università di Padova).

Così, come in ogni precedente Convegno della nostra Società, l'interesse dei ricercatori presenti è stato considerevolmente stimolato dall'elevato livello scientifico delle presentazioni, utile non soltanto per un costruttivo scambio di informazioni, ma anche per stimolare e favorire nuove collaborazioni.

Ben vengano dunque, ulteriori occasioni per ritrovarci insieme, magari proprio a Macerata, sia per parlare di scienza, sia per rilassarci davanti ad una tavola imbandita (a fianco la foto della torta personalizzata con il logo della Società), mentre la nostra Nazionale ci mette tutti di buon umore.

Claudio Orteni

IIIth International Symposium on Testate Amoebae

Anversa, Belgio, 12-14 settembre 2006

L'International Symposium on Testate Amoebae si è tenuto, nei giorni 12-14 settembre 2006, presso il campus Drie Eiken di Wilrijk dell'Università degli Studi della "brillante" città di Anversa (Belgio). E' stato il 3° Symposium sulle tematiche relative alle Amebe Tecate: il Ist si svolse, infatti, a Sofia (Bulgaria) nel lontano 1976, il IInd ad Aachen (Germania) nel 1983. I partecipanti si sono ripromessi di incontrarsi entro due anni presso l'Università di Besançon (Francia) grazie alla disponibilità di D. Gilbert. Il Simposio è stato organizzato dal gruppo di L. Beyens e ha visto la partecipazione di una cinquantina di ricercatori, tra cui i principali studiosi della sistematica, biologia ed ecologia dei Testacei, quali R. Meisterfeld e W. Foissner, e molti giovani ricercatori europei ed asiatici. Ventotto sono state le comunicazioni orali e ventiquattro i poster. Magistrali sono state le keynote lecture di R. Meisterfeld sulla filogenesi, classificazione e distribuzione degli Euglyphida, di B.G. Warner sull'importanza delle Amebe Tecate nella paleoecologia del Quaternario e di D. Charman sul ruolo ed il contributo dell'analisi delle Amebe Tecate nella "Global Change Research". In quest'ultima presentazione, è stata sottolineata la necessità di identificare i futuri sviluppi di ricerca, far conoscere questi organismi e promuoverli in un contesto più ampio a tutte le differenti comunità scientifiche coinvolte nelle ricerche sul Global Change.

