

ECOLOGIA DEI PROTISTI

Paolo Madoni

Dipartimento di Scienze Ambientali, Università degli Studi di Parma

1. COSA SONO I PROTISTI?

1.1 Considerazioni iniziali

Per gran parte dei Biologi, anche se ben preparati e attenti al crescere delle conoscenze sui fenomeni che caratterizzano gli esseri viventi, i protisti rappresentano una curiosità marginale, di dubbia rilevanza scientifica, conosciuti solo da specialisti. Eppure, in questa breve trattazione saranno presentati alcuni temi-chiave della biologia ed ecologia dei protisti, che li rendono non solo organismi assolutamente unici nella loro natura essenziale, ma anche strumenti incredibilmente versatili ed affidabili nelle più diverse sperimentazioni scientifiche, sia di base (come la biologia molecolare, la biologia cellulare, l'elettrofisiologia, la biologia organismica, etologia, la biologia evoluzionistica...), che applicata (la parassitologia, la ricerca di mutanti capaci di metabolizzare o neutralizzare sostanze inquinanti, il biomonitoraggio).

Viviamo in un'epoca in cui l'attenzione all'ambiente (la sua conoscenza, la sua conservazione, il suo recupero) è in costante crescita, a causa dei pesanti effetti che la moderna tecnologia, pur così importante per l'uomo e la qualità della sua vita, ha avuto e continua ad avere su di esso. E' compito dei biologi ambientali estendere le conoscenze sull'ambiente stesso (si pensi che il ruolo dei virus nell'abbattere fino al 20% la produttività primaria del mare, è stato scoperto solo nel 1990!) e, per far questo è essenziale utilizzare gli **strumenti di indagine** più diversi, essendo ciascuno capace di portarci a conoscenza di una nuova parte della complessa realtà che un ambiente è e di indicarci talora anche nuove prospettive lungo cui avvicinarsi a tale realtà, così ovvia eppure così difficilmente conoscibile a fondo!

Queste pagine rappresentano lo sforzo di “spiegare”, a biologi non specialisti, le logiche di vita e le caratteristiche biologiche di uno di tali nuovi strumenti, i protisti, appunto: la giustificazione di tale sforzo, non indifferente né per chi scrive né per chi legge, sta nel fatto che per usare bene uno strumento così sofisticato e complesso bisogna conoscerlo adeguatamente!

1.2 I Primi Eucarioti

I protisti oggi viventi rappresentano forme evolute da organismi simili originatisi circa 2.2 miliardi di anni fa (Fig.1) questi loro antenati furono protagonisti di un evento incredibilmente importante per l'avventura dei viventi sulla terra: essi realizzarono la conquista della organizzazione eucariotica da parte della cellula. I procarioti vantano al loro attivo il merito di aver realizzato le prime forme viventi circa 1-1.5 miliardi di anni prima della comparsa degli eucarioti: piccole unità di citoplasma, in cui il materiale genetico è disperso più o meno “a caso”! L'evoluzione, o almeno quello che oggi pensiamo su di essa in tali remotissime ere, portò ad una infinita serie di tentativi di “cooperazione” tra diversi procarioti, ciascuno con diversi vantaggi e svantaggi adattativi. Le prime forme eucariotiche (gli antenati dei moderni protisti, cioè) realizzarono quel modello cellulare organizzato in comparti diversi, ciascuno con struttura e funzione specifiche e fortissimamente interconnesse, che ancora oggi funziona così bene

non solo nei protisti, ma anche in quelle forme evolutesi successivamente e che, sfruttando tutte la pluricellularità, si differenziarono nei tre grandi Regni dei Funghi, delle Piante, degli Animali. La comparsa degli organismi eucariotici, così sofisticati rispetto ai procarioti, offrì uno dei più chiari esempi di radiazione adattativa: il modello nuovo, vincente per piano costruttivo e modo di funzionare, si trovò ad avere a disposizione letteralmente interi oceani di cibo, e poté esplorare un'infinita gamma di forme e di funzioni, ancor oggi riflesse nell'incredibile varietà delle specie che noi conosciamo negli oceani, nelle acque interne e nei terreni di tutto il globo.

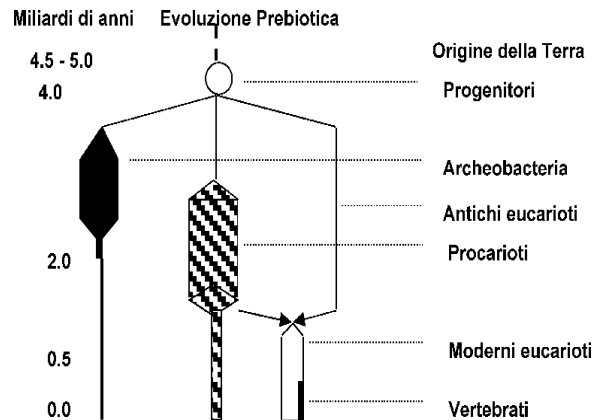


Fig. 1. I principali eventi nell'origine e nell'evoluzione della vita sulla terra a partire da 4.5-5.0 miliardi di anni fa. I ciliati si crede siano apparsi immediatamente dopo l'origine dei moderni eucarioti.

Dal punto di vista ecologico, i protisti, con la loro struttura sofisticata di eucarioti, crearono i **primi consumatori primari** (gli “erbivori”, cioè: erano le forme dei protisti che si cibavano dei batteri di cui gli oceani primevi erano pieni) ed i **primi consumatori secondari** (i “carnivori”, i protisti, cioè, che a loro volta predavano altri protisti): al di là di rappresentare una mera curiosità da accademici polverosi, questa loro conquista mise i protisti nella condizione di realizzare la prima **catena trofica completa**, con i suoi produttori (procarioti, inizialmente, ed in seguito anche eucarioti), consumatori primari e consumatori secondari.

1.3 Unicità della loro doppia natura

Dopo i concetti esposti sopra per ciò che riguarda, in modo molto generale, la biologia dei protisti, possiamo ora ad individuare le caratteristiche che li rendono unici nel mondo dei viventi. La prima e più evidente peculiarità dei protisti è che ciascuno di essi rappresenta contemporaneamente una cellula eucariotica perfetta (unità funzionale) ed un organismo completo (unità selettiva): potremmo definire i protisti come monete, ciascuna descritta ed individuata nella sua struttura da entrambe le facce che le caratterizzano!

1.4 La Complessità Cellulare

Il fatto, poi, che i protisti abbiano subito una radiazione adattativa unica per estensione e durata e abbiano affrontato con successo una storia evolutiva così lunga, li rende unici perché, al loro interno, troviamo tuttora la più ampia e fantastica gamma di variazioni sul tema “cellula eucariotica”: possiamo infatti dire che nessuna cellula di alcun metazoo (neppure le nostre cellule retiniche, i nostri neuroni, ecc.) può rivaleggiare, in complessità strutturale, con ciò che si trova nel mondo dei protisti! Prendiamo, ad esempio, *Erytropsis pavillardii*, un Dinoflagellato delle profondità oceaniche che è dotato di un sofisticato sistema di visione, connesso con un tentacolo retrattile propulsore (Fig. 2). L'ultrastruttura dell'apparato “visivo” ha rivelato che questo protista, all'interno di un'unica cellula, presenta cinque corpi rifrangenti a clessidra (l'ottica di questa proto-camera fotografica), costituenti uno zoom a lunghezza focale variabile (lo zoom è regolato da anelli di microtubuli capaci di variare il proprio diametro!), e che proiettano

l'immagine su di un “ film ” molecolare altissimamente organizzato (detto “ retina funzionale ”). Se pensiamo che tutto questo si trova all'interno di una sola cellula, vedremo bene che il nostro concetto di complessità cellulare finora basato sulla pur sofisticata struttura dei neuroni, viene letteralmente polverizzato!

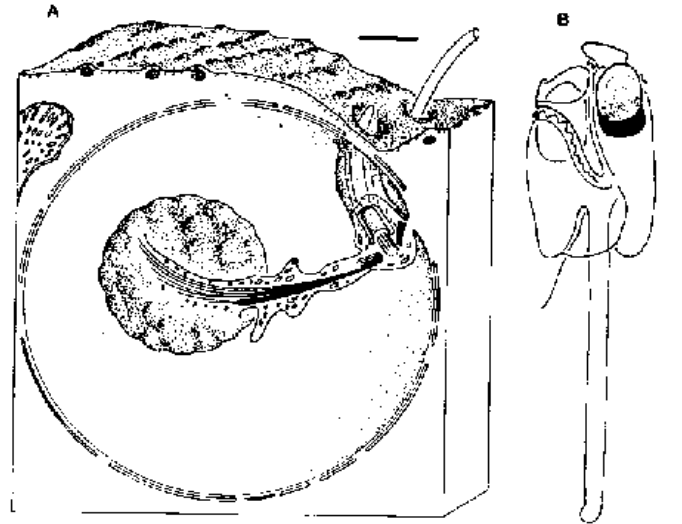


Fig.2. Strutture complesse nei protisti. **A** Vescicola di Müller del ciliato *Loxodes striatus*, organello che funziona come sensore di gravità. **B** Il dinoflagellato planctonico *Erythropsis pavillardii* con un “occhio” consistente di una lente e un involucro pigmentato.

1.5 Organismi e Vita Quotidiana

E' opportuno allora che ci chiediamo come mai i protisti siano cellule eucariotiche così complesse: la risposta sta proprio in quella seconda “ natura ” di ogni protista, nel fatto, cioè di essere anche un **organismo completo**. Con questa espressione, si vuole sottolineare che ogni protista è in grado di affrontare con successo (da 2.2 miliardi di anni!) le sfide che la vita quotidiana pone alla loro sopravvivenza: oltre a cercarsi il cibo, condizioni ambientali favorevoli, partners potenziali per subire gli inevitabili, periodici fenomeni sessuali, un protista deve anche sfuggire la predazione, conquistare nuovi habitat, disperdersi nell'ambiente per garantire la diffusione della specie. Risulta ora chiaro, allora, perché il più semplice protista sia incredibilmente più complesso, morfo-funzionalmente, di qualunque cellula di qualunque metazoo: ogni protista deve sapersela cavare al meglio nelle diverse situazioni, mentre nessun linfocita saprebbe sopravvivere in uno stagno, né alcun neurone sul fondo del mare! E' giusto, ora, che portiamo a termine il confronto tra protisti e metazoi, dicendo che quest'ultimi, essendosi evoluti nella logica della pluricellularità, hanno finito per impiegare milioni e milioni di cellule per un solo tessuto, tutto devoluto ad una sola funzione! Questa è la ragione per cui il metazoo ha cellule che, singolarmente, sono più semplici dei protisti: perché, avendone grandi quantità specializzate per le diverse funzioni, ha potuto comunque raggiungere livelli incredibili di complessità, ma a livello di organizzazione dell'intero organismo. Mentre una qualunque *Oxytricha* (protista ciliato, appartenente all'ordine degli Ipotrichi) è infinitamente più complessa di qualunque neurone, nessun protista mai potrà raggiungere il confronto con la struttura del sistema nervoso, anche il più elementare, nel suo complesso!

1.6 Riproduzione

Una seconda conseguenza dell'esser piccoli è quello di essere caratterizzati da **tempi di riproduzione brevissimi**: una *Tetrahymena* si divide originando due nuovi organismi, ogni quattro ore circa! Questa caratteristica è molto importante perché permette ai protisti di adattarsi rapidamente all'instaurarsi di condizioni ambientali favorevoli. Facciamo un esempio: una *Tetrahymena* che incontra un ricco ammasso di batteri (per esempio cresciuto nella carcassa di un crostaceo, tipo *Daphnia* o *Cyclops*, precipitato sul fondo) può cibarsene e, dividendosi rapidamente, produrre una ricca popolazione

capace di sfruttare tale risorsa alimentare. Nessun metazoo sarà mai un pericoloso concorrente per un protista, su ranges dimensionali e temporali di questa natura! L'avere poi brevi cicli riproduttivi costituisce un ulteriore vantaggio dei protisti, quando li si voglia usare **per monitorare** la qualità di un certo volume di acqua: qualunque grave fattore inquinante porterà alla rapida scomparsa dei protisti, così come la sua rimozione sarà segnalata prontamente dal rifiorire dei protisti di nuovo, nessun metazoo può essere competitivo da questo punto di vista (risposta nel tempo).

1.7 Distribuzione spaziale

L'ultima conseguenza dell' "esser piccoli", infine, è di enorme portata per la comprensione della loro biologia in generale e del loro ambiente, più in particolare: qualunque braccio di mare, fiume, canale, rigagnolo rappresenta per i protisti che vi abitano **un intero universo di microcosmi**, fittissimamente interconnessi, ma distinti l'uno dall'altro; in altre parole, quello che noi tendiamo a considerare un ambiente, il fondo di un canale, per esempio, risulta per i protisti polverizzato in una miriade di microhabitat diversi tra loro e, ciascuno, distinguibile per la diversa combinazione di molteplici parametri più o meno simili tra loro. Il fondo di tale canale di drenaggio agricolo sarà, perciò, differenziato in diverse zone individuate dalla diversa granulometria della sabbia di fondo, dai diversi gradienti di pH, ossigeno disciolto, nutrienti disponibili, etc.

Tutti i valori di ciascuno di questi parametri saranno molto omogenei tra loro, ma le combinazioni di tante piccole diversità casuali producono l'effetto di avere l'ambiente scomposto in una serie infinita di micropatches, ciascuno ben individuato e caratteristico.

1.8 ...e Temporale

Strettamente correlata all'esser piccoli e allo sperimentare un ambiente assolutamente paradossale dal punto di vista di noi, grossi mammiferi, c'è poi il fenomeno **della discontinuità temporale**. Come è vero che i microhabitat ottimali per una certa specie sono fittamente mescolati a quelli ottimali per altre specie, così è anche vero che, nello stesso punto dello spazio, le caratteristiche ambientali variano continuamente. Questo porta, come conseguenza, che noi non solo dobbiamo immaginarci il fondo del nostro canale come un mosaico di microtessere diverse, di pochi centimetri l'una, nelle quali cambiano continuamente i valori dei principali parametri ambientali. Se manteniamo, allora, il parallelo del mosaico, ce lo dobbiamo immaginare non solo come costituito da tessere molto piccole, ma anche in continuo cambiamento "cromatico"!

1.9 La Grande Biodiversità

La ovvia conseguenza di questo fatto è che la **biodiversità** osservata a livello della comunità dei protisti in qualunque ambiente è sempre grandissima e questo ha una duplice importanza: da una parte rappresenta **un fattore di stabilizzazione** delle condizioni ambientali stesse, dall'altra si presta benissimo ad essere utilizzata proficuamente come approccio al biomonitoraggio potendo essere misurata, così fornendo informazioni ricche, affidabili, rapide sulla qualità di un certo ambiente (per esempio, indice di Shannon).

1.10 Le Nicchie

Ma l'esser piccoli e poter sperimentare l'esistenza di piccole micro-nicchie spaziali e temporali fa sì che nel mondo dei protisti anche il **principio di esclusione** ("se un ambiente presenta una sola risorsa alimentare, una sola sarà la specie che finirà per vincere la competizione con le altre per tale risorsa e per restare dunque a colonizzare l'ambiente a risorsa unica ") assume connotazioni particolari, da discutere brevemente. Si è così visto che, in una beuta contenente due specie di *Paramecium* ed un solo lievito come cibo di entrambe, il principio di esclusione sembra non essere verificato, perché entrambe le specie di paramecio si stabilizzeranno e resteranno presenti indefinitamente, nel tempo; questa apparente "eccezione" al principio di esclusione si è poi visto che non esisteva proprio, perché, in realtà, nella beuta si creano due risorse differenti (Fig. 3): quella rappresentata dai lieviti in sospensione e quella rappresentata dai lieviti precipitati sul fondo! E' sulla base dell'esistenza di due diverse sorgenti alimentari che due diverse specie vivono stabilmente nella beuta!

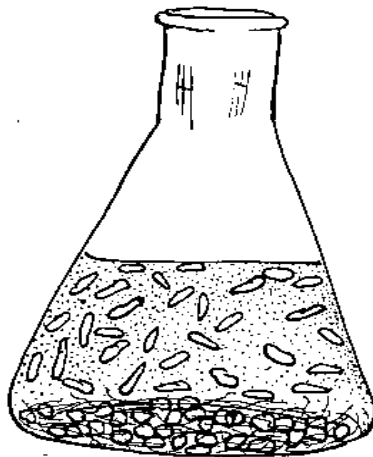


Fig. 3. In una beuta contenente lievito due specie di *Paramecium* possono sopravvivere differenziando le loro nicchie. Una specie si nutre di lievito in sospensione, mentre l'altra identifica come risorsa il lievito adagiato sul fondo.

1.11 La Biologia delle Dimensioni

Un altro "punto" di singolarità dei protisti che ne rende preziosa la biologia è dato dalle loro dimensioni: se in media sono di circa $50\text{--}300\ \mu\text{m}$ è pur vero che le dimensioni dei protisti dal più piccolo al più grande coprono un range di ordini di grandezza superiore a quello di qualunque altro gruppo vivente!

La differenza in dimensioni tra protisti è sinonimo di differenza tra dimensioni cellulari. Ciò è in contrasto con gli organismi pluricellulari in cui la dimensione del corpo è principalmente in funzione del numero delle cellule. Una sezione istologica di un tessuto di un elefante è virtualmente indistinguibile da una sezione dello stesso tessuto di un topo, tranne che quest'ultimo avrà una densità maggiore di mitocondri. Nei protisti, le differenze si riflettono in un numero di adattamenti a livello cellulare. Quindi, il numero di vari organelli, quali nuclei, mitocondri e cinetosomi, aumenta all'aumentare della dimensione cellulare e vi sono ovvi limiti sulle forme dei protisti più piccoli e di quelli più grandi.

Le più piccole cellule eucariotiche (alcuni lieviti, flagellati fotosintetici e alcuni protisti parassiti) misurano intorno ai $2\ \mu\text{m}$ e i più piccoli protisti fagotrofi a vita libera (flagellati chrysomonadini e coanoflagellati) hanno un diametro di circa $3\ \mu\text{m}$. Le loro dimensioni raggiungono appena quelle dei più grandi procarioti quali i cianobatteri. E' concepibile che ciò rappresenti la minima dimensione della cellula eucariotica, che generalmente può contenere almeno un mitocondrio e un nucleo con 100 sino a 1000 volte più DNA della cellula procariotica.

I più grandi protisti sono rappresentati da certi foraminiferi e alcuni sarcodini che possono misurare sino ad 1 cm o più. Alcuni foraminiferi fossili (ora estinti) sono larghi circa 10 cm. Protisti giganti sono tutti molto sottili e piatti o altamente vacuolati. Alcune amebe, quali *Chaos* e *Pelomyxa*, possono misurare diversi millimetri. I più grandi protisti nuotanti sono ciliati giganti, come *Stentor* e *Spirostomum*; tali grandi ciliati spesso sono allungati e vermiformi, o in alcuni casi molto appiattiti come le foglie.

Il vincolo basilare sulla dimensione massima di un organismo unicellulare è il tasso di diffusione. All'interno di una cellula aerobica, l'ossigeno viene trasportato solo dalla diffusione molecolare: perciò, possiamo calcolare la massima dimensione di una cellula sferica per la quale il consumo di ossigeno non eccede il tasso con cui esso può essere trasportato attraverso la cellula, cioè, la dimensione alla quale il centro della cellula ha una concentrazione di O_2 uguale a zero.

Per una distribuzione della concentrazione che sia sfericamente simmetrica, l'equazione di

diffusione prende la seguente forma:

$$\frac{dC}{dt} = D \left(r^{-2} \frac{d}{dr} \left(r^2 \cdot \frac{dC}{dr} \right) \right)$$

in cui C è la concentrazione di ossigeno, r è il raggio cellulare, e D è il coefficiente di diffusione. Nel nostro problema dovremo sottrarre il tasso di consumo di ossigeno R dal membro destro dell'equazione. All'equilibrio, la derivata si annulla ($dC/dt = 0$). Quindi, integrando l'equazione e ponendo $C(r=0) = 0$, troveremo che il massimo raggio oltre il quale il centro della cellula diventa anossico è dato da:

$$r = \left(C_0 \cdot \frac{6D}{R} \right)^{\frac{1}{2}}$$

dove C_0 è la concentrazione esterna di ossigeno. Assumendo che C_0 sia $8 \cdot 10^{-3}$ ml O_2 per ml di acqua (che è circa la saturazione atmosferica) e che D per l'ossigeno nel citoplasma sia i due terzi di quella nell'acqua (che è circa $2.4 \cdot 10^{-5}$ cm²/sec) e che il tasso di respirazione di un grande protista sia in volume $1.2 \cdot 10^{-4}$ ml O_2 per ml di cellula per secondo, troveremo che il massimo raggio di un protista sferico è di circa 0.8 mm, una dimensione corrispondente all'incirca a quella delle più grandi amebe. E' chiaro che queste considerazioni non escludono i grandi protisti con un tasso specifico di respirazione ridotto. Comunque, tali organismi sarebbero probabilmente meno competitivi rispetto ai metazoi di simile taglia dotati di sistemi vascolari che permettono loro di avere tassi respiratori più alti e quindi più alti tassi di crescita e di attività.

Per i protisti natanti i limiti sulla dimensione sono più restrittivi. Questo perché il meccanismo più veloce per il movimento degli organismi unicellulari dipende dalle ciglia, e queste possono spingere gli organismi nell'acqua con una **velocità massima di circa 0.1 cm/sec**. Per il nuoto, è necessario raggiungere una velocità che sia almeno superiore a quella di affondamento. Quindi, per una cellula sferica, la velocità di affondamento v è data da:

$$v = \frac{(2r^2(\rho - \rho_0) \cdot g)}{9\eta}$$

dove r è il raggio, ρ e ρ_0 sono la gravità specifica della cellula e dell'acqua, rispettivamente, g è la costante di gravità e η è la viscosità dell'acqua. Quindi, la velocità di affondamento aumenta con il quadrato del raggio. Ponendo $v = 0.1$ cm/sec, $\rho = 1.1$ e $\eta = 0.01$, troveremo che il diametro di una cellula sferica di un ciliato natante non può superare i 200 μ m circa.

Questi argomenti, sebbene non molto precisi, mostrano che il range nella dimensione dei protisti è limitato dalla loro organizzazione basilare in congiunzione con i limiti fisici fondamentali. E' anche probabile che questi limiti siano stati raggiunti dai reali protisti.

2. LA MOTILITA'

Tutti i protisti mostrano una motilità: in pratica, tutte le forme si muovono liberamente nell'ambiente durante alcune fasi del loro ciclo vitale, e anche le forme che generalmente sono sedentarie mostrano una motilità sotto forma di contrazioni o capacità di generare correnti d'acqua per convogliare le particelle alimentari verso l'apertura orale. Tutti i protisti, di conseguenza, si muovono durante la fagocitosi, la "ciclosi" (movimenti intracellulari di vacuoli alimentari e di altri organelli), e durante la divisione cellulare. La nostra attenzione si focalizzerà soprattutto sul nuoto, sulla generazione di correnti per l'alimentazione e lo strisciare lungo le superfici solide.

2.1. Vita a bassi numeri di Reynolds

L'esser piccoli, anche se può sembrare a prima vista una cosa puramente accidentale e non di

particolare rilievo, rappresenta, invece, un fattore "ambivalente" della loro biologia: da una parte ne limita le potenzialità (sono stati infatti i metazoi a divenire "grandi" e a conquistare nuovi *pabula*), dall'altra ne garantisce la sopravvivenza, in quanto, a certi livelli dimensionali, sono i protisti gli esseri di gran lunga più efficienti e adatti o, in altre parole, da sempre vincenti! Dal nostro punto di vista di biologia generale dei protisti, dobbiamo ricordare che l'esser piccoli fa sì che i protisti sperimentino un mezzo acqueo completamente diverso da quello che un pesce o un uomo che con essi lo condividano si trovano a vivere in un fiume o in un mare! A questo proposito si deve brevemente introdurre il concetto di Numero di Reynolds, $Re = l \cdot v \cdot d / \eta$, dove l è la lunghezza media dell'oggetto in movimento in un fluido, v è la sua velocità e d ed η rappresentano la densità e la viscosità del mezzo in cui l'oggetto si muove. Il numero di Reynolds può essere $\geq 0 \leq 1$: nel primo caso (per l'Uomo è circa 10^6) l'animale si muove nell'acqua nelle condizioni, per noi "normali", in cui le forze inerziali superano quelle viscoelastiche (questa è la ragione per cui una barca prosegue nel suo avanzare, tra un colpo di remo e l'altro!); quando $Re < 1$, invece, sono le forze che "tengono insieme" le molecole del fluido, espresse dalla sua viscosità, che prevalgono su quelle inerziali: in condizioni di bassi Re , dunque, l'organismo avanza solo se, e solo fintanto che, i suoi motori cellulari sono in funzione (un *Paramecium* si ferma in $0.5 \mu m$ da quando le sue ciglia cessano di battere!). In pratica un *Paramecium* che nuota sperimenta l'acqua come qualcosa che l'uomo potrebbe provare facendo il bagno nel miele! Questa caratteristica è importantissima se pensiamo al comportamento locomotorio dei protisti: esso esprime sempre, punto per punto e istante per istante, la risultante motoria dell'azione di tutti gli organuli propulsivi in funzione! Studiandone il comportamento, allora, possiamo monitorare esattamente lo stato di un certo protista in certe condizioni ambientali.

Flagelli e ciglia costituiscono gli organelli natatori più importanti nei protisti. Entrambi sono simili sia dal punto di vista strutturale che funzionale. Il modello microtubulare suggerito da Satir (1984) è ora generalmente accettato. Il principio si basa sul movimento di scorrimento dei microtubuli mediato da molecole della proteina dineina in presenza di ATP e di ioni magnesio. Da un punto di vista idrodinamico, comunque, flagelli e ciglia differiscono nella loro funzione. Vi sono usualmente uno o due flagelli per cellula, mentre le cellule ciliate hanno un alto numero di ciglia. Il movimento della maggior parte dei flagelli è caratterizzato da onde ondulatorie (principalmente su un piano) che iniziano dalla base del flagello. Un cilium ha una sola inclinazione alla volta: il suo movimento è caratterizzato da un efficace colpo in cui il cilium si piega alla base mentre il resto del cilium rimane piuttosto dritto, e da un colpo di recupero durante il quale il cilium torna nella sua posizione iniziale aderente alla superficie cellulare. La frequenza dei battiti delle ciglia e dei flagelli è intorno ai 50 Hz, ma possono essere osservate frequenze molto più basse specialmente in alcuni flagellati. In tutti i casi, la motilità di ciglia e flagelli serve quale propulsore degli organismi nell'acqua o per creare correnti dalle quali può essere catturato il cibo.

Il flagello dei flagellati può essere trovato in due versioni: liscio e irsuto (con pelosità). Il secondo tipo ha file di flagelli ispidi detti "mastigonemi", che modificano le loro proprietà idrodinamiche. I flagelli (e le ciglia) sono in grado di promuovere il movimento della cellula perché il trascinarsi su un cilindro attraverso un fluido viscoso differisce a seconda che esso sia orientato nella direzione del movimento o perpendicolare ad esso. Nel caso di un cilindro liscio, lo sforzo perpendicolare alla direzione del movimento è circa il doppio dello sforzo parallelo. In un flagello liscio, perciò, l'acqua sarà spostata nella stessa direzione delle onde propagantesi lungo il flagello e la spinta sul flagello da parte delle forze viscosi dell'acqua agirà nella direzione opposta. I Choanoflagellati sono un esempio di flagellati con un flagello liscio: l'acqua viene spinta via dal polo anteriore (flagellato) della cellula se esso è attaccato ad un substrato, mentre le cellule non attaccate si sposteranno nell'acqua con il flagello posteriormente alla cellula.

Nei flagelli irsuti, d'altro canto, lo sforzo parallelo al flagello è più grande dello sforzo perpendicolare. Di conseguenza, le correnti d'acqua generate cambiano direzione e si muovono in direzione opposta a quella delle ondulazioni del flagello. I flagellati con flagelli irsuti, se la cellula non è attaccata ad un substrato, nuotano con la cellula posizionata dopo il flagello. I flagelli irsuti si trovano in molti gruppi di flagellati compreso Chrysomonadini, Elioflagellati, Bodonidi, ed Euglenidi. Inoltre, molti di questi flagellati posseggono anche un flagello liscio che può (o non) contribuire alla motilità della cellula.

Le cellule ciliate sono generalmente densamente coperte da ciglia arrangiate in file. In alcuni ciliati queste file sono disposte in meridiani regolari, ma in molte forme esse sono distorte o parti della cellula possono essere prive di ciglia. Uno dei più comuni modi di nuotare dei ciliati natanti è l'onda metacronale prodotta dal movimento ciliare. Queste onde avvengono in differenti modi a seconda della specie e del modo di nuotare. La spiegazione di questo fenomeno è stato l'oggetto di vive discussioni nello scorso secolo in cui sono stati suggeriti vari meccanismi di controllo. E' ora chiaro che il fenomeno è puramente idrodinamico.

Uno speciale tipo di propulsione ciliare è fornito dalle membranelle ciliari di alcuni ciliati. Le membranelle sono file (generalmente tre, ma possono esserne trovate da due a dieci) di ciglia molto densamente disposte. Esse non sono attaccate l'una all'altra, ma la loro stretta prossimità fa sì che le forze idrodinamiche accoppiate le faccia battere in modo sincronizzato. Le membranelle sono situate in zone che consistono di file parallele di membranelle. Le zone di membranelle sono associate con il lato sinistro dell'apertura orale (bocca) in molti ciliati. Nei ciliati Imenostomi vi sono usualmente tre membranelle nella zona orale; nei ciliati Eterotrichi, Oligotrichi e Ipotrichi la zona contiene un gran numero di membranelle, in alcuni casi esse sono più di cento. La funzione principale di queste membranelle orali è quella di creare una corrente d'acqua per convogliare il cibo verso la bocca, ma negli Oligotrichi e Ipotrichi, per esempio, esse servono anche per il movimento.

2.2 Velocità di nuoto

Quale velocità possono raggiungere gli organismi attraverso i flagelli o le ciglia? Empiricamente, sembra che la velocità di nuoto sia dei ciliati che dei flagellati non vari a seconda della dimensione cellulare e nemmeno vari molto entro questi due tipi di organismi. Nella Fig. 4 la velocità di nuoto per dimensione cellulare viene comparata alla dimensione cellulare di numerosi ciliati e flagellati: i risultati indicano che i ciliati nuotano con velocità di circa 1 mm/sec, a prescindere dalla dimensione del corpo. Per i flagellati la velocità è di circa 0,2 mm/sec. Questi risultati sembrano andare in direzione contraria alle nostre osservazioni intuitive sui protisti, dato che i piccoli ciliati sembrano nuotare più rapidamente, mentre quelli più grandi sembrano diminuire la loro velocità all'aumentare della dimensione. Comunque, ciò è perché i piccoli ciliati vengono usualmente osservati ad alto ingrandimento rispetto ai grandi ciliati e ciò tende a valutare la velocità in funzione della taglia dell'oggetto che si muove piuttosto che in funzione di una scala assoluta.

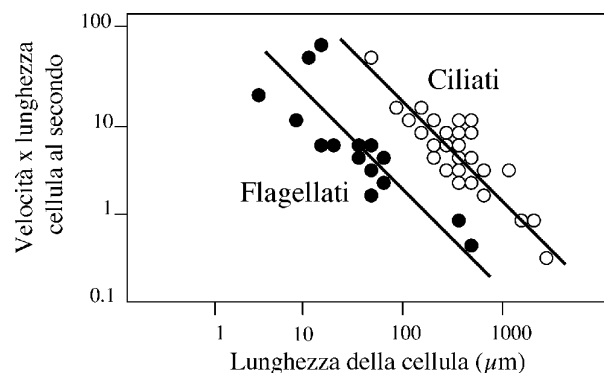


Fig. 4. La velocità di nuoto di 15 specie di flagellati e di ventotto specie di ciliati (espressa come lunghezza cellulare al secondo) comparata alla lunghezza cellulare.

Esistono numerosi, anche se meno comuni, meccanismi di movimento nei protisti che non sono legati a flagelli o ciglia. In parte questi possono essere interpretati come meccanismi per evitare le limitazioni della motilità ciliare nelle grandi cellule. Alcuni dinoflagellati (p.es. *Erythropsis*, Fig. 2) si spostano mediante un tentacolo che si contrae periodicamente, il quale agisce come un pistone. Altri protisti (p.es. il dinoflagellato *Noctiluca*) si sposta mediante deformazioni dell'intera cellula indotte da contrazioni di fibrille contrattili ("mionemi"). Tra i ciliati, una specie di *Vorticella* usa il peduncolo

contrattile per nuotare piuttosto che per attaccarsi stabilmente come fanno le altre vorticelle e l'oligotrico pelagico *Tontonia* ha una lunga appendice posteriore per nuotare.

Molti protisti strisciano o scivolano lungo superfici solide invece di muoversi attraverso il nuoto. Questo avviene anche per alcuni organismi che usano flagelli o ciglia per la locomozione. Molti ciliati scivolano (p.es. Cilioforidi e Loxodidi) o camminano (Ipotrichi) su superfici solide usando ciglia o, nel caso degli Ipotrichi, “ cirri ” (che sono densi fasci di ciglia). Inoltre, alcune forme possono anche attaccarsi temporaneamente a superfici solide usando ciglia “ tigmotattili ”. Quest'ultimo termine non fornisce una spiegazione, ma nel fenomeno sono probabilmente implicate forze di van der Waals.

I Sarcodini così come alcuni organismi classificati come flagellati usano pseudopodi per la locomozione. Questi sono estensioni temporanee della cellula. Il meccanismo della motilità comporta l'azione di filamenti di actina che possono scivolare uno relativamente all'altro mediati da molecole di miosina in presenza di ioni calcio e ATP. Le forze generate possono agire sulla membrana cellulare o sui microtubuli. Il meccanismo di formazione degli pseudopodi, comunque, non è ancora ben conosciuto nei dettagli. Vi sono diversi tipi di pseudopodi: i lobopodi, caratteristici delle amebe, sono strutture ben evidenti presenti solo in numero di uno o pochi contemporaneamente; i filopodi, molto sottili e numerosi, si trovano in organismi come *Euglypha*; i reticolopodi, che sono reti anastomizzate di pseudopodi molto sottili sostenute da microtubuli, si trovano ad esempio nei foraminiferi; gli assopodi, strutture diritte e spesso rigide sostenute da microtubuli, si trovano negli eliozoi, radiolari e acantari. Tutti i tipi di pseudopodi possono svolgere anche un ruolo nella cattura delle particelle di cibo.

Un importante aspetto della motilità è, di conseguenza, il suo controllo. Il fattore di controllo sembra essere in tutti i casi la concentrazione interna di Ca^{2+} e i flussi di questo ione bivalente sembrano essere correlati ai cambiamenti del potenziale di membrana della cellula. Nei sistemi di motilità basati sui microtubuli come le ciglia e i flagelli, aumentati livelli di ioni calcio rallentano o invertono il ciclo del battito, mentre l'iper polarizzazione (e l'associato efflusso di calcio) porta ad un aumento della frequenza di battito.

2.3 Orientamento nell'ambiente

Esistono concretamente solo due ragioni per la motilità dei protisti: catturare le particelle alimentari e muoversi verso nuove località. Consideriamo per primo l'ultimo aspetto di motilità. L'abilità dei protisti di lasciare ambienti sfavorevoli per aggregarsi in altri più attraenti è ben documentata. Una comune dimostrazione didattica è quella di iniettare una piccola goccia di acido acetico all'interno di un'altra goccia molto più grande contenente una sospensione di parameci. Dopo pochi minuti, le cellule si aggregano in un anello attorno alla goccia di acido acetico ad una distanza corrispondente al loro valore ambientale di pH preferito. Effetti simili possono essere osservati in gradienti di ossigeno che si formano attorno alle bolle d'aria nelle preparazioni microscopiche. I protisti fotosintetici (e i protozoi che contengono cellule fotosintetiche simbiotiche) si addensano nei punti con più luce.

Tali fenomeni, spesso erroneamente, vengono riferiti come “comportamento tattile ” (p. es. chemotassi, fototassi, ecc.) e talvolta il termine viene anche usato al posto di una spiegazione di quale meccanismo usino gli organismi per orientarsi nel loro ambiente. Sarà molto più utile iniziare la discussione considerando alcuni possibili meccanismi. Seguendo le indicazioni di diversi autori, possono essere considerati responsi orientati solo i tattismi (o tassie): l'organismo “ conosce ” la direzione di uno stimolo o di un gradiente di alcuni stimoli. Nello stabilire i casi, il comportamento tattile viene associato ad alcuni tipi di complessi organelli sensoriali che possono canalizzare lo stimolo. Per esempio, nel caso di gradienti chimici, un responso tattile richiede che la cellula sia capace di percepire una differenza di concentrazione di una sostanza tra la parte apicale e la fine posteriore della cellula. Fornendo gradienti chimici molto graduali, un tale meccanismo può essere possibile per i più grandi sarcodini, in particolare per quelli con pseudopodi molto estensibili, ma, in generale, è probabilmente certa l'affermazione che la chemotassi non avviene nei protisti. Il comportamento tattile in generale non è molto comune nei protisti (i microbiologi usano il termine chemotassi per tutte le risposte ai gradienti chimici; nei fatti, il solo stabilito caso di risposta tattile in un procariote è probabilmente la magnetotassi descritta in alcuni batteri microaerofili).

Comunque, sono disponibili altre opzioni ai protisti per orientarsi nell' ambiente. La motilità dei protisti può essere descritta come un "cammino casuale". Se una singola cellula, come un ciliato, viene seguita per un certo periodo di tempo, può essere osservato che **percorsi** più o meno dritti vengono interrotti da **intervalli** in cui la cellula si ferma per brevi momenti e poi continua in un'altra direzione. La nuova direzione può essere casuale oppure essere legata alla precedente direzione di nuoto. I periodi di intervallo sono dovuti a spontanee depolarizzazioni della membrana cellulare, che induce un afflusso di ioni calcio e una inversione ciliare. Dopo che il potenziale della membrana cellulare si è ripristinato, la cellula riprende a nuotare avanti. Se si osserva un'intera popolazione per un periodo di tempo ragionevolmente lungo, relativamente all'atteso tempo tra un intervallo e l'altro, in un contenitore ragionevolmente largo relativamente alla lunghezza media di un percorso dritto, allora può essere descritta la motilità come un processo di diffusione e quantificata attraverso un coefficiente di diffusione D . Se le cellule al tempo zero sono concentrate in un punto di un tubo capillare, la loro distribuzione al tempo t sarà normale con una varianza di Dt . Il coefficiente di diffusione è proporzionale al quadrato della velocità di nuoto e tempo medio tra un intervallo e l'altro.