Olimpia Coppellotti

INDIRIZZI DI POSTA ELETTRONICA DEI SOCI

Alimenti	Claudio	claudio.alimenti@unicam.it	Camerino
Amaroli	Andrea	amaroli@dipteris.unige.it	Genova
Andreoli	Ilaria	i.andreoli@dee.unipi.it	Pisa
Angelici	M. Cristina	angelici@iss.it	Roma
Barbanera	Filippo	barbanera@deee.unipi.it	Pisa
Beran	Alfredo	aberan@ogs.trieste.it	Trieste
Brandonisio	Olga	brandonisio@midim.uniba.it	Bari
Buonanno	Federico	buonanno@unicam.it	Camerino
Cappuccinelli	Piero	pcappuc@uniss.it	Sassari
Chessa	M. Giovanna	gchessa@dipteris.unige.it	Genova
Coppellotti	Olimpia	olimpia.coppellotti@unipd.it	Padova
Corrado	M. Umberta	corrado@dipteris.unige.it	Genova
Dettori	Giuseppe	giuseppe.dettori@unipr.it	Parma
Di Giuseppe	Graziano	g.digiuseppe@deee.unipi.it	Pisa
Dini	Fernando	f.dini@deee.unipi.it	Pisa
Falugi	Carla	falugi@unige.it	Genova
Fiori	Luigi	fioripl@uniss.it	Sassari
Gradoni	Luigi	gradoni@iss.it	Roma
Gramiccia	Marina	gramicci@iss.it	Roma
Guidolin	Laura	laura.guidolin@unipd.it	Padova
Irato	Paola	paola.irato@unipd.it	Padova
La Terza	Antonella	antonietta.laterza@unicam.it	Camerino
Luporini	Pierangelo	piero.luporini@unicam.it	Camerino
Madoni	Paolo	paolo.madoni@unipr.it	Parma
Majori	Giancarlo	majori@iss.it	Roma
Mattana	Antonella	dsfanto@uniss.it	Sassari
Menegon	Michela	menegonm@iss.it	Roma
Miceli	Cristina	cristina.miceli@unicam.it	Camerino
Milani	Luisella	milanilu@univ.trieste.it	Trieste
Modeo	Letizia	modeo@deee.unipi.it	Pisa
Monti	Marina	mmonti@inogs.trieste.it	Trieste
Moretti	Annabella	moretti@unipg.it	Perugia
Ortenzi	Claudio	claudio.ortenzi@unimc.it	Camerino
Petroni	Giulio	g.petroni@deee.unipi.it	Pisa
Piccinni	Ester	ester.piccinni@unipd.it	Padova
Pucciarelli	Sandra	sandra.pucciarelli@unicam.it	Camerino
Ramoino	Paola	ramoino@dipteris.unige.it	Genova
Rappelli	Paola	rappelli@uniss.it	Sassari
Rosati	Giovanna	rosatig@deee.unipi.it	Pisa
Santangelo	Giovanni	sant@deee.unipi.it	Pisa
Savoia	Dianella	dianella.savoia@unito.it	Torino
Severini	Carlo	severini@iss.it	Roma
Tacchi	Bruno	brunotacchi@libero.it	Genova
Trielli	Francesca	trielli@dipteris.unige.it	Genova
Vallesi	Adriana	adriana.vallesi@unicam.it	Camerino
Vannini	Claudia	c.vannini@deee.unipi.it	Pisa
Verni	Franco	f.verni@deee.unipi.it	Pisa
Viarengo	Aldo	aldo.viarengo@mfu.unipmn.it	Alessandria

Prossimi Convegni

- 8th International meeting “Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics of Infectious Diseases”, 30 Novembre-4 Dicembre 2006, Bangkok, Thailandia.
- Drugs Against Protozoan Parasites (B1) Part of the Keystone Symposia Global Health **Series, 28** Gennaio- 1 Febbraio 2007, Tahoe City, California.
- 5th European Congress on Tropical Medicine and International Health, 24-28 Maggio 2007, Amsterdam Olanda. <http://www.trop-amsterdam2007.com/>
- 11th Congress of Toxicology, 15-19 Luglio 2007, Montreal, Canada. <http://www.ict2007.org/>
- V European Congress of Protistology and XI European Conference of Ciliate Biology, 23-27 luglio 2007, St. Petersburg, Russia. <http://ecp2007.ifmo.ru/>
- ISOP/PSA Meeting (Meeting of the International Society of Protozoologists and the Phycological Society of America), 4-9 Agosto 2007, Providence, Rhode Island.

Agenda

ANNO	MESE	Promemoria dei Soci
2007	2	I Soci sono tenuti a versare la quota sociale di euro 31,00 entro il primo bimestre di ogni esercizio finanziario. Termine ultimo: 28-2.
	12	31-12 - Chiusura Esercizio Finanziario 2006 - Preparazione Bilancio Consuntivo 2006 - Preparazione Bilancio Preventivo 2007

Selezione bibliografica

- *Microalgal Biology, Evolution and Ecology*. R.M. Crawford, B. Moss, D.G. Mann and H.R. Preisig Eds, Nova Hedwigia Beiheft 130, Science Publishers, Stuttgart, 2006, pp 392. Euro 138,00.
- *The Biology of Protists*. VHS, 20 min, BioMEDIA ASSOCIATES 2003.USD 55,00.
- *Branches of the Tree of Life: Protists*. DVD, 45 min, BioMEDIA ASSOCIATES 2004.USD 128,00.