I protisti possono modificare la loro motilità (coefficiente di diffusione) secondo le condizioni ambientali, mediante cambiamenti dei parametri di motilità: velocità di nuoto e frequenza degli intervalli. Questo tipo di risposta viene detta "kinesi". Si può distinguere tra "ortokinesi" in cui viene modificata la velocità, e "clinokinesi" in cui viene modificata la frequenza degli intervalli, tuttavia, nei protisti l'aumento della velocità di nuoto è correlata con l'atteso tempo tra un intervallo e l'altro cosicché entrambi sono correlati: (Nei batteri avviene solo la clinokinesi; la velocità del nuoto non può essere modulata).

La terza categoria di risposta comportamentale da considerare è la "risposta transitoria". Un tipo di tale risposta transitoria è ben documentato in letteratura col nome di "risposta fobica" o "reazione di fuga". Una reazione di fuga dei ciliati può essere osservata quando una cellula improvvisamente entra in un'area con condizioni sfavorevoli. Questo porta immediatamente alla depolarizzazione della membrana cellulare e all'inversione ciliare. Questo comportamento aumenta la probabilità che la cellula possa tornare indietro in una zona più vivibile. La risposta è transitoria (dell'ordine di pochi secondi); se non fosse così essa sarebbe disgenica. Questo è dovuto al fatto che se la cellula non fugge immediatamente dalle condizioni sfavorevoli essa rischierà di essere intrappolata lì se mantiene un'alta frequenza di intervalli. Avviene anche l'opposto di risposta fobica. Se una cellula entra in una zona molto attraente, viene soppressa la fase di intervallo e aumenta temporaneamente la velocità di nuoto; ciò diminuisce la probabilità che la cellula ritorni nella zona meno attraente.

Tali risposte transitorie, possono guidare le cellule lungo i gradienti ambientali se questi sono sufficientemente graduati da indurre la risposta entro la lunghezza di un percorso. Se, per esempio, una cellula è situata in un gradiente di una sostanza attrattiva, e se nuotando in direzione di valori alti del gradiente sopprime gli intervalli mentre nuotando verso valori bassi del gradiente induce gli intervalli, allora il coefficiente di diffusione sarà differente nelle due direzioni e le cellule tenderanno a spostarsi verso i valori alti. Questo tipo di risposta può sembrare una risposta tattile, tuttavia essa differisce. Le risposte transitorie implicano una sorta di "memoria", cioè un confronto tra condizioni ambientali all'interno di un breve intervallo di tempo, corrispondente grossolanamente a circa la lunghezza di un percorso.

Un modo di visualizzare la differenza tra risposte tattili e gli altri due tipi di risposte è quello di prendere un contenitore di vetro contenente una sospensione di flagellati verdi. Su un lato del contenitore un pennello di luce viene emesso da una lente convessa in modo che la luce si focalizzi in un punto al centro del recipiente. I flagellati che utilizzano la fototassi si riuniranno alla parete del contenitore il più vicino alla lente, sebbene facendo così essi aggregano dove la luce è meno intensa. I flagellati che usano risposte cinetiche e transitorie, al contrario, si aggregeranno al centro del contenitore dove la luce è più intensa.

Allo scopo di riassumere e comparare le proprietà basilari dei tre tipi di risposta, possiamo affermare che:

- Le risposte tattili sono molto efficaci nelle più grandi distanze dal momento che il tempo intercorso per raggiungere il luogo desiderato è proporzionale solo alla distanza ed inversamente proporzionale alla velocità di spostamento (o piuttosto ad alcune frazioni della velocità di nuoto dato che la motilità

dei protisti spesso ha certi elementi di casualità). L'evento relativamente raro della risposta tattile è dovuto al fondamentale vincolo strutturale e funzionale, specialmente dei piccoli protisti, che non permette loro di rilevare direttamente i gradienti chimici e alla legge del numero di Reynolds che esclude le risposte " reofile " (p.es., muoversi contro- o sotto vento) così comuni negli animali metazoi.

- Le risposte cinetiche sono veloci nelle piccole distanze, ma la loro efficienza diminuisce con il quadrato della distanza. Esse sono l'unico mezzo di orientamento tra i grandi appezzamenti (patches) ambientali, ciascuno dei quali è omogeneo rispetto le condizioni ambientali. Nelle distanze molto brevi (misurate in relazione alle lunghezze medie dei percorsi) e nei gradienti gradualmente, le risposte cinetiche rappresentano un tipo di orientamento piuttosto inadeguato.
- Le risposte transitorie, infine, rappresentano l'orientamento più accurato nei piccoli appezzamenti ambientali e nei gradienti gradualmente. (Le risposte transitorie non sono facili da analizzare matematicamente, ma si prestano a simulazioni computerizzate. Ciò è stato fatto e sfortunatamente, molti dei dati sperimentali dimostrano che questo tipo di comportamento è di natura piuttosto qualitativa).

Il comportamento chemosensoriale è stato documentato in numerose specie di protisti. Sembra che molecole recettrici siano situate nella membrana cellulare e la risposta motoria sia spesso associata a fenomeni bioelettrici della membrana. La natura delle molecole recettrici non è conosciuta nei dettagli. Nel caso della sensibilità all'ossigeno in *Euglena* e in *Loxodes* è stato suggerito che la molecola recettrice è la citocromo ossidasi dal momento che la risposta viene inibita dal cianuro.

Paramecium è il classico organismo per studi comportamentali nei protisti e le sue risposte cinetiche e transitorie sono ben documentate. E' stato mostrato che questo ciliato batteriofago viene attratto da estratti batterici. Un altro ciliato, *Tetrahymena*, che in natura si ciba di parti di materiale organico in decomposizione, viene attratto da una varietà di aminoacidi. In questo caso, le risposte sia cinetiche che transitorie guidano le cellule verso la fonte attraente. Questa sorta di comportamento chemosensoriale è ovviamente adattativo per le numerose specie di protisti che dipendono dai patches di risorse alimentari.

Il comportamento chemosensoriale è anche importante nei processi sessuali. I coniuganti di molte specie di ciliati e di gameti di alcuni flagellati secernono " gamoni " solubili nell'acqua. Questi gamoni sono mating-type specifici e attraggono altri tipi mating-types della stessa specie.

Molti protisti rispondono all'ossigeno, che può essere un attraente o un repellente, a seconda della specie e della tensione di ossigeno ambientale. La risposta all'ossigeno e l'abilità di molte specie di evitare le condizioni anossiche è facilmente osservabile nei contenitori con materiale in decomposizione. Qui i protisti generalmente si addensano in superficie a contatto diretto con l'aria. Molti protisti che dimorano nei sedimenti mostrano modelli di zonazione verticale, che almeno in un caso, cioè nei ciliati del genere *Loxodes*, è dovuta ad una risposta diretta all'ossigeno. Se il sedimento diventa totalmente anossico questi ciliati migrano più in alto nella colonna d'acqua. *Loxodes* è una specie microaerofila che preferisce tensioni di ossigeno intorno al 5% della pressione atmosferica. La risposta all'ossigeno è complessa. A livelli di O_2 superiori all'optimum, le cellule diventano positivamente geotattili ed aumentano la velocità di nuoto sopprimendo gli intervalli. Un repentino aumento del livello di O_2 induce una reazione di fuga. In acque anossiche i ciliati mostrano una geotassi negativa e aumentano anche la velocità di nuoto rispetto alle condizioni ottimali. Queste risposte comportamentali possono, insieme, determinare i modelli di distribuzione degli organismi nei gradienti di ossigeno. Il fatto che questi ciliati evitino alte concentrazioni di ossigeno può essere parzialmente spiegato dalla produzione intracellulare di radicali ossigeno tossici. La loro produzione è chiaramente accresciuta fotochimicamente in questi ciliati pigmentati, e in presenza anche di piccole quantità di O_2 essi rispondono alla luce con una geotassi negativa come se la concentrazione di ossigeno fosse aumentata. Questa risposta negativa alla luce viene inibita dal cianuro e il recettore della luce è perciò identico al recettore dell'ossigeno.

I protisti fotosintetici sono attratti dalla luce. I flagellati generalmente hanno un " occhio " puntiforme, formato da un addensamento di goccioline di carotenoidi situato usualmente alla fine anteriore della cellula. Questo, comunque, non viene considerato un fotorecettore, che è situato alla base

del flagello. In *Euglena* si pensa che le risposte locomotorie siano provocate quando l'occhio puntiforme proietta un'ombra sulla base del flagello. In questo modo il fotorecettore e l'occhio puntiforme insieme analizzano la direzione dei raggi luminosi, evidenziando la vera risposta fototattile di questo flagellato.

La recezione meccanica è comune nei protisti e i ciliati in particolare spesso mostrano inversioni ciliari quando collidono con oggetti solidi. Le ciglia sono state per lungo tempo considerate giocare un ruolo di meccanorecettori, specialmente le ciglia immobili corte e rigide poste sul dorso di *Euplotes*. Tuttavia, ora si sa che le ciglia agiscono solo come leve e che la trasduzione del segnale meccanico è dovuto alla deformazione meccanica della membrana cellulare, che porta ad un cambiamento del potenziale di membrana e quindi ad una risposta locomotoria. Nei ciliati *Dileptus* e *Paramecium* si è visto che la risposta elettrica della membrana alla deformazione meccanica differisce tra regioni della cellula. Quando un ciliato viene meccanicamente stimolato nel suo polo inferiore, ne segue una iperpolarizzazione e quindi un aumento della velocità di nuoto, mentre quando la cellula viene stimolata al suo polo superiore ne segue una depolarizzazione e quindi una inversione ciliare.

3. L'ALIMENTAZIONE

3.1 Considerazioni Generali

La **fagocitosi** è un aspetto essenziale dell'alimentazione dei protisti. L'alimentazione consiste di due processi, ciascuno dei quali può limitare l'effettivo tasso di alimentazione. Il primo di questi è appunto il processo di fagocitosi, cioè l'inclusione di una particella alimentare in un vacuolo in cui avviene la digestione. Nei ciliati e in molti flagellati fagotrofi essa avviene in uno speciale sito sulla superficie cellulare, il "citostoma", che è coperto da una singola unità di membrana dalla quale vengono formati i vacuoli alimentari. Il citostoma è spesso associato a vari organelli nel circostante citoplasma, in particolare fasci di microtubuli che giocano un ruolo importante nel trasporto delle particelle catturate. Sulla superficie, intorno al citostoma, una varietà di organelli ciliari e di altro tipo servono a concentrare o trattenere le particelle alimentari. L'intera area viene generalmente detta "bocca". Nei sarcodini, invece, la fagocitosi avviene in ogni punto della superficie cellulare.

Il tasso massimo con cui può avvenire la fagocitosi stabilisce il limite superiore del tasso di alimentazione di un protista. Il massimo volume ingerito da un piccolo ciliato o flagellato è circa il 100 per cento del volume cellulare per ora, che è conforme con il minimo tempo di duplicazione di tali organismi di circa tre ore. Nei grandi protisti questo valore è più basso: circa il 50% del volume cellulare per ora.

L'altro processo implicato nella alimentazione è quello della concentrazione di particelle alimentari dall'ambiente. E' possibile che i primi protisti Precambriani inghiottissero semplicemente porzioni d'acqua circostante e ingerissero qualunque batterio ivi presente; tuttavia, le forme attualmente esistenti hanno sviluppato vari meccanismi con i quali le particelle alimentari diluite nell'ambiente possono essere concentrate prima della fagocitosi. La varietà di questi adattamenti contribuisce alla diversità delle forme di protisti.

La prima cosa da considerare è come quantificare il tasso con cui un organismo concentra le particelle. Una misura ragionevole è la "chiarificazione" F , attraverso cui si intende eliminata da particelle alimentari l'acqua per unità di tempo. Prenderemo in considerazione per il momento solo organismi che si cibano di particelle sospese, sebbene i principi sopra esposti possano facilmente essere adattati agli organismi che si alimentano di particelle associate a superfici solide. La chiarificazione (clearance) è quindi uguale alle particelle catturate per unità di tempo U , diviso per la concentrazione di particelle sparse nel mezzo liquido x , quindi: $F=U(x)/x$. Il tasso di cattura di cibo, comunque, non aumenta linearmente con la concentrazione delle particelle dato che all'aumentare di x il tasso di fagocitosi diventa limitante. Assumendo che sia necessario un tempo finito t' per fagocitare una unità di particella alimentare, durante cui non può avvenire una addizionale fagocitosi, il tasso di cattura del cibo come funzione della concentrazione ("risposta funzionale") delle particelle alimentari diventa:

$$U(x) = xF_m (1-t'U)$$

dove F_m è il massimo valore di chiarificazione realizzato per valori molto bassi di x . Riarrangiando l'equazione avremo:

$$U = \frac{x \cdot U_m}{\left(\frac{x + U_m}{F_m}\right)}$$

dove U_m è il massimo tasso di fagocitosi ($= 1/t'$).

Questa equazione è una funzione iperbolica nella quale all'aumentare di x , $U=U_m$; la pendenza all'origine è F_m (Fig. 5). Questa equazione è analoga a quella di Michaelis-Menten descrivente la cinetica enzimatica, evidenziando anche, per esempio, che il tasso di assorbimento di un nutriente disciolto da parte di una cellula batterica è in funzione della concentrazione. Questo modo di descrivere l'equazione mostra che la "costante di semisaturazione" (U_m/F_m) è un parametro ad hoc che non ha un ovvio significato biologico. La costante di semisaturazione può essere interpretata come rapporto tra capacità di ingerire particelle ed efficienza con cui le particelle vengono concentrate. Questo è in analogia all'assorbimento di molecole disciolte da parte di una cellula batterica. Qui la costante di semisaturazione (Monod) misura il rapporto tra capacità di trasporto della membrana cellulare e tasso di ingestione quando sia limitato solo dal tasso di diffusione fuori dalla cellula. Anche in questo caso, è l'ultima misura e non la costante di semisaturazione che dà informazioni sull'abilità competitiva a concentrazioni molto basse di substrato. I parametri significativi sono U_m e F_m ; l'ultimo (e non il rapporto U_m/F_m) è una misura diretta dell'abilità competitiva per una risorsa scarsa. Questo è stato ampiamente ignorato nella letteratura scientifica, e ha portato a conclusioni non corrette sul ruolo delle sostanze organiche disciolte come cibo per i protisti.

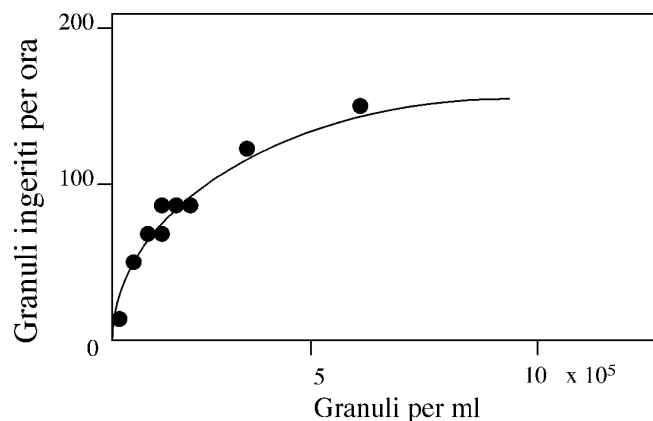


Fig. 5. Ingestione di particelle di $2\mu m$ da parte del ciliato oligotrico Halteria grandinella, in funzione della concentrazione di particelle. I dati sono adattati alla funzione iperbolica. La pendenza all'origine è il massimo tasso di chiarificazione che è $6.7 \cdot 10^{-4}$ ml/h. Il volume del ciliato è di circa $8 \cdot 10^3 \mu m^3$, così esso chiarifica circa $8 \cdot 10^4$ volte il suo volume cellulare per ora. Il massimo tasso di ingestione è circa 190 particelle all'ora (da Fenchel, 1987).

I reali valori di U_m e F_m possono essere determinati in vari modi. Uno di questi è di misurare l'ingestione di particelle alimentari in funzione della concentrazione. E' anche possibile calcolare i valori da esperimenti in colture dato che il tasso di crescita esponenziale costante è proporzionale al tasso di consumo di cibo (la crescita prodotta essendo la proporzionalità costante). Esempi di tali esperimenti sono mostrati in Fig. 6. Per ciascuna specie F_m e U_m sono funzioni della qualità delle particelle. In particolare, la dimensione delle particelle influisce sulla efficienza di ritenzione e sul tasso di fagocitosi.

3.2 Meccanismi di Alimentazione

Quale meccanismo utilizzano i protisti per concentrare le particelle alimentari? Alle dimensioni e velocità caratteristiche dei protisti, ogni meccanismo basato su forze inerziali può essere escluso. Per gli organismi che si alimentano di particelle sospese vi sono tre possibilità e questi meccanismi possono essere denominati “filtraggio”, “intercezione diretta” e “raccolta passiva”. Questi meccanismi sono analoghi ai metodi per la cattura dei pesci, cioè: pesca con la paranza, pesca con la fiocina, e uso di trappole.

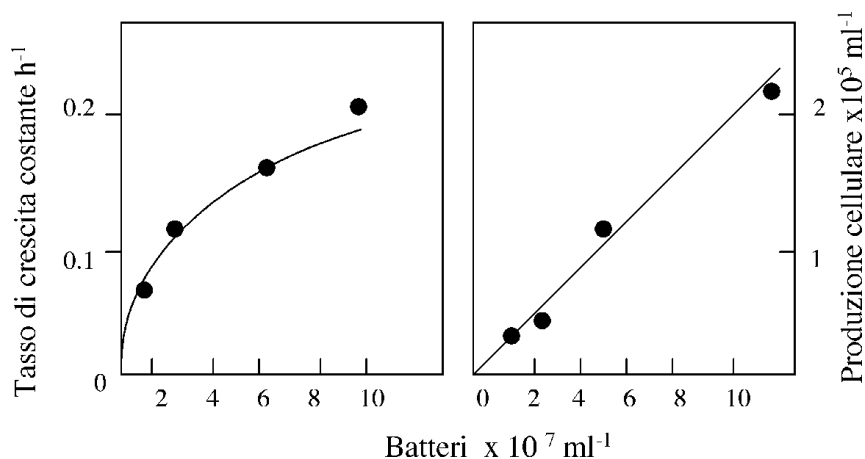


Fig. 6. Tasso costante di crescita (sinistra) del flagellato fagotrofico *Paraphysomonas vestita*, in funzione della concentrazione ambientale di batteri. Produzione finale di flagellati in funzione del numero iniziale di batteri in quattro culture batch (destra).

Il filtraggio si basa sul trasporto di acqua attraverso un filtro formato da ciglia o da tentacoli pseudopodiali, che filtrano le particelle alimentari dall'acqua. Benché le strategie delle singole specie possano variare tra loro, resta sempre valido il principio secondo cui il protista con organuli motori fa circolare l'acqua in modo forzato attraverso strutture capaci di bloccare particelle “opportune”, sia per dimensioni che per qualità (Fig. 7). Nei Coanoflagellati, il flagello rappresenta il propulsore, mentre il collaretto di microvilli citoplasmatici è il filtro adibito alla raccolta delle particelle alimentari. Diversa è invece la situazione di molti ciliati (*Vorticella*, *Euplotes*, ecc.) che, invece, acquisiscono membranelle ciliari molto sofisticate in struttura e funzione, le quali rivestono il duplice ruolo di propulsori delle correnti d'acqua e filtri delle particelle. Benché i singoli casi siano discussi in testi più specialistici, resta valido il principio fondamentale: propulsore + filtro. L'intercezione diretta o “**alimentazione raptorale**” è quella delle specie di protisti predatori. Sia che la preda sia percepita da una certa distanza e “inseguita” più o meno efficientemente, sia che finisca in contatto con il predatore per caso, si assiste sempre ad una scarica di sostanze tossiche capaci di immobilizzare la preda e permetterne l'interiorizzazione da parte del predatore. E', questo, il tipo più sofisticato di alimentazione e anche quello che, per primo, ha permesso ad alcuni protisti di assumere cibo energeticamente più ricco e, pertanto, più prezioso. E' stato osservato molto frequentemente che alcuni predatori si specializzano su certe prede (p.es., *Didinium nasutum* predatore di *Paramecium aurelia*) e questo fatto è spiegato come un tentativo di ridurre la competizione interspecifica sulle prede: si sopravvive tutti, anche se con un po' di difficoltà, cioè con un minor numero di organismi per popolazione!

Mentre i primi due meccanismi si basano sulla motilità del protista, il terzo meccanismo, la raccolta passiva, richiede la motilità della preda, che viene intercettata anche senza il movimento del predatore.

Allo scopo di dare un senso all'importanza di questi meccanismi e della loro relativa efficienza, è utile considerare modelli molto semplificati per protisti che si alimentano di particelle in sospensione. Nel caso di filtratori, il tasso di cattura è proporzionale alla concentrazione delle particelle alimentari, all'area del filtro e alla velocità della corrente d'acqua che la cellula genera. Quindi, il tasso di cattura è: x

$R^2 v$; dove x è la concentrazione di particelle nell'ambiente, R è la lunghezza della cellula e v è la velocità dell'acqua. La chiarificazione volume-specifica viene quindi trovata dividendo per x il volume della cellula, che è proporzionale a R^3 , per dare l'espressione $R^{-1}v$. (Ogni realistico modello che vuole predire il tasso di chiarificazione di un reale protista, deve, di conseguenza, considerare dettagliatamente la geometria della cellula così come le considerazioni idrodinamiche. Comunque, l'espressione data sopra produce risultati corretti nell'ambito dell'ordine di grandezza: se $v = 300 \mu\text{m/sec}$ e $R = 10 \mu\text{m}$, allora la chiarificazione volume-specifica è circa 10^5 per ora.)

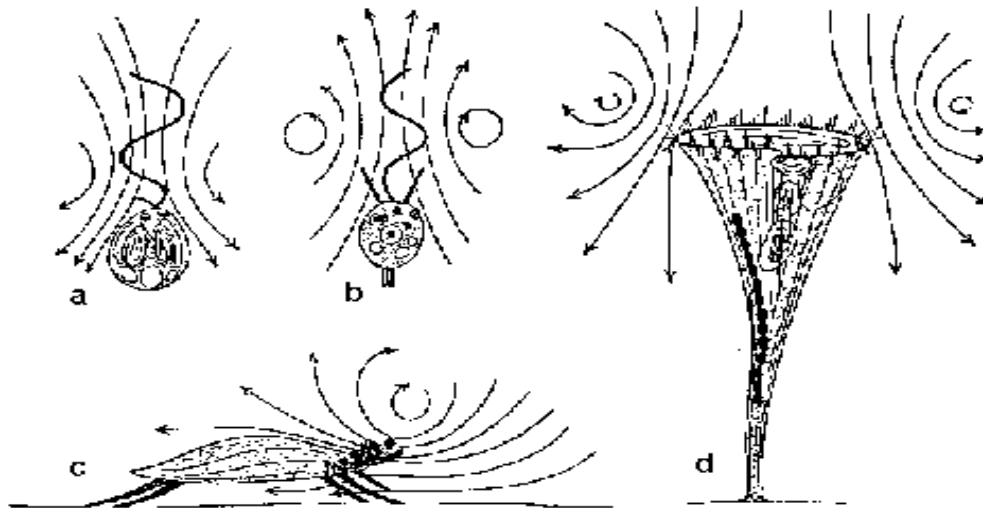


Fig. 7. Correnti d'acqua che portano cibo alla cellula vengono create dai flagelli in *Ochromonas* (a), un membro dei *Crysophyta*, e in *Codosiga* (b), un coanoflagellato, e da attività coordinate di ciglia in *Euplotes* (c) e *Stentor* (d)

Per un protista raptorale sferico (raggio $=R$) che cattura particelle (di raggio: r) attraverso il secondo meccanismo di intercezione diretta, esistono "linee di flusso critiche" entro cui le particelle possono essere intercettate. L'area della sezione del flusso passato dalla cellula entro le linee di flusso critiche è $2 \pi R r$, (se $R \gg r$, e se si assume che le particelle possano essere intercettate lungo la linea equatoriale della cellula), così la chiarificazione volume-specifica sarà quindi proporzionale a $R^{-2} r v$. L'efficienza di un predatore raptorale dipende perciò dalla taglia della preda. Per comparare le efficienze di un filtratore e di un raptorale di uguali dimensioni e capaci di generare una velocità di corrente simile, possiamo dividere l'espressione della chiarificazione dell'ultimo (raptorale) con quella del primo (filtratore) per arrivare all'espressione r/R ($R^{-2} r v / R^{-1} v = r/R$). Questo ci mostra che l'efficienza di rimozione di particelle è una funzione del rapporto tra le dimensioni del predatore e della preda. Se le particelle alimentari sono sufficientemente piccole, la filtrazione è il meccanismo più efficiente. L'evidenza empirica per i ciliati mostra che se il rapporto di taglia preda/predatore supera circa 0.1, predomina il meccanismo raptorale, ma se le particelle sono molto piccole si osservano prevalentemente i filtratori (Fig. 8). Quindi, molti piccoli ciliati predatori (p.es., *Litonotus*, *Didinium*) si nutrono di altri ciliati come *Colpidium* e *Paramecium* mediante intercezione diretta, mentre il ciliato gigante *Bursaria* (che misura sino a 1 mm) si alimenta di organismi prede attraverso la filtrazione.

L'ultimo meccanismo è la **raccolta passiva**, quello della rete tesa per catturare prede che cascano per caso (tipico il caso dei Radiolari e dei Foraminiferi). Questa tattica è poco dispendiosa ed offre una soluzione adeguata al problema della sopravvivenza solo a specie a basso metabolismo. Molti protisti si avvalgono di questa tecnica nutritizia e tutti hanno la necessità di estendere ed estroflettere parte del citoplasma, in forma di sottilissimi filamenti, più o meno rigidi, più o meno radiati, più o meno interconnessi, ma comunque estremamente appiccicosi. Con essi le prede vengono catturate ed avviate al corpo centrale dove vengono interiorizzate.

A questo meccanismo può essere assimilata la tecnica dell'alimentazione per diffusione, legata al modo con cui un batterio assorbe molecole organiche da una soluzione. Può essere mostrato che a basse

concentrazioni di particelle (il caso di diffusione limitata in cui la concentrazione di particelle alla superficie dell'organismo è zero) il tasso di assorbimento di un collettore sferico è $4\pi RDx$, dove D è la motilità (coefficiente di diffusione) delle particelle (o molecole); perciò la chiarificazione volume-specifica è proporzionale a R^2D .

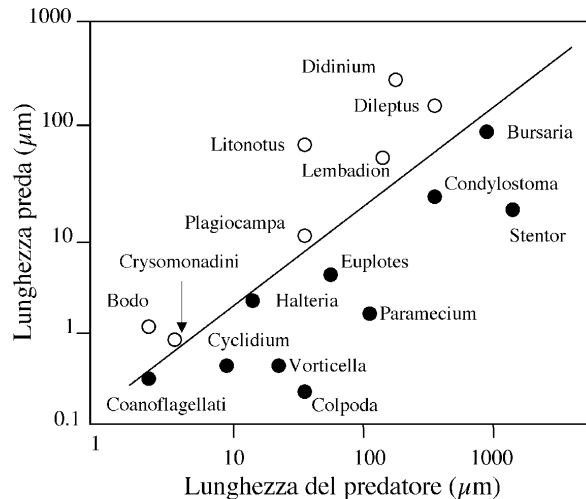


Fig. 8. Dimensione media delle particelle alimentari in funzione della dimensione cellulare in diversi protisti filtratori (punti neri) e raptoriali (punti bianchi). La linea corrisponde al rapporto particella alimentare/dimensione cellula di 1/10.

L'efficienza del meccanismo dipende dalla motilità della preda. Per i piccoli eliozoi batteriofagi è stato calcolato che nel caso di batteri immobili, i movimenti Browniani da soli produrranno una chiarificazione di due o tre ordini di grandezza troppo bassi per rendere questi protisti competitivi con altre forme batteriofaghe. Se vengono considerati i batteri mobili, comunque, l'efficienza del meccanismo è comparabile a quello dei protisti che utilizzano l'intercezione diretta (p.es., i flagellati chrysomonadini).

Per le forme che si alimentano di **particelle associate a superfici solide**, la filtrazione non avviene. Tuttavia, è ancora possibile distinguere tra forme che strisciano lungo la superficie allo scopo di intercettare la preda e quelle che stendono i loro pseudopodi in un'ampia area per intrappolare le prede mobili.

Ci sono numerosi meccanismi che possono accrescere la cattura di particelle. Uno di questi è quello di attirare la preda (continuando l'analogia con la pesca, sarebbe come usare la lenza). Alcuni foraminiferi ed eliozoi, come abbiamo già visto, secernono sostanze che attirano i flagellati che poi possono essere catturati da questi predatori. Tuttavia il fenomeno non è stato studiato approfonditamente. Il flusso d'acqua che passa attraverso un filtratore è più grande quando l'organismo è attaccato ad una superficie solida rispetto a quando è natante. Questo perché la spinta del flagello o delle ciglia di un organismo natante deve bilanciare l'attrito incontrato dalla cellula quando si muove nell'acqua. Per questo motivo, molti protisti filtratori tendono ad attaccarsi ad oggetti solidi quando filtrano. Alcune di queste forme rimangono permanentemente attaccate (p.es., i ciliati Peritrichi e alcuni Coanoflagellati) ed altre si attaccano o si fermano temporaneamente mentre si alimentano (p. es., alcuni ciliati come *Cyclidium* o *Euplotes*). Questo, comunque, pone un altro problema per i protisti, cioè, l'attrito dovuto alla prossimità di una superficie solida, un effetto che può rallentare il flusso d'acqua in modo considerevole. Può essere visto che ad una data distanza dal substrato, l'effetto è considerevolmente più grande se la corrente alimentare è perpendicolare alla superficie solida piuttosto che parallela. Quindi, i coanoflagellati, *Vorticella* e *Stentor*, che muovono l'acqua perpendicolarmente alla superficie solida, hanno degli steli, mentre organismi come *Euplotes* e *Cyclidium*, che muovono la corrente d'acqua parallelamente alla superficie, necessitano solo di ciglia per rimanere sufficientemente lontani dalla superficie. L'effetto della superficie solida è una funzione del rapporto tra la distanza della superficie e il raggio del filtro. Quando, nel caso di un flusso perpendicolare, questo rapporto supera il valore di otto,

l'effetto di una superficie solida diventa trascurabile; questo è appunto il rapporto tra la lunghezza del gambo o stelo e la dimensione del filtro trovato nei protisti filtratori che oscilla da 10-20 μm nei talli dei coanoflagellati a quasi 2 mm di altezza degli *Stentor*.

3.3 Un Mondo di Gozzoviglie e Carestie

Una ulteriore considerazione va fatta su un ultimo aspetto della biologia alimentare dei protisti, quello, cioè, cui ci si riferisce con l'espressione "feast and famine existence". Questa apparentemente enigmatica espressione inglese, letteralmente riferentesi al fatto che la vita dei protisti avviene tra "gozzoviglie e carestie", è stata usata per ricordare la marcatissima discontinuità spaziale in cui l'esistenza di questi organismi si svolge. Dobbiamo avere chiaro in mente, in altre parole, che la vita di un protista lo porta da aree "favorevoli" (= ricche di cibo) in cui vive la fase "gozzoviglia", in altre, molto più estese, in proporzione, in cui il cibo non è disponibile e il protista deve continuare ad esplorare, sopravvivendo in condizioni sfavorevoli, di "carestia", cioè. Questa inevitabile difficoltà per la sopravvivenza di ogni protista porta come conseguenza fisiologica che esso debba esser capace da una parte di sfruttare con la massima efficienza possibile l'eventuale fioritura di cibo, dall'altra di resistere a prolungati periodi di affamamento senza ridurre significativamente le potenzialità di riproduzione, alla ripresa delle condizioni favorevoli.

4. IL METABOLISMO

4.1.Crescita bilanciata

Per crescere e dividersi, i protisti devono assimilare "mattoni" per la sintesi dei costituenti cellulari (metabolismo assimilativo). Essi hanno bisogno anche di energia libera per la sintesi di macromolecole, per il mantenimento dell'integrità della cellula, e per vari processi che migliorano la sopravvivenza della cellula (metabolismo dissimilativo). E' necessaria energia anche per il lavoro osmotico, elettrico e per la motilità. Negli eucarioti eterotrofi, il metabolismo assimilativo e dissimilativo si basano su molecole organiche. In un contesto ecologico, è interessante conoscere l'efficienza di conversione del cibo in biomassa cellulare e il tasso con cui questa conversione avviene.

In molti trattamenti di bioenergetica ecologica, la "crescita bilanciata" viene assunta implicitamente. In un ambiente costante, una popolazione di cellule aumenterà esponenzialmente e indipendentemente dalla quantità della popolazione (p.es., numero di cellule, carbonio organico, DNA, consumo di ossigeno), il tasso di crescita costante rimarrà lo stesso. La crescita bilanciata implica che la "struttura per età" (cioè, l'abbondanza relativa ai diversi stadi del ciclo vitale) sia costante nel tempo. In un ambiente costante questo avverrà anche se inizialmente la popolazione ha una struttura speciale, per esempio, se i cicli di crescita delle cellule individuali sono sincronizzati. La crescita bilanciata è una proprietà della popolazione, non delle singole cellule individuali, in cui differenti processi, come la sintesi del DNA, avvengono durante certi stadi del ciclo di crescita cellulare.

In linea di massima, almeno, la crescita bilanciata avviene in un chemostato. Tale crescita può essere anche più o meno ottenuta in una coltura batch, se l'inoculo iniziale è molto piccolo in modo che la popolazione possa crescere per diverse generazioni senza cambiare molto l'ambiente. In natura, la crescita bilanciata, se realizzata pienamente, avviene solo per brevi periodi. Sebbene sia un concetto utile, la crescita bilanciata è un'astrazione che può essere solo approssimata sotto condizioni sperimentali.

Quando viene espresso in unità energetiche, il materiale ingerito è uguale alla somma di respirazione + crescita + materiale espulso + materiale escreto. La respirazione rappresenta il metabolismo dissimilativo; in pratica, esso viene misurato come produzione di CO_2 o consumo di O_2 . Il consumo di O_2 (nelle forme aerobiche) è una misura adeguata della forza di generazione (circa $2 \cdot 10^8$ erg oppure 20 J per ml O_2). I materiali espulsi o escreti rappresentano parti non digeribili del cibo e perdite di composti disciolti a basso peso molecolare, rispettivamente; in pratica, questi sono difficili da misurare separatamente. L'"efficienza di crescita lorda" o "produzione" viene definita come rapporto tra crescita e ingestione; "efficienza di crescita netta" è il rapporto tra crescita e respirazione + ingestione. La produzione può essere misurata in una coltura batch come l'eventuale produzione di cellule diviso per la

quantità iniziale di particelle alimentari aggiunte alla coltura. (In pratica, comunque, devono essere apportate alcune correzioni in quanto durante gli ultimi stadi della coltura batch la crescita non è bilanciata e la dimensione cellulare media decresce. Questa difficoltà non sorge se la misura viene fatta in un chemostato). Se viene misurata anche la respirazione, può essere determinata l'efficienza di crescita.

Misure empiriche mostrano che nei protisti l'efficienza di crescita è quasi invariante con il tasso di crescita (Fig. 5.6). Ciò non apparirà inusuale ad un microbiologo, ma risulta insolito ad uno zoologo (dal momento che nei grandi animali una cospicua frazione del budget energetico viene speso per il mantenimento ed essa varia con la crescita). Ciò ha diverse importanti implicazioni: una è che il tasso costante di crescita è piuttosto linearmente proporzionale al consumo di cibo, usando la produzione come la costante di proporzionalità. La risposta di crescita di una popolazione alla densità del cibo ha perciò la stessa forma funzionale del tasso di ingestione (Fig. 6). E' anche evidente che il tasso di respirazione deve essere linearmente legato al tasso costante di crescita entro l'intervallo in cui può essere mantenuta la crescita bilanciata. Il concetto di "metabolismo basale", come quello usato dagli zoologi, ha perciò poco significato nel caso dei protisti. Esso riflette il fatto che nei piccoli organismi gran parte dell'energia generativa è implicata nella sintesi macromolecolare e quindi è direttamente legata alla crescita. Al contrario, solo una piccola frazione del budget energetico viene speso per il lavoro meccanico, elettrico e osmotico.

E' illuminante calcolare il costo approssimativo della motilità. Come esempio consideriamo un flagellato sferico come *Ochromonas* (raggio di $0.4 \mu\text{m}$) che nuota ad una velocità di $60 \mu\text{m/sec}$. Dalla legge di Stokes troviamo che la potenza necessaria è $6 \pi r v^2 \eta$, dove v è la velocità e η la viscosità (0.01 poise). Nel caso del flagellato in questione l'energia necessaria è uguale a $2.7 \cdot 10^{-9}$ erg/sec. Se assumiamo che l'efficienza complessiva (l'efficienza idrodinamica che regola l'efficienza di conversione del lavoro chimico in lavoro meccanico), sia l'1%, l'energia totale richiesta sarà a $2.7 \cdot 10^{-7}$ erg/sec. Questa stima concorda con altri valori stimati di energia consumata da un singolo flagello che risultano essere $2.8 \cdot 10^{-7}$ erg/sec. La crescita di flagellati di tale taglia consuma circa a $4.5 \cdot 10^{-3}$ nl O_2 cell/h, che corrisponde ad una forza di generazione di $2.5 \cdot 10^{-4}$ erg/sec. Perciò, viene usato per la motilità solo lo 0.1% del budget energetico del flagellato.

4.2. Crescita non bilanciata

In natura, la disponibilità di risorse alimentari è piuttosto disuniforme nello spazio e nel tempo, per cui i microrganismi devono adattarsi a ciò cambiando il loro stato fisiologico. A livello molecolare, questo è stato studiato in dettaglio nelle cellule procariotiche da Koch (1971) che ha anche usato l'espressione "feast and famine existence" (vedi paragrafo 3.3) per descrivere le condizioni di vita di *Escherichia coli*. Tali studi dettagliati non esistono per gli eucarioti unicellulari, ma i fenomeni che sono direttamente osservabili quando le cellule vengono repentinamente esposte a fonti alimentari crescenti o decrescenti sono comparabili a quelli osservati nei batteri. Seguendo i cambiamenti che avvengono, possiamo notare un "lag time" durante il quale la sintesi macromolecolare, i tassi di respirazione e i volumi cellulari cambiano, finché alla fine il tasso di crescita raggiunge un livello corrispondente alle nuove condizioni. Come nei batteri, durante la crescita bilanciata il volume cellulare aumenta con il tasso di crescita; ciò presumibilmente riflette la necessità di più organelli cellulari come i ribosomi e i mitocondri durante la rapida crescita.

Quando le cellule in crescita vengono esposte a livelli di cibo sufficientemente bassi, o vengono affamate, si determinano numerosi cambiamenti fisiologici drastici. Molti protistologi hanno studiato vari aspetti della insufficiente alimentazione nel flagellato *Ochromonas* e nei ciliati *Tetrahymena* e *Paramecium*. Nessuna delle forme studiate rispose alla fame con la formazione di cisti. Dopo l'inizio della fase di inedia la divisione cellulare continua per una o due generazioni, producendo cellule più piccole del normale. Il tasso di respirazione decresce immediatamente e in *Ochromonas* cade fino al 2-5% di quello di crescita cellulare. Nelle cellule affamate appaiono vacuoli autofagi; nelle cellule di *Ochromonas* affamate da 100 ore, circa l'80% di esse viene consumato. In particolare, vengono digeriti i mitocondri cosicché nelle cellule affamate per un periodo di 80 ore solo circa il 10% del volume mitocondriale rimane. Né la perdita di mitocondri, né la diminuzione del livello di enzimi legati alla catena del trasporto di elettroni, comunque, può incidere sulla diminuzione del tasso respiratorio; piuttosto, le cellule appaiono ritenere il potenziale per un tasso metabolico più elevato di quello realizzato

durante il periodo di affamamento. Quando le cellule affamate vengono alimentate nuovamente, il volume cellulare, il livello degli enzimi della catena di trasporto degli elettroni, e il tasso di respirazione incrementano fino a che la cellula inizia a dividersi. Questo lag time prima della divisione aumenta per lunghi periodi di scarsa alimentazione e infine diventa molto più lungo del tempo di generazione corrispondente al livello di cibo offerto.

I risultati di questi esperimenti possono essere interpretati come un compromesso evolutivo tra due differenti esigenze di fitness delle cellule esposte alla fame. Una di queste è quella di rimanere vive: far sì che l'organismo possa fermare completamente la biosintesi di macromolecole e minimizzare la respirazione; una soluzione estrema che permette ciò è quella di incistarsi formando uno stato totalmente inattivo come alcuni protisti sanno fare. Il costo di ciò, comunque, è che fino a quando il cibo diventa disponibile nuovamente, il lag time prima della ripresa della crescita aumenta, cosicché l'organismo diventa meno competitivo. Le cellule possono perciò sacrificare la longevità mantenendo un certo minimo livello respiratorio e di capacità biosintetica. Il bilancio tra le componenti fitness opposte riflette chiaramente l'attesa scala di tempo delle fluttuazioni delle risorse alimentari che avvengono nell'ambiente naturale. Solo periodi di stento corti favoriscono il mantenimento di un'attività fisiologica relativamente alta; all'altro estremo, durante i lunghi periodi di stento alimentare ci si attende la formazione di cisti.

4.3. Metabolismo anaerobico

Non vi sono dubbi che il metabolismo aerobico e il possesso di mitocondri sia una delle caratteristiche primarie degli eucarioti; tra i protisti a vita libera la stragrande maggioranza di essi sono aerobi. All'interno di diversi gruppi di protisti, comunque, si trovano organismi anaerobi obbligati o facoltativi. I più conosciuti sono i commensali intestinali, come la fauna ciliata del rumen nei ruminanti, i flagellati dell'intestino delle termiti, e una varietà di flagellati intestinali di vertebrati. Tra le forme a vita libera, vi sono diversi ciliati eterotrichi e tricostomatidi che vivono in acque e sedimenti anaerobici: tali ambienti ospitano anche numerosi differenti flagellati. I flagellati Diplomonadini, di cui alcuni sono a vita libera (*Trepomonas*, *Hexamita*), non posseggono mitocondri; lo stesso vale per i ciliati menzionati sopra che, inoltre, sono sensibili alla presenza di ossigeno.

Si conosce poco sulla sequenza metabolica impiegata dai protozoi liberi anaerobici, tuttavia è ragionevole assumere che esistono alcune somiglianze con i più studiati protisti parassiti e commensali. In tutti i casi, alcuni tipi di processi fermentativi sono chiaramente responsabili della produzione di energia. Sono possibili una varietà di processi fermentativi con diverse rese di ATP; in tutti i casi, la resa di ATP (e perciò l'efficienza di crescita netta) è molto più bassa rispetto al metabolismo aerobico. Nei flagellati delle termiti, nei ciliati del rumen e nei flagellati tricomonadini, i principali prodotti finali della fermentazione sembrano essere l'acetato e il butirrato, indicanti un tipo di fermentazione (tipo-*Clostridium*) abbastanza efficiente. La base biochimica per questa reazione è la rimozione dell'equivalente riduzione nella forma di idrogeno. Nei flagellati tricomonadini, questo avviene in uno speciale organello: l'idrogenosoma. La microscopia elettronica mostra organelli assomiglianti ad idrogenosomi in una varietà di altri protisti anaerobici, compreso i ciliati a forma libera. Quindi, il metabolismo di queste forme è probabilmente comparabile a quello trovato nei flagellati tricomonadini. L'associazione di batteri ecto- e endosimbionti con protisti anaerobici è probabilmente legata anch'essa alla produzione di idrogeno.

Attualmente, c'è solo un esempio conosciuto di un differente tipo di metabolismo anaerobico, cioè quello del ciliato *Loxodes*. Questa specie possiede mitocondri e respira ossigeno. Gli individui normalmente si trovano vicini allo strato-confini ossico-anossico della colonna d'acqua o dei sedimenti dei laghi e sono spesso esposti a condizioni anossiche. Quando sono esposti ad anossia, il numero di creste mitocondriali e la quantità di enzimi implicati nel sistema di trasferimento degli elettroni aumenta. I ciliati, che contengono l'enzima nitrato riduttasi, possono essere in grado di impiegare, in alternativa, la nitrato respirazione che, altrimenti, è conosciuta solo nelle cellule procariote.

5 LA SIMBIOSI

Il termine “simbiosi” non ha lo stesso significato per tutti i biologi. Qui lo useremo nel senso letterale di “vivere insieme”, cioè, descrivere ogni stretta associazione fisica tra specie differenti senza tener conto del significato funzionale. Un tale termine generale si rende necessario in quanto vi sono molti casi in cui la natura funzionale della relazione non è stata ancora ben conosciuta. La simbiosi, quindi, comprende il “**parassitismo**”, in cui un membro dell’associazione, l’ospite, soffre mentre il parassita guadagna dall’associazione; il “**mutualismo**” in cui entrambi i componenti traggono vantaggio dall’associazione; e il “**commensalismo**” in cui l’associazione è neutrale dal punto di vista di uno dei componenti. In pratica, esistono dei gradienti tra queste classi di associazioni simbiotiche; il grado di beneficio o di danno implicato può variare secondo le condizioni ambientali o i genotipi dei componenti.

E’ necessario distinguere tra endo- ed ectosimbionti; i primi vivono all’interno delle cellule ospiti mentre i secondi si trovano sulle superfici cellulari.

La letteratura scientifica descrive un vasto numero di associazioni tra differenti tipi di protisti, tra protisti e procarioti, e tra protozoi e metazoi; tra queste, solo un limitato numero di casi è stato studiato sperimentalmente. In questo capitolo si considereranno solo le associazioni che intervengono tra protozoi con altri protisti o con procarioti.

5.1 Associazioni con organismi fotosintetici

La presenza di simbionti fotosintetici nelle cellule dei protozoi è un fenomeno ampiamente diffuso che, in alcuni casi, ha un considerevole impatto sulla funzione degli ecosistemi. E’ di uso comune classificare i simbionti come “cianelle”, che sono cianobatteri; “zooclorelle” (o simbionti verdi), che comprendono clorofite, prasinomonadini, e volvocidi; e “zooxantelle” (o simbionti gialli), che comprendono dinoflagellati, diatomee, crisomonadini e primnesidi. Non è sempre facile stabilire la natura tassonomica di un endosimbionte. La composizione dei suoi pigmenti fotosintetici ci dà alcune informazioni, ma la morfologia del simbionte può essere considerevolmente alterata rispetto ai suoi parenti che conducono vita libera. Gli endosimbionti spesso si trovano in stadi simili alla ciste senza flagelli; le diatomee endosimbionti non formano frustuli. Alcune associazioni simbiotiche sono obbligatorie per entrambi i membri, nessuno dei quali può svilupparsi da solo; in questi casi, la morfologia del simbionte si è spesso evoluta in modo radicalmente differente dalle specie parenti a vita libera.

Il significato funzionale della simbiosi tra organismi fotosintetici e fagotrofici appare intuitivamente ovvio. Il componente fagotrofico eterotrofico ottiene carbonio ridotto sotto forma di carboidrati dalla fotosintesi oppure ingerendo i simbionti. Il componente fotosintetico, d’altro canto, riceve nutrienti minerali e una accresciuta motilità dall’ospite. Nei protozoi che hanno teche calcaree, il processo di calcificazione può essere facilitato dai simbionti fotosintetici. Questo perché l’equilibrio bicarbonato-carbonato è regolato dalla fotosintesi. Tutti questi meccanismi sono stati, in molti casi, constatati sperimentalmente.

Il destino della relazione simbiotica deve essersi originata come risultato della fagocitosi di cellule fotosintetiche, che in qualche modo furono in grado di evadere la digestione e di stabilirsi in un vacuolo del citoplasma dell’ospite. In alcuni casi, la co-evoluzione dell’ospite e dei suoi endosimbionti ha portato ad una sostanziale modificazione di entrambi i componenti, cosicché i simbionti i simbionti sono trasferiti alla successiva generazione ospite attraverso una forma di eredità citoplasmatica. Vi sono, tuttavia, molti casi in cui gli endosimbionti si trovano anche come forme libere, o come spore, e le nuove cellule ospiti si infettano attraverso l’ingestione di cellule simbionti libere. Nei foraminiferi e nei radiolari, i simbionti non sono trasferiti con i gameti, cosicché ogni generazione nata da una cellula zigote deve essere infettata nuovamente. Vi sono esempi anche di flagellati apoclorotici che hanno acquisito secondariamente la capacità fotosintetica come risultato di simbiosi con un organismo fotosintetico. Il dinoflagellato *Peridinium balticum* era accreditato di due differenti tipi di nuclei. Raffinate analisi mostrarono che il cloroplasto, insieme ad uno dei nuclei, è incluso in una singola membrana. Questo flagellato è quindi un organismo complesso, consistente di un dinoflagellato e di un flagellato endosimbiotico (euglenide). Si notano anche le vestigia di un cloroplasto dinoflagellato che evidenziano il

fatto che i dinoflagellati ancestrali avevano la capacità di effettuare la fotosintesi da soli senza endosimbionti.

Le cianelle (cioè, i cianobatteri endosimbionti) si trovano raramente tra i protozoi. Un esempio strettamente studiato rappresenta la situazione intermedia tra una relazione simbiotica di un eucariote e un cianobatterio da una parte, e un flagellato con cloroplasti, dall'altro. *Cyanophora paradoxum* è un flagellato di posizione tassonomica oscura, ma esso spesso viene riferito come cryptomonadino. Esso ospita due cianelle; l'associazione è obbligatoria per entrambi i componenti ed è altamente integrata, tuttavia sotto molti aspetti le cianelle sono semplicemente cianobatteri privati di una parete cellulare.

La grande maggioranza di organismi endosimbiotici fotosintetici nei protozoi è composta di flagellati eucariotici o alghe. Deve essere arguito che la simbiosi tra organismi fagotrofici e fotosintetici dovrebbe essere favorita specialmente nelle acque oligotrofiche, dove uno stretto ciclo dei nutrienti all'interno del consorzio simbiotico conferisce vantaggi ad entrambe le parti. Questo è sostenuto anche dal fatto che tutti i più grandi protozoi planctonici nella zona eufotica degli oceani sembrano ospitare alghe o flagellati endosimbiotici. Inoltre, due dei principali gruppi di radiolari (gli spumellari e i nassellari), così come gli acantari e i foraminiferi planctonici, hanno tutti simbionti fotosintetici. I simbionti di molti radiolari sono dinoflagellati, ma alcuni spumellari ospitano, invece, prasinomonadini.

I simbionti si trovano in grande numero nell'ectoplasma e mostrano migrazioni diurne all'interno della cellula ospite; in presenza di luce essi si spostano verso l'esterno, mentre al buio essi si spostano verso il centro dell'ospite. Una simile migrazione avviene negli acantari e nei foraminiferi. Gli acantari ospitano primnesidi quali simbionti; molti foraminiferi planctonici ospitano dinoflagellati, ma alcune forme trasportano invece primnesidi. Ogni cellula foraminifera contiene molte centinaia di simbionti nella rete pseudopodiale periferica. Inoltre, alcuni foraminiferi planctonici hanno anche dinoflagellati ectosimbionti.

Tutti questi sarcodini planctonici sono primariamente fagotrofi. Comunque, nel caso dei radiolari, il trasferimento di carbonio ^{14}C nel citoplasma dell'ospite è stato dimostrato e c'è quindi l'evidenza che essi ingeriscono le cellule simbionti. In laboratorio, la sopravvivenza viene aumentata in presenza di luce e vi sono pochi dubbi che i simbionti siano di significato nutritivo per l'ospite. Misure dei tassi fotosintetici dei protozoi mostrano che, in termini di livello di clorofilla-a, essi sono comparabili o eccedono quelli di molte cellule fitoplanctoniche.

La simbiosi con organismi fotosintetici si osserva in molte specie di ciliati, ma la sua presenza non sembra essere correlata strettamente con la posizione tassonomica dell'ospite o con speciali tipi di habitat. Un classico esempio è quello di *Paramecium bursaria* che è stato studiato sperimentalmente nei dettagli. In natura i ciliati ospitano quasi sempre centinaia di cellule di *Chlorella* situate in speciali vacuoli "perialgali". In laboratorio, individui aposimbiotici possono essere prodotti facendo crescere i ciliati al buio con batteri come cibo. Sotto queste circostanze le cellule algali non possono moltiplicarsi e vengono perse dai ciliati dopo un sufficiente numero di generazioni. L'alga simbiotica può anche crescere al di fuori dell'ospite. La re-infezione avviene attraverso la fagocitosi di cellule sospese di *Chlorella*. A causa di alcuni meccanismi non ancora ben noti, i vacuoli alimentari contenenti alghe non si fondono con i lisosomi. Quindi l'alga si sottrae alla digestione e i vacuoli alimentari diventano vacuoli perialgali. Il ciliato può essere infettato con diversi ceppi di *Chlorella*, i vari ceppi, comunque, differiscono nella loro capacità di colonizzare l'ospite. Nel caso di ceppi normalmente a vita libera, un gran numero di cellule saranno digerite attraverso la fagocitosi, mentre quelle che si stabiliscono come simbionti vengono perse rapidamente durante i periodi di buio (questo è il caso dei ceppi simbiotici). I parameci con i simbionti sono capaci di crescere in un' appropriata soluzione minerale in assenza di cibo, se esposti a sufficiente illuminazione. I materiali organici trasferiti dai simbionti all'ospite comprendono soprattutto carboidrati, in particolare maltosio.

Vi sono diversi altri esempi, principalmente tra ciliati delle acque dolci, di simili associazioni e *Chlorella* sembra essere il più frequente simbionte. Questi ciliati comprendono specie di *Stentor*, *Frontonia*, *Strobilidium*, *Euplotes* e *Climacostomum*.

Di gran lunga il più rimarcabile caso di endosimbiosi fotosintetica nei ciliati avviene in *Mesodinium rubrum*. Questo ciliato è un frequente abitante del plancton di tutti i mari. Localmente, esso

può essere presente a densità estremamente alte (oltre 10^5 cellule per ml), producendo “maree rosse”. Questo fenomeno è stato registrato in molti mari costieri. Le cellule di *Mesodinium rubrum* sono sempre stipate di cloroplasti, i cui pigmenti e strutture suggeriscono una affinità con i cryptomonadini. La reale struttura del simbiote all'interno del ciliato è stata oggetto di controversie ed è, forse, non ancora abbastanza chiarita. Alcuni autori, sulla base della microscopia elettronica, non hanno trovato nessun nucleo simbiote, ma hanno isolato solamente cloroplasti circondati da citoplasma, pochi mitocondri e una membrana cellulare. Questa osservazione, di conseguenza, è difficile da comprendere, salvo che il ciliato acquisisca nuovi “simbionti” ad intervalli regolari (vale a dire, come un esempio di “simbiosi cloroplastica”), ma è probabile che non ingerisca per niente materiale particellato. Più recentemente altri autori hanno trovato che, mentre c'è un nucleo, singole branche del simbiote contengono solo un cloroplasto e alcuni citoplasmi possono divenire disconnessi dalla parte del simbiote contenente il nucleo. Sia la struttura della bocca e l'assenza di vacuoli alimentari suggeriscono che *Mesodinium rubrum* dipende interamente dall'endosimbiote e che è divenuto, in pratica, un ciliato fotosintetico. Come tale, esso gioca un considerevole ruolo come produttore primario sotto alcune circostanze (Sorokin, 1999).

C'è anche l'evidenza che alcuni ciliati marini ritengono i cloroplasti delle loro prede per alcuni periodi di tempo in uno stato funzionale. Tuttavia, non esistono evidenze sperimentali riguardanti il significato funzionale di queste osservazioni.

5.2 Simbionti non fotosintetici

Come altri eucarioti, i protozoi possono cadere essi stessi vittime di protozoi parassiti. Per esempio: alcuni suttori sono endoparassiti in altri ciliati, alcuni flagellati tripanosomatidi possono invadere il nucleo dei ciliati, e un altro tipo di flagellato può essere trovato come ectoparassita su ciliati. Le associazioni tra procarioti eterotrofici e protozoi sono più comuni. Osservazioni al microscopio ottico ed elettronico hanno rivelato che alcuni, e forse molti, protozoi portano cellule batteriche endo- e/o ectosimbionti. In molti casi non si conosce niente circa il loro significato funzionale. In alcuni casi, è stato trovato che i protozoi con batteri endosimbionti non tollerano gli antibiotici e questo è stato interpretato come un'indicazione dell'importanza vitale del procariote per l'ospite. In uno studio di laboratorio su un ceppo di ameba che accidentalmente era stato infettato da batteri si trovò che l'infezione risultava letale per molte amebe, ma quelle che sopravvivevano mantenevano i batteri nel loro citoplasma. Dopo diversi anni, l'associazione divenne obbligatoria.

In alcune specie di ciliati, come all'interno del genere *Paramecium*, la biologia dei batteri endosimbionti è stata studiata in dettaglio. In *Paramecium* vi sono diversi tipi di batteri che risiedono nel nucleo o nel citoplasma. Molte delle loro proprietà erano note prima ancora che essi fossero identificati come batteri cosicché erano contrassegnati da lettere dell'alfabeto greco (ad es. “particelle Kappa”) e studiati come esempi di eredità citoplasmatica. Successivamente vennero identificati come batteri Gram-negativi. I più conosciuti sono le particelle Kappa che ora sono assegnati al genere *Caedibacter*. La loro sopravvivenza nel citoplasma dei parameci richiede la presenza di un allele K cosicché solo parameci dei genotipi KK o Kk possono essere portatori di questi batteri. Tali portatori vengono denominati “killer” in quanto il batterio produce “corpi rifrangenti” che vengono rilasciati nell'acqua circostante. Questi corpuscoli sono tossici e se i parameci “sensibili” li ingeriscono vengono uccisi. Questa relazione simbiotica conferisce chiaramente un vantaggio ai portatori fintanto che sono presenti cellule sensibili, ma non è chiaro perché il gene k si mantenga nelle popolazioni di *Paramecium*. Sistemi simili sono stati descritti anche per altri ciliati.

Sebbene molti protozoi contengano batteri simbiotici, questi simbionti sono comuni soprattutto nei protozoi di ambienti anaerobici. Non solo tutti questi protozoi virtualmente ospitano batteri, ma il numero di batteri per cellula è molto alto. Da molto tempo si conoscono batteri endo- ed ectosimbionti delle termiti nonché flagellati e batteri ectosimbionti su ciliati del rumen dei ruminanti. Anche i ciliati liberi degli ambienti anaerobici portano batteri ecto- ed endosimbionti. Questi batteri appartengono a differenti tipi morfologici e spesso sono pigmentati; sulla base dell'osservazione microscopica ogni specie di ciliato è associato ad una unica specie di batterio. I batteri ectosimbionti possono essere localizzati perpendicolarmente alla superficie cellulare, tra le file di ciglia e spesso inseriti in depressioni nella membrana cellulare; oppure essi possono essere orientati in posizione parallela alla superficie in uno strato mucoso formato dall'ospite. I batteri endosimbionti, d'altro canto, sono distribuiti in tutto il

citoplasma ma sono molto abbondanti al disotto della membrana cellulare. Il volume totale di questi batteri è considerevole in confronto al volume dell'ospite. Per esempio, un individuo della specie *Sonderia* porta circa 10^5 ectosimbionti: questi batteri possono costituire circa il 20% del volume totale del protozoo; inoltre il numero di endosimbionti è comparabile al numero di batteri che si trovano sulla superficie esterna del ciliato.

E' chiaro che una tale massa di batteri simbiotici può talvolta colpire il metabolismo energetico dell'ospite. Dato che i protozoi anaerobici generano idrogeno nel loro metabolismo fermentativo, una possibilità dovrebbe essere quella che i batteri siano metanogeni in grado di ossidare H_2 con la CO_2 . Questo sarebbe benefico per il ciliato nello stesso modo in cui la metanogenesi è necessaria per mantenere il tasso di fermentazione nel rumen dei bovini. I batteri metanogeni sono caratterizzati da coenzimi fluorescenti che assorbono picchi a 350 e 420 nm, e possono essere identificati al microscopio a fluorescenza usando luce UV di appropriata lunghezza d'onda. E' stato trovato che i batteri ectosimbionti dei ciliati che vivono nel rumen sono metanogeni. E' stato mostrato in seguito che alcuni ciliati anaerobici a vita libera (es. *Metopus* e *Caenomorphia*) contengono batteri endosimbionti fluorescenti che, presumibilmente, sono anche metanogeni.

Mentre la simbiosi è ovviamente favorevole per i batteri che vivono in un ambiente in cui c'è competizione per l'idrogeno (per la metanogenesi e per la solfata riduzione) e mentre i ciliati fermentativi sono agevolati a bassa pressione di H_2 , non è ancora ben noto se i protozoi utilizzano i batteri anche in altri modi, come ad esempio, digerendoli o ricevendo materiali organici disciolti da essi. Non è ancora ben chiaro anche se, infatti, tutti i batteri simbiotici dei protozoi anaerobici sono metanogeni. Certi invertebrati dei sedimenti, soprattutto pogonofori e bivalvi, contengono solfobatteri chemolitotrofici che ossidano HS^- a S^0 o a SO_4^{2-} . Tra i ciliati possibili candidati per questo processo vi sono specie del poco comune genere *Kentrophorus*. Questi ciliati sono interamente coperti su un lato da un denso strato di batteri pigmentati (solfobatteri); questi ciliati apparentemente non formano vacuoli alimentari.

Un caso speciale di endosimbiosi batterica è quello di *Pelomyxa palustris*. Questo protozoo è una ameba gigante monopodiale che si trova in alcune spugne dei laghi. Tra le varie peculiarità di questo protozoo è l'assenza di mitocondri. L'ameba ospita tre tipi differenti di batteri endosimbiotici. Due di questi tipi batterici mostrano fluorescenza che indicherebbe la loro appartenenza ai metanogeni. Questa scoperta in qualche modo si contrappone al fatto che *Pelomyxa* è un organismo aerobico che respira ossigeno, dal momento che i metanogeni sono considerati essere estremamente sensibili all'ossigeno. L'esatta natura del metabolismo di *Pelomyxa* e dei suoi batteri simbiotici rimane ancora da essere pienamente compreso; sfortunatamente non è stato ancora possibile allevare questa ameba sotto condizioni controllate di laboratorio.

6 LE NICCHIE DEI PROTISTI

Nella maggioranza dei casi i ruoli funzionali (nicchie) dei protisti non differiscono fondamentalmente tra i diversi ecosistemi, cosicché risulta conveniente discutere di tali ruoli all'interno di un discorso generale di ecologia dei protisti.

Le speciali proprietà ecologiche dei protozoi derivano soprattutto dalle loro dimensioni e da fattori che ne sono correlati. Ovviamente, esiste una correlazione tra la dimensione di un organismo e quella delle particelle alimentari, così i protisti giocano un ruolo importante nelle catene alimentari basate sui batteri o sui più piccoli eucarioti fotosintetici. I piccoli organismi hanno la capacità di crescere rapidamente e di avere alti tassi metabolici; una biomassa relativamente piccola di protozoi può perciò avere effetti relativamente grandi sul ciclo degli elementi. Gli ecosistemi naturali sono discontinui sia nel tempo che nello spazio. In tali ambienti eterogenei, la dimensione del corpo e i potenziali tassi di crescita diventano parametri nicchia. In virtù del loro potenziale di crescita, le popolazioni di protozoi possono utilizzare le rapide fluttuazioni nei livelli delle risorse e in virtù delle loro piccole dimensioni possono sfruttare porzioni molto piccole o minuscoli habitat. Dato che le dimensioni dei protisti spaziano nell'arco di circa tre ordini di grandezza, questi organismi possono essere trovati in molti habitat a differenti livelli trofici delle catene alimentari. Così, dal punto di vista di un microflagellato, l'eterogeneità spaziale è molto differente di quella di un grande sarcodino.

6.1 Catene alimentari fagotrofiche in stato stazionario

Anche se esistono eccezioni, i predatori sono generalmente più grandi delle prede. Esiste anche una correlazione tra la minima dimensione delle particelle preda e la taglia del predatore. Ciò è stato già discusso nel caso delle particelle alimentari sospese (vedi Fig. 8) in cui si mostra che il tipico rapporto di lunghezza tra predatore e preda è intorno a 10. Per gli organismi filtratori vi sono probabilmente molti casi in cui l'ottimale taglia delle particelle alimentari si scosti da questo rapporto di un fattore più alto di 10. Il ciliato *Colpoda* che è circa 100 volte più lungo dei batteri di cui si nutre, è analogo ad una balena lunga 10 metri che cattura krill lungo 10 cm. E' certo che alcuni invertebrati acquatici, come *Daphnia* e larve di tunicati, sfruttano batteri dispersi, ma tali esempi sembrano essere eccezioni. I batteri adesivi vengono sfruttati da molti piccoli invertebrati mentre grandi invertebrati che si alimentano su detrito o sedimento, utilizzano microrganismi ingeriti insieme ad altro materiale. Tuttavia, per i nostri propositi, è una valida generalizzazione considerare le comunità biologiche come un'associazione di organismi in cui i più grandi mangiano quelli più piccoli e in cui c'è un rapporto di taglia più o meno fisso tra predatore e preda.

Per una tale ideale catena trofica in stato stazionario (che difficilmente si incontra in natura), qual è il rapporto tra le biomasse rappresentate nei differenti livelli trofici? Questo è stato considerato teoricamente da alcuni autori (Kerr, 1974; Platt & Denman, 1977). I risultati dipendono dal rapporto di peso tra gli organismi del livello trofico i e $i+1$; dall'efficienza di crescita lorda e da parametri delle equazioni:

$$\mu = a_{\mu} W^b \quad \text{e} \quad R = a_R W^b$$

che descrivono il tasso di crescita costante (μ) e il tasso metabolico peso-specifico (R) in funzione del peso del corpo (W). Per queste equazioni, $a_{\mu} / (a_{\mu} + a_R) =$ efficienza netta di crescita, e noi assumiamo che $b = -0,25$. Usando questi criteri può essere mostrato che il tasso tra la biomassa totale, rappresentata dal livello trofico $i+1$ e i , è data da:

$$\left(\frac{W_i}{W_{i+1}} \right)^b E$$

dove E è l'efficienza lorda di crescita. Per ragionevoli stime dei parametri (ad esempio $E = 0,3$ e $W_i/W_{i+1} = 0,001$) si trova che i vari livelli trofici in una comunità dovrebbero avere all'incirca biomasse uguali e che il numero di individui di ciascun livello trofico dovrebbe essere inversamente proporzionale alla loro dimensione del corpo. Questo risultato generale non è molto sensibile al rapporto di taglia tra predatore e preda entro ragionevoli limiti biologici. L'efficienza lorda di crescita è, di conseguenza, soggetta ad alcune variazioni, ma è chiaramente oscillante entro un intervallo tra 0,3 e 0,5. L'efficienza netta di crescita è fissata intorno a 0,6. Ad ogni livello trofico, perciò, circa il 30% del carbonio organico ingerito è mineralizzato e approssimativamente il 30% è ingerito o escreto come materiale organico particellato; il rimanente è incorporato nelle cellule. In una tale catena alimentare ideale con tre livelli trofici, ad esempio, essendo i batteri consumati dai flagellati che a loro volta sono mangiati dai ciliati, circa il 16% della produzione batterica finirà a far parte delle cellule ciliate, circa il 42% diventerà mineralizzata e un altro 42% sarà escreta o ingerita come materiale organico morto. La ragione per cui i tre livelli trofici rappresenteranno approssimativamente la stessa biomassa totale ad ogni dato momento è il risultato del fatto che il tasso di turnover del carbonio cellulare è più basso negli organismi più grandi.

La migliore evidenza per la validità generale di questo tipo di modello è fornita dai dati di Sheldon *et al.* (1972) i quali mostrano che se tutte le particelle viventi delle comunità pelagiche degli oceani (dai batteri alle balene) fossero raggruppate in classi logaritmiche di taglia, ciascuna classe conterrebbe circa la stessa biomassa totale.

Il ruolo dei microrganismi fagotrofici nella rimineralizzazione di azoto e fosforo organico ha suscitato l'interesse sia tra gli ecologi delle acque che tra quelli del suolo. Gli organismi fotosintetici devono assimilare i nutrienti minerali per la loro crescita i quali saranno rigenerati dagli organismi

erbivori. Recentemente è stato scoperto che una larga schiera di batteri dipende da substrati che sono poveri di nutrienti minerali, come i tessuti morti o le secrezioni di piante vascolari. In tali casi i decompositori primari assimilano piuttosto che rigenerare i nutrienti minerali, cosicché la disponibilità di nutrienti minerali può diventare limitante tanto per la decomposizione quanto per la produzione primaria. E' stato quindi suggerito che i protisti hanno un ruolo speciale nella rigenerazione dei nutrienti minerali che altrimenti sarebbero confinati nella biomassa batterica. Qui è sufficiente notare che il ciclo di azoto e fosforo è strettamente accoppiato al ciclo del carbonio negli organismi fagotrofici. Questo perché tali organismi (al contrario dei batteri o dagli organismi fotosintetici) non possono assimilare azoto o fosforo inorganico dall'ambiente. Anche i rapporti C:N e C:P dei fagotrofi sono abbastanza invarianti e in molti casi non sono molto differenti da quelli delle loro particelle alimentari. Il rapporto C:N dei protozoi è nell'intervallo tra 4 e 6 ed è comparabile a quello dei batteri. Le grandi cellule algali, comunque, possono avere talvolta livelli più bassi di nutrienti minerali con rapporti C:N entro intervalli tra 6 e 10.

Se il livello di nutrienti minerali in un fagotrofo e nelle sue particelle alimentari sono identici, la quantità di elementi mineralizzati corrisponde semplicemente alla quantità di carbonio mineralizzato prodotto, vale a dire, la quantità di CO_2 respiratoria divisa per il rapporto C:N o C:P. Inoltre, ad ogni livello trofico viene persa una quantità di azoto e fosforo organico corrispondente alla somma del materiale espulso ed escreto. Quindi, nell'ideale catena trofica batterio-flagellato-ciliato discussa prima, i due gruppi fagotrofici mineralizzeranno ciascuno circa il 30% e espellerà un altro 30% di azoto e fosforo ingerito, cosicché al livello del ciliato circa l'85% di azoto e fosforo batterico saranno completamente rilasciati nell'ambiente in forma minerale oppure organica. Se le particelle alimentari contengono meno azoto o fosforo, la quantità di nutrienti minerali rilasciata sarà corrispondentemente più bassa.

Quanta parte della produzione totale di carbonio organico è effettivamente incanalata attraverso i protozoi nelle catene alimentari dei differenti ecosistemi?

Negli ecosistemi terrestri i più importanti produttori primari sono le piante vascolari. E' un fatto che una grande porzione di questa produzione non è utilizzata dagli animali erbivori, ma è decomposta nel suolo e nella lettiera da batteri e funghi. I relativi ruoli di queste due componenti non sono ben conosciuti ed essi indubbiamente variano secondo le condizioni ambientali. I funghi sono prevalentemente consumati da vari invertebrati, soprattutto nematodi, anellidi e artropodi. Le popolazioni batteriche, d'altro canto, sono prevalentemente controllate dai protozoi.

Nei sedimenti acquatici, specialmente di acque basse, avviene un processo simile. La maggior parte della produzione organica dipende dall'arrivo di materiale organico che è primariamente decomposto da batteri che servono poi da cibo per i protozoi. Inoltre, la produzione organica di microalghe epibentiche e di cianobatteri è consumata in gran parte dai protozoi. Si è creduto per molti anni che il flusso di carbonio del plancton marino fosse prevalentemente basato sulla catena alimentare del pascolo, in cui i grandi componenti del fitoplancton, come diatomee e dinoflagellati, servono da cibo per lo zooplancton, che serve a sua volta da cibo per i pesci. Questo schema è stato modificato durante gli ultimi decenni. Si crede ora che la più grande frazione di produzione primaria sia dovuta alle più piccole cellule eucariotiche algali e ai cianobatteri che sono prevalentemente consumati dai protozoi. Una grande frazione della produzione primaria è anche effettivamente escreta come materiale organico disciolto, che fornisce la base per una sostanziale produzione batterica: qui ancora i protozoi rappresentano un anello necessario nella catena alimentare tra cellule batteriche e organismi zooplanctonici più grandi.

6.2 Discontinuità e modelli successionali

Tutti gli ambienti naturali, compreso le masse d'acqua degli oceani, mostrano variazioni temporali e spaziali o discontinuità. A causa di questa eterogeneità, i tassi di crescita e i caratteristici cicli vitali sono componenti importanti delle nicchie ecologiche degli organismi implicati. Supponiamo che una popolazione di protozoi e una popolazione di una specie di grandi metazoi vivano nello stesso ambiente e utilizzino una comune risorsa alimentare, l'abbondanza della quale fluttui nel tempo. Il protozoo ha un alto potenziale tasso di crescita e la sua popolazione può seguire le fluttuazioni della risorsa alimentare. Durante i periodi in cui la risorsa è rara, il protozoo può diventare raro o sopravvivere in uno stato di incistamento. Il tempo di generazione del grande metazoo, d'altro canto, può essere

relativamente lungo rispetto ai periodi delle fluttuazioni della risorsa alimentare e il mantenimento di questa popolazione dipenderà dalla densità media della risorsa nel tempo. In modo simile, la discontinuità spaziale di una risorsa è utilizzata da un piccolo organismo in modo differente rispetto un organismo più grande il quale sperimenterà solo una densità media della risorsa. L'eterogeneità spaziale permette quindi la coesistenza di specie differenti se la loro taglia o se i loro tassi di crescita sono sufficientemente differenti. L'eterogeneità ambientale è un importante aspetto dell'ecologia dei protozoi, e deve essere considerata in ogni discussione sul significato adattativo di molti caratteristici protozoi.

La formazione dell'eterogeneità spaziale e temporale è spesso estremamente complessa e implica sia la discontinuità ambientale che le interazioni ecologiche. L'eterogeneità ambientale spaziale avviene per una serie di ragioni, quali la natura particellata dei sedimenti e del suolo, i gradienti chimici di ossigeno e idrogeno solforato che si riscontrano intorno al materiale in decadimento, e il materiale particellato che può essere sospeso nelle masse d'acqua aperte in mari e laghi.

Quanto piccole possono essere tali nicchie d'habitat? Può essere fatta una stima nel semplice caso in cui l'aumentato tasso di crescita locale deve essere bilanciato dalla perdita di cellule, dovuta alla loro uscita dalla nicchia. Questo modello era stato originariamente suggerito al fine di stimare il minimo volume di una massa d'acqua che può sostenere una fioritura di alghe fotosintetiche. In questo caso, si è supposto che il tasso di crescita all'interno della nicchia sia μ e sia zero in ogni altro luogo, e che la motilità dell'organismo possa essere descritta attraverso il coefficiente di diffusione D . Il diametro minimo di tale microhabitat in grado di sostenere la popolazione, può essere allora mostrato dalla seguente relazione:

$$c \left(\frac{D}{\mu} \right)^{\frac{1}{2}}$$

dove c è una costante che dipende dalla geometria dell'habitat e che assume un valore tra 1 e 10. Per fare alcune ragionevoli assunzioni, consideriamo un piccolo flagellato che ha un tempo di duplicazione di 2 ore ($\mu = 10^{-4}/\text{sec}$) e $D = 0,1 \text{ mm}^2/\text{sec}$. In questo caso, il minimo diametro di un microhabitat, nella forma di una massa d'acqua fisicamente definita, dovrebbe essere almeno diversi centimetri. Nel mondo reale, efficaci porzioni d'habitat di protozoi possono essere considerevolmente più piccole e si conoscono definite comunità di protozoi che si trovano in nicchie più piccole, su una scala di millimetri. Questo è dovuto alle risposte comportamentali a sostanze chimiche o ad altri stimoli (quindi D non è invariante come assunto nel modello) e all'adesione a superfici solide. Alla luce del modello, le risposte comportamentali discusse nel capitolo sulla motilità possono essere viste come adattamento per lo sfruttamento di piccole porzioni d'habitat in un ambiente spazialmente eterogeneo.

La successione di protozoi su materiale organico in decomposizione, come le particelle di detrito o carogne, aggiunge una dimensione tempo all'eterogeneità. Osservazioni in laboratorio di tali successioni in "microcosmo" non solo descrivono che presumibilmente accadono, in simili condizioni, anche in natura ma, esse permettono di stimare i tassi e le efficienze di crescita e di trasferimento dei materiali. Tali successioni sono probabilmente caratteristiche di tutti gli ambienti naturali. Nei suoli, la discontinuità temporale è generata anche dalle piogge, che stimolano la crescita batterica, seguita dalla crescita dei protozoi batteriofagi. Negli ambienti planctonici, i cambiamenti stagionali inducono le fioriture algali che portano ancora alla crescita delle popolazioni di protozoi.

Lo studio dei sistemi preda-predatore dà intuizioni sul comportamento di comunità naturali, sebbene le complessità del mondo reale raramente permettono l'uso di semplici modelli per una descrizione quantitativa. Questo perché i semplici modelli producono certe predizioni quantitativamente definitive. Una di tali predizioni è che se le condizioni di crescita della specie preda sono aumentate, per principio i risultati saranno un incremento nella dimensione media della popolazione predatrice. Quindi la densità media della popolazione batterica nell'acqua di mare è approssimativamente la stessa negli strati superficiali di oceani oligotrofici e nei mari costieri eutrofici (da $0,5$ a $2 \cdot 10^6$ cellule/ml), il minimo livello che sosterrà la crescita di protozoi batteriofagi. Questa osservazione sostiene l'idea che le popolazioni batteriche sono controllate dall'attività di pastura dei protozoi.

6.3 Differenziazione di nicchia e coesistenza

Il principio di esclusione competitiva è uno dei principi generali dell'ecologia. Esso esprime l'idea che, dato un universo con solo una risorsa, solo una popolazione di una specie persisterà. Gause (1934) è stato il primo a dimostrare la competizione interspecifica per una comune risorsa in esperimenti con differenti specie di *Paramecium*. Gause scelse deliberatamente le condizioni sperimentali in modo che esse imitassero strettamente le assunzioni delle equazioni di Lotka-Volterra descriventi la competizione tra due specie, cosicché non è strano che il risultato si accordi con la predizione del modello.

Più interessanti, comunque, sono i casi in cui il risultato dell'esperimento devia dalle predizioni, dato che ciò svela dei meccanismi non descritti dal modello. Quindi in esperimenti di competizione tra *Paramecium aurelia* e *P. bursaria* usando cellule di lievito come cibo, Gause trovò una stabile coesistenza. La ragione di ciò è che il primo ciliato è un competitore superiore per le cellule di lievito sospese, mentre il secondo ciliato può utilizzare meglio le particelle alimentari sedimentate sul fondo della provetta che è stata usata come universo sperimentale (vedi Fig. 3). L'esperimento mostra che anche in questo piccolo e apparentemente omogeneo ambiente, subdole differenze d'habitat possano permettere la coesistenza. Dagli esperimenti di Gause, i protisti non hanno più giocato un ruolo importante negli studi di competizione e coesistenza rispetto agli organismi più grandi (in particolare uccelli e piante vascolari). Questo perché lo studio della coesistenza e della spartizione di risorsa in natura richiede conoscenze della storia naturale delle singole specie. Tali dati sono molto più facilmente ottenibili negli uccelli rispetto i protisti.

La moderna teoria ecologica del principio di esclusione competitiva è stata combinata con una teoria della nicchia ecologica al fine di permettere una predizione quantitativa della differente utilizzazione delle risorse comuni necessarie ad una stabile coesistenza (la "teoria della similarità limitante"). La nicchia è considerata avere tre dimensioni: **risorse** (cibo), **habitat** e **tempo**, e lo sfruttamento differenziale di ognuna di queste dimensioni può spiegare la coesistenza regionale delle differenti specie.

In natura, le *particelle alimentari* si trovano in uno spettro continuo di dimensioni. Questo permette a diverse specie di coesistere, in quanto ciascuna delle quali sfrutta un certo range di dimensioni. Ciò avviene perché tutti i meccanismi per catturare le particelle alimentari sono molto efficienti solo per un ristretto range di dimensioni delle particelle. Le dimensioni ottimali delle particelle sono correlate alle caratteristiche morfologiche (come le dimensioni del becco o l'intera taglia negli uccelli).

Un esempio di tale assemblaggio di specie coesistenti, specie co-generiche, specializzate in differenti taglie di particelle alimentari è mostrato in Fig. 9. Le specie di *Remanella* si trovano intorno ai confini degli strati anossico-ossico nei sedimenti sabbiosi marini, e hanno chiaramente una utilizzazione differenziale delle particelle alimentari. Un esempio simile di differenziazione nelle particelle alimentari di differente taglia è stato recentemente evidenziato in due specie coesistenti di *Loxodes*, ciliati delle acque dolci parenti di *Remanella*.

Tra i ciliati filtratori vi sono specie che si differenziano nella ritenzione di particelle di diversa grandezza e anche solo alla dimensione di particelle batteriche (da 0,2 a 2 μm); ciò dà motivo di coesistenza di differenti specie sulla base della taglia delle particelle. Questa è principalmente una conseguenza di limiti meccanici nella cattura delle particelle alimentari.

La figura 9 mostra l'intervallo di taglia delle particelle alimentari ingerite da tre specie di coesistenti specie di tintinnidi: le taglie più piccole e più grandi di questi intervalli sono determinate dalle distanze libere tra le ravvicinate membranelle e dal diametro della lorica. Tali vincoli contribuiscono alla diversità di questi ciliati nel placton marino. Il ruolo delle proprietà meccaniche delle particelle alimentari si riflette anche nella diversità strutturale del "basket faringeo" dei differenti ciliati cirtoforidi.

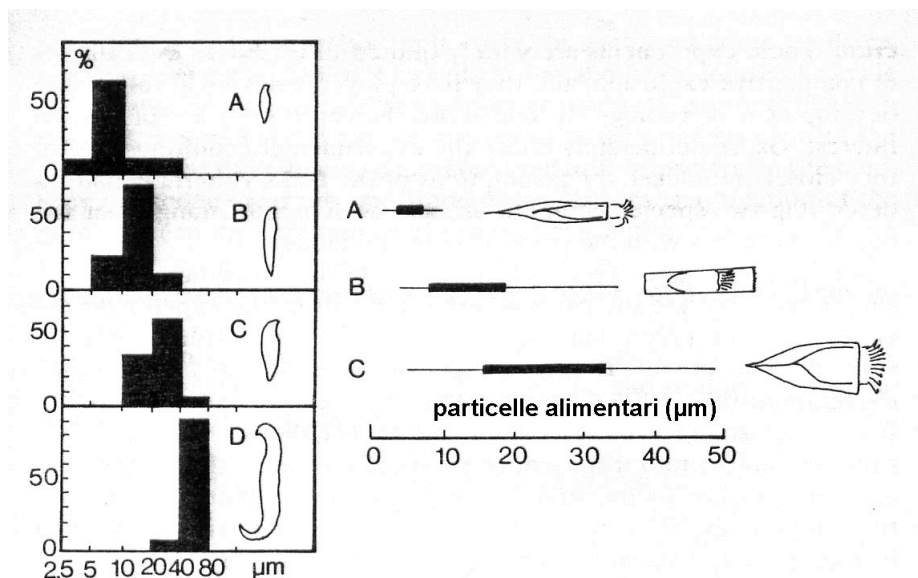


Fig. 9. Sulla sinistra: distribuzione per taglia di diatomee ingerite da quattro specie (frequentemente coesistenti) di ciliati del genere *Remanella*. A= *R. margaritifera*, B= *R. rugosa*, C= *R. brunnea*, D= *R. gigas*. Sulla destra: l'intervallo di taglia delle particelle alimentari di tre ciliati tintinnidi. A= *Heliscosomella subulata* (diametro orale: 20 μm), B= *Eutintinnus pectinis* (diametro orale: 40 μm), C= *Favella ehrenbergi* (diametro orale: 80 μm).

Vi sono innumerevoli esempi di **specializzazione di habitat** nelle specie di protisti che ne spiegano la coesistenza. Le preferenze di habitat avvengono su differenti scale; molte specie di radiolari sono confinate a certe ampie zone profonde che si estendono su centinaia di metri. All'altro estremo, una varietà di ciliati sessili che vivono su crostacei gammaridi hanno nicchie d'habitat che misurano solo pochi millimetri, dato che alcune specie si trovano solo sulle antenne, alcune solo sulle branchie e alcune altre solo sui pleopodi, ect. Come è già stato evidenziato, le forme attaccate ad un substrato hanno un più alto potenziale per lo sfruttamento delle più piccole nicchie d'habitat rispetto le forme liberamente natanti, le quali tendono a lasciare i piccolissimi appezzamenti a causa della motilità casuale. Il fatto che nei gradienti chimici possa essere osservato un modello di zonazione tra i protisti mobili all'interno di una scala di un centimetro o meno, mostra il significato del comportamento chemosensoriale.

Il differente sfruttamento delle risorse la cui presenza è legata al tempo è un argomento complesso. Esempi di nicchie tempo comprendono anche la presenza stagionale di protisti che sono incistati durante altri periodi dell'anno. Il concetto di "equilibrio competizione-estinzione" implica regioni con risorse che sono irregolarmente distribuite nel tempo e nello spazio. Quando un tale appezzamento risorsa appare, esso può essere colonizzato da vari protisti. All'interno di un singolo appezzamento, alcune specie si troveranno ad essere competitori inferiori e alla fine si estingueranno localmente a causa della competizione per la risorsa. Questi competitori inferiori, comunque, possono ancora persistere regionalmente se i loro tassi di riproduzione e dispersione sono sufficientemente alti da assicurare la colonizzazione di nuovi appezzamenti risorsa prima che essi vengano estinti nel vecchio appezzamento.

Protisti e comunità di protisti offrono una unica possibilità per lo studio degli aspetti delle nicchie ecologiche legati al tempo, a causa del loro corto tempo di generazione. Alcuni autori hanno cercato di classificare i vari protozoi ciliati, così come i loro competitori superiori o le specie "effimere" sulla base del concetto di "selezione-K e selezione-r" (Mac Arthur & Wilson, 1967). La base di questo concetto è che molti organismi si specializzano sacrificando l'abilità competitiva per un più elevato potenziale riproduttivo e una più elevata capacità dispersiva. Gli sforzi di questi autori non sono stati coronati interamente da successo dal momento che essi considerano principalmente il tasso di crescita massima correlato all'esistenza effimera; ciò può essere erroneo da un punto di vista teorico. Inoltre, i tassi di crescita massima misurati saranno una funzione delle specifiche condizioni sperimentali usate e

saranno, in tutti i casi, correlati alla dimensione cellulare. Gli studi tendono anche ad ignorare la possibilità che le nicchie alimentari delle specie comparate possano essere piuttosto differenti. La profonda conoscenza delle componenti legate al tempo della nicchia richiede che gli aspetti di cicli vitali polimorfici (compreso la capacità di formare cisti, stadi speciali di dispersione, etc.) siano legati all'ecologia della specie in natura e fin qui ciò è stato fatto solo in modo molto generale.

E' un'osservazione comune che all'interno di un singolo taxon di animali ci siano molte piccole specie e poche grandi specie. Questo è razionalizzato dal fatto che il grado di disomogeneità ambientale, spaziale e temporale in un'area dipende dalla dimensione degli animali. Ciò che sembra essere una foresta omogenea per un elefante è un universo di paesaggi per un piccolo roditore. Vi sono perciò molti più habitat e nicchie temporali disponibili ai piccoli rispetto ai grandi organismi. May (1978) ha illustrato ciò comparando il numero di specie di animali terrestri di differente classe di taglia in uno spettro oscillante da 0.5 mm sino a alla misura di un elefante. Effettivamente, molte specie (più di mezzo milione) misurano da 0.5 a 1 centimetro mentre il numero di specie di dimensioni anche più piccole tende a diminuire. May suggerisce che la scarsità di specie molto piccole è dovuta all'inadeguata tassonomia che riguarda le specie più piccole. Il considerare che l'incremento delle nicchie d'habitat giustifichi principalmente le differenze nei numeri tra piccoli e grandi animali, è probabilmente corretto. Comunque, la diminuzione di specie tra le classi degli animali più piccoli può non solo essere dovuto all'inadeguata tassonomia, essa può riflettere un reale fenomeno. Questa interpretazione riceve sostegno quando viene preso in considerazione il numero di specie dei protisti. La comparazione con il numero di animali terrestri è forse poco propizia, dal momento che il grande numero di specie di insetti (sono state descritte più di 700.000 specie) è probabilmente spiegato dalla diversità e complessità spaziale delle piante vascolari. Tuttavia, il numero totale di specie di protisti è nei fatti non molto imponente se comparato al numero totale di animali invertebrati.

Secondo Corliss (1984), sono state descritte al massimo 30.000 specie di protisti fagotrofici. Tra queste specie, circa 8.000 sono ciliati, 1.100 sono rizopodi (dei quali molti sono foraminiferi), 5.000 sono actinopodi (molti radiolari), e forse da 3.000 a 4.000 sono flagellati. Questi numeri includono alcuni parassiti e anche alcune forme prevalentemente fotosintetiche. In contrasto, anche per gruppi relativamente omogenei come i nematodi e i copepodi, sono state descritte 10.000 e 4.000 specie, rispettivamente. Non si conosce se la relazione inversa tra numero di specie e lunghezza del corpo trovata da May per gli animali più lunghi di 0.5 cm possa essere estrapolata agli organismi della dimensione dei protisti (questa relazione predice che ci dovrebbero essere forse da 10^7 a 10^8 specie di protisti).

Possono esservi diverse ragioni per il relativamente basso numero di specie di protisti. Una è legata al fatto che i piccoli organismi tendono ad avere una ampia distribuzione geografica e, di conseguenza, la speciazione allopatrica è meno importante. Inoltre, il clima può giocare un ruolo minore per gli organismi più piccoli, in microhabitat come i minuscoli stagni in clima temperato, l'escursione annuale della temperatura può essere paragonata alle temperature medie delle regioni artiche e tropicali combinate insieme. Anche le risorse alimentari dei protisti (batteri, microalghe, altri protisti) sono, in larga misura, cosmopoliti. Infine, la complessità comportamentale dei grandi invertebrati può permettere loro, rispetto ai protisti, di sfruttare più habitat rari o specializzati.

7. PRODUZIONE E RESPIRAZIONE

I protisti forniscono un importante contributo al flusso energetico in una varietà di ecosistemi. La determinazione quantitativa di tale flusso energetico richiede la stima della biomassa, della produttività, del metabolismo nonché dei valori di conversione delle unità di biomassa (ad esempio, il peso secco, il carbonio organico, e i relativi valori calorici). La determinazione della produzione e del metabolismo nei microrganismi altamente mobili crea dei problemi metodologici, specialmente nelle popolazioni naturali. I parametri della produzione giornaliera specifica dei protozoi acquatici sono stimati attraverso la misura del tempo di generazione **G** di differenti specie allevate in laboratorio, oppure di popolazioni naturali durante esperimenti in bottiglia, e registrando la crescita della loro densità numerica in ambiente privo di predatori. La produzione degli organismi **P** può essere calcolata attraverso la stima del loro tasso di respirazione:

$$P = \frac{M \times K_2}{1 - K_2}$$

in cui K_2 è l'efficienza di produzione e M è il tasso di respirazione, espresso in unità di carbonio. Nei protisti K_2 corrisponde al rapporto tra produzione P e biomassa B (P/B), ben noto come efficienza dell'uso del cibo assimilato per la crescita. Nei microrganismi a crescita rapida, K_2 è tra 0.5 e 0.6 (in termini percentuali: 50% e 60%). Il tasso di respirazione M può essere misurato ponendo i protisti in piccole bottiglie riempite di acqua pre-filtrata. La differenza nel contenuto di ossigeno tra la bottiglia sperimentale e quella di controllo (senza protisti) viene misurata, dopo un determinato tempo (24 h), col micro-metodo di Winkler. Per misurare i tassi di respirazione dei ciliati sono state usate anche delle micro sonde.

Il tempo di generazione G dei zooflagellati in coltura è tra 8 e 24 h, a seconda della densità del cibo (batteri). Il tempo di generazione G di popolazioni naturali di zooflagellati, misurato in estate in acque costiere marine era tra 6 e 8 ore. Il tempo di generazione dei ciliati in acque marine naturali era tra 10 e 30 ore, a seconda della dimensione media delle popolazioni dominanti e della temperatura. Il coefficiente di produzione specifica μ in popolazioni naturali di ciliati lacustri era tra 1 e 1.5 giorni⁻¹. Per calcolare i valori di μ mediante il metodo fisiologico che utilizza il coefficiente di efficienza K_2 , possono essere usati dati sperimentali noti sui tassi di respirazione per valutare la dipendenza tra la respirazione e la temperatura dell'acqua. Il coefficiente di dipendenza della respirazione dei ciliati Q_{10} sulla temperatura entro un'oscillazione da 4 a 20 °C varia nelle differenti specie tra 2.3 e 3.0. Il tasso medio di respirazione nelle popolazioni di ciliati oscilla da 0.1 a 0.5 mg O₂ per mg di biomassa fresca per giorno (media di 0.3 mg O₂ mg⁻¹), corrispondente ad una produzione specifica tra 0.4 e 2.0 al giorno.

Lo studio di produzione e respirazione di intere comunità di protozoi che vivono in un ben determinato habitat richiede l'utilizzo di procedure particolari. Se, ad esempio, si studia la comunità di protozoi ciliati che vive all'interfaccia acqua-sedimento di uno stagno, le stime di biomassa della comunità si possono effettuare usando i metodi già adottati da studiosi del settore (Finlay, 1978; Baldock et al., 1983): il volume cellulare calcolato per ogni specie viene assegnato ad una delle tre seguenti classi di taglia: < 10⁴ μm³, 10⁴-10⁵ μm³, > 10⁵ μm³. Il volume cellulare viene poi trasformato in biomassa sia come peso secco (usando il coefficiente di conversione **0.524** pg/μm³ (Gates et al., 1982)) sia come contenuto energetico (misurato in Joule). Il tasso di produzione P viene stimato sui dati di biomassa B , applicando il metodo in uso per le popolazioni a riproduzione continua e a crescita esponenziale che può essere espresso dalla equazione (1)

$$P = \frac{t}{G} \times \frac{B_t - B_0}{\ln \frac{B_t}{B_0}} \quad (1)$$

dove il tempo di generazione G viene stimato, per ciascun periodo t e in ciascuna delle tre classi di taglia, utilizzando le rette di regressione calcolate da Finlay (1978). Il tasso di respirazione R viene stimato per ciascuna classe di taglia, e per ciascun intervallo di tempo t utilizzando l'equazione (2) che tiene conto del numero degli individui N :

$$R = 24rt \frac{N_t - N_0}{\ln \frac{N_t}{N_0}} \quad (2)$$

Il tasso respiratorio (come consumo di ossigeno) orario r viene ricavato, per ciascuna classe di taglia, dalla seguente equazione:

$$\log_{10} r \left(\text{nl O}_2 \times \text{cell}^{-1} \text{h}^{-1} \right) = \log_{10} \text{Vol} \left(\mu\text{m}^3 \right) \times 0.75 - 4.09$$

che rappresenta la retta di regressione calcolata da Fenchel & Finlay (1983) sulla base di dati sperimentali riportati in Fig. 10. I valori di R vengono poi trasformati in Joule usando il valore di conversione di 20.2 J ml⁻¹ O₂.

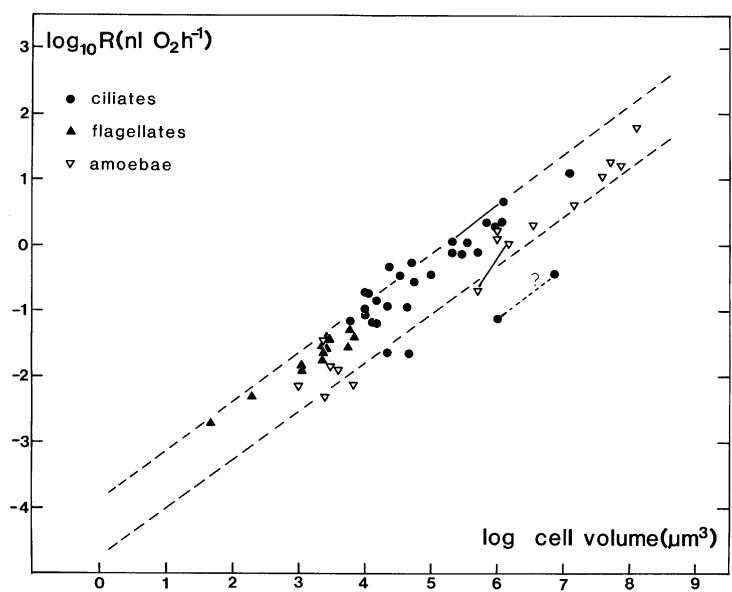


Fig. 10. Dati sperimentali sul tasso di respirazione dei protozoi a seconda del tasso di crescita cellulare. La linea tratteggiata superiore rappresenta la retta di regressione dei metazoi picilotermini, mentre quella inferiore rappresenta la retta di regressione degli organismi unicellulari.

Finlay & Uhlig (1981) hanno determinato sperimentalmente i valori calorici di alcuni protozoi marini e d'acqua dolce. Secondo questi autori, il carbonio organico dei protozoi ciliati rappresenta il 49.4% dell'intero contenuto cellulare (peso secco), e il valore calorico, espresso per unità di carbonio è di **45 J (mg C⁻¹)**.

A titolo esemplificativo, sono riportati nella tabella 1 i valori di biomassa, produttività, respirazione ed efficienza di produzione netta della comunità di protozoi ciliati ubicati all'interfaccia acqua-sedimento di una risaia sperimentale (Madoni, 1987).

Tab. 1- Valori di biomassa (B), produzione (P), respirazione (R), rapporto P/B, e efficienza di produzione netta (K₂) di una comunità di ciliati in una risaia sperimentale. (I valori riportati sono le medie giornaliere nel periodo di tempo tra date di campionamento adiacenti).

Periodo	B kJ m ⁻²	P kJ m ⁻² d ⁻¹	R kJ m ⁻² d ⁻¹	K ₂ %	P/B
06-08 Giugno	3.69	2.83	1.91	59.7	0.77
09-10 Giugno	3.40	3.98	1.64	70.8	1.17
11-16 Giugno	3.78	5.67	1.95	74.5	1.50
17-21 Giugno	5.33	9.40	4.21	69.0	1.77
22-24 Giugno	6.47	8.07	4.18	65.9	1.25
25 Giu- 01 Lugl.	10.06	19.04	5.39	77.9	1.90
02-14 Luglio	4.96	6.08	1.81	77.0	1.23
15- 18 Luglio	0.70	1.32	0.61	68.6	1.90
19-26 Luglio	0.65	0.75	0.19	79.9	1.15
27 Lug-01 Ago.	4.28	3.76	1.07	77.8	0.88
02-09 Agosto	10.24	8.63	3.18	73.0	0.84
10-31 Agosto	2.32	1.40	1.18	54.3	0.45
01-06 Settembre	0.19	0.54	0.15	78.1	2.30
07-13 Settembre	0.33	0.39	0.28	58.3	0.29

Dalla tabella 1 si evince che gli alti valori di efficienza di produzione netta della comunità di protozoi

ciliati della risaia, sembrano indicare che il costo respiratorio per unità di produzione è piuttosto basso rispetto a quello osservato in vari gruppi di metazoi e, in particolare, negli organismi a breve ciclo vitale.

8. ALTRI ASPETTI

8.1 Allomorfismi Adattativi

Tutto quanto è stato finora discusso si riferisce all'esistenza dei protisti in condizioni ambientali "normali", ovverossia lontane dai limiti di sopravvivenza. Talora, tuttavia, specialmente nell'ambiente delle acque interne, si può rischiare di uscire dalle condizioni compatibili con la sopravvivenza di piccoli organismi unicellulari: pensiamo all'asciuttore estivo dei piccoli corsi d'acqua, alle condizioni di congelamento delle acque interne nei periodi invernali ecc. La risposta adattativa fornita da molti ciliati è rappresentata dal fenomeno degli stati "allomorfici". un fenomeno che porta una stessa specie ad esprimere stati morfologici "particolari", profondamente diversi gli uni dagli altri, ciascuno rispondente alle istanze che di volta in volta si presentano nello ambiente.

Possiamo considerare il caso del ciliato ipotrico *Oxytricha bifaria* (Fig. 11) come paradigmatico di questo fenomeno. Questa specie può "esistere" in diverse forme:

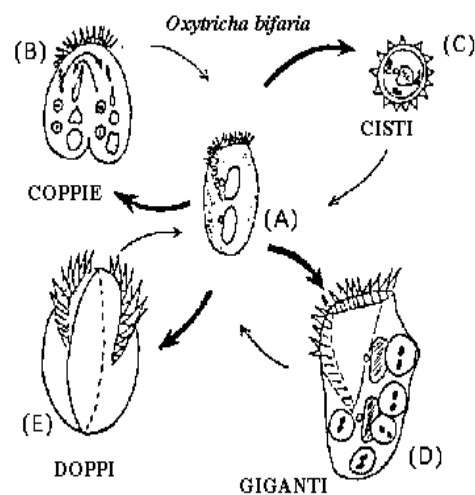


Fig. 10. Allomorfismi adattativi nel ciliato ipotrico *Oxytricha bifaria*.

(A) l' organismo singolo, normale, che vive l'esistenza quotidiana e rappresenta la parte di gran lunga più comune del ciclo vitale della specie. In questa forma la specie vive normalmente, riproducendosi per scissione binaria trasversa e comportandosi adattativamente.

(B) La coppia coniugante che è lo stato in cui la specie porta avanti i fenomeni sessuali fondendo, a due a due, organismi appartenenti a tipi coniugativi complementari (Fig. 11 B); l'unità formata dai due organismi appaiati rappresenta la forma di *O. bifaria* che risponde all'istanza di rimescolare il patrimonio genetico della popolazione e, al contempo, di riportare a zero l'orologio biologico degli organismi coinvolti nella coniugazione, così ringiovanendo i cloni che ne risulteranno: gli ex coniuganti sono organismi sessualmente "immaturi", cioè considerabili come forme juvenili per la specie.

(C) La ciste (Fig. 11C): dopo una fortissima riduzione volumetrica (circa 1/7 della forma normale, sopra citato come stato "A"), le oxytriche si rinchiudono dentro una struttura di resistenza di circa 40 μm di diametro, la cui parete è formata da più strati e rivestita all'esterno di digitazioni che

facilitano l'ancoraggio di più cisti le une alle altre: è lo stato in cui la specie può resistere all'asciuttore più estremo, così come ai valori più proibitivi delle temperature invernali. L'alto costo biologico dell'incistamento è giustificato dal fatto di essere l'unica via percorribile in condizioni ambientali estremamente sfavorevoli.

(D) Il gigante (Fig. 11D): in questo stato alcuni individui di *O. bifaria* aumentano il volume fino a circa otto volte il normale, regolando parallelamente la quantità di DNA nucleare (sia nel microche nel macro nucleo); l'induzione di queste forme è determinata da un affollamento (alto numero di organismi/unità di volume) ambientale ed il loro significato adattativo è evidente mentre la forma normale è batterivora (= consumatore primario), il gigante è un consumatore secondario (= "carnivoro"), rappresenta cioè un escamotage per poter sfruttare più a lungo nel tempo lo stesso "patch" ambientale. Qualora infatti si abbia una ricchissima fioritura batterica (p.es. in primavera precoce), i ciliati batterivori si riproducono intensamente, così riducendo drasticamente la disponibilità di cibo. Il poter passare ora alla nicchia trofica di consumatore secondario permette ad *O. bifaria* di sopravvivere nello stesso micropatch, ben oltre l'esaurirsi delle risorse alimentari batteriche cibandosi degli altri consumatori primari.

(E) il doppio (Fig. 11 E): è questo uno stato allomorfico particolare, in cui due organismi sono profondamente fusi dorsalmente; recentissimi studi comparati approfonditi sulla morfologia e sul comportamento hanno rivelato che la condizione di doppio (nuota solamente e lo fa spostandosi lungo tratti rettilinei virtualmente ininterrotti) media la dispersione della specie nell'ambiente, permettendole così di colonizzare possibili, nuovi habitat posti anche a distanze considerevoli da quello di partenza.

8.2 Il Comportamento

Recente è lo sviluppo dell'approccio etologico alla biologia dei protisti: come dimostrato dall'esempio dei doppi di *O. bifaria*, questo tipo di studio sembra prestarsi a studi quantitativi relativamente molto precisi tanto da offrirsi come base interpretativa del significato adattativo di forme a prima vista enigmatiche. Si sta attualmente cercando di applicare lo studio quantitativo del comportamento locomotorio dei protisti al monitoraggio ambientale, sulla base della osservazione che il comportamento adattativo rappresenta la risposta che l'organismo dà al variare delle condizioni ambientali. Risultati iniziali con diverse concentrazioni di mercurio sembrano confermare che questo tipo di analisi non solo è molto affidabile e preciso, ma, in più, che esso è anche molto sensibile, essendo in grado di rivelare dosi di tale metallo pesante in soluzione non rilevabili altrimenti, se non con analisi chimiche specifiche.

8.3 Il Microbial Loop

Resta ora da trattare il concetto cardine di "microbial loop" (Fig. 12): introdotto solo molto recentemente, nell'ultimo decennio cioè, si riferisce ad ambienti quali gli oceani o i laghi molto grandi. In tali ambienti, la produzione primaria è essenzialmente legata ai procarioti ed ai microflagellati: la quantità di sostanza organica è enorme, rappresentando tali organismi l'"erba" di sconfinite praterie liquide, gli oceani, appunto, ma non facilmente utilizzabile per tutti gli organismi marini cui siamo abituati a pensare, cioè i crostacei, i pesci e i grandi cetacei! Sono i protisti consumatori primari che possono cibarsi di tanta abbondanza, per finire essi stessi preda dei ciliati più grandi, i consumatori secondari: tutti, poi, se non utilizzati altrimenti, vengono facilmente decomposti e mineralizzati, rendendo rapidamente disponibile la propria biomassa per nuovi cicli riproduttivi di nuovi organismi.

In pratica, questa che abbiamo brevemente schematizzato rappresenta una "microecologia" autosufficiente, detta appunto "microbial loop", che ricorda quella che, con la comparsa dei protisti, venne ad instaurarsi negli oceani primevi: oltre a questo carattere biologico adattativo di enorme rilievo culturale, tuttavia, il microbial loop gioca un ruolo basilare per quanto riguarda l'equilibrio generale dell'intero comparto oceanico. E' infatti proprio il microbial loop che sta alla base del mantenimento dell'intero macrobial loop, quello, cioè, formato da tutte le forme di metazoi che conosciamo di più, i crostacei, i pesci e i cetacei, per citare le componenti di maggior rilievo: e, infatti, proprio in virtù dei componenti del microbial loop che l'enorme disponibilità di materia organica ed energia creata dai prodotti primari microscopici riesce ad arrivare fino a forme (i ciliati di 200 μm o più) che possono servire da cibo per i metazoi (e le loro larve!) sopra menzionati. Possiamo concludere,

schematicamente, affermando che "i ciliati mantengono in vita le balenottere"!

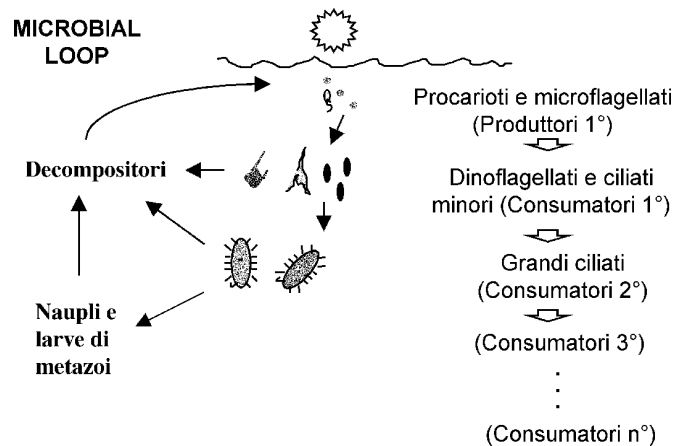


Fig. 12. Il microbial loop

8.4 Biogeografia dei protisti

Il modo con il quale può essere spiegata la distribuzione spaziale e temporale degli organismi dipende dalla scala adoperata. In scale comparabili al tempo di generazione e alla distanza entro cui un individuo può muoversi attorno, i modelli di distribuzione possono essere il risultato di fattori ecologici, come l'ambiente fisico e chimico locale, le risorse alimentari, la competizione interspecifica o la stocasticità demografica e ambientale. All'altro estremo, cioè, una scala di tempo evolutiva e grande distanza che costituisca una efficiente barriera alla migrazione, la spiegazione dei modelli di distribuzione può invocare eventi evolutivi o storici (es., drift continentale). A scale intermedie, possono essere responsabili dei modelli di distribuzione osservati una varietà di fattori, come gli andamenti stagionali e climatici, le correnti oceaniche o meccanismi che facilitano la dispersione a grandi distanze.

E' un'opinione convenzionale che molte specie di protisti hanno una distribuzione cosmopolita. Protisti simbiotici associati a specie di metazoi sono spesso ospiti molto specifici e costituiscono una ovvia eccezione. Riguardo alle forme libere, sembra che in habitat simili, si trovino specie identiche in ogni parte della terra. Comunque, vi sono diverse ragioni per modificare questa generalizzazione. Prima di tutto, i sopralluoghi faunistici di protisti sono molto più estesi in Europa, in nord America e nei vicini mari, rispetto ad ogni altro luogo. Il variante grado di risolutezza tassonomica a livello di specie, insieme all'autorità di manuali e monografie tassonomiche, può influenzare questo quadro. I protistologi che raccolgono protisti in una nuova area tendono ad identificare le specie se fossero le stesse forme già descritte e denominate, ad esempio, in Europa, anche se possono esservi sottili differenze. Anche la chiara assenza di una specie può semplicemente significare che essa non è stata ancora trovata in una particolare area.

Infatti, vi sono esempi di modelli biogeografici nella distribuzione delle specie di protisti. L'ameba gigante *Chaos carolinensis*, conosciuta negli habitat di acque dolci del Nord America, non è stata mai trovata in Europa ed è molto improbabile che essa sia sfuggita all'osservazione. Dragesco (1986), ha studiato ciliati marini e d'acqua dolce in Africa dove sono state trovate diverse nuove specie endemiche a quel continente o alle regioni tropicali, ed è improbabile che queste specie non siano state trovate in aree più intensamente studiate. Tra i protisti del suolo, almeno le amebe tectate mostrano definite province biogeografiche (p.es., Sud America).

La distribuzione geografica delle specie sorelle appartenenti al complesso *Tetrahymena pyriformis*, è particolarmente interessante. Alcune di queste specie sono endemiche in Europa o in Nord America sebbene vi siano alcune sovrapposizioni nella composizione in specie, tuttavia il Sud America

(compreso anche alcune isole del Pacifico) e l'Australia hanno ciascuna le loro proprie specie. E' il tentativo concludere l'isolamento e la susseguente speciazione dovuti alla deriva dei continenti una possibile spiegazione di questo modello di distribuzione. Il fatto che queste specie sorelle, nonostante la loro similarità morfologica, siano molto differenti a livello molecolare, suggerisce che anche in altri casi protisti molto simili di differenti aree possono essere non molto strettamente legati, ma che i loro fenotipi simili rappresentino un apice evolutivamente adattativo.

L'esempio più tipico di endemismo di protisti d'acqua dolce è quello riportato per il Lago Baikal. Alcune di queste forme sono ectocommensali su crostacei gammaridi endemici. Comunque, sono stati descritti anche numerosi ciliati planctonici strani e alcuni di essi rappresentano endemismi a livello di genere o di famiglia. L'endemismo geograficamente più confinato tra quelli osservati, è risultato essere un ciliato appartenente al genere *Condylostoma*, isolato in un lago salato lungo 140 metri sulle coste della penisola del Sinai. Più recentemente, comunque, questo ciliato lungo quasi due millimetri, è stato riscontrato nelle coste occidentali dell'Africa.

Nonostante questi esempi, è ancora vero che le specie di protisti di acqua dolce, suolo o mari costieri in generale, sono ampiamente distribuiti rispetto ai più grandi metazoi che sono generalmente endemici almeno nei continenti, parte di continenti o anche in piccole isole o catene montuose. Una delle ragioni di ciò è che molti protisti hanno un alto potenziale di diffusione. Le cisti, che resistono al disseccamento, possono essere sparse dai venti fino a grandi distanze, ma anche specie che non formano cisti possono essere trasportate a grandi distanze attraverso uccelli o insetti o le zampe di mammiferi. Le specie marine possono migrare lungo le coste o essere trasportate a grandi distanze anche attraversando oceani su frammenti di alghe alla deriva o su altri materiali galleggianti.

Alcuni ecologi americani (Cairns e Ruthven, 1972), studiando la fauna e i tassi di migrazione di protisti d'acqua dolce in una piccola isola delle Bahamas caratterizzata dall'avere un ristretto numero di bacini e corsi d'acqua dolce, hanno trovato che il tasso di colonizzazione di contenitori aperti contenenti acqua sterile era lento rispetto a esperimenti simili effettuati sul continente. Essi discussero i loro risultati in termini di "biogeografia delle isole" (vedi MacArthur & Wilson, 1967) e, di conseguenza, si attesero che il numero di specie sull'isola venisse equilibrato ad un livello più basso rispetto ad habitat simili sul continente (Fig. 13). Questo, è quello che è avvenuto, tuttavia, questi risultati non sono così facili da interpretare in quanto molti protisti del suolo si trovano anche in acqua dolce e così il pool locale di specie che potenzialmente può colonizzare i contenitori sperimentali può essere stato più grande di quello atteso.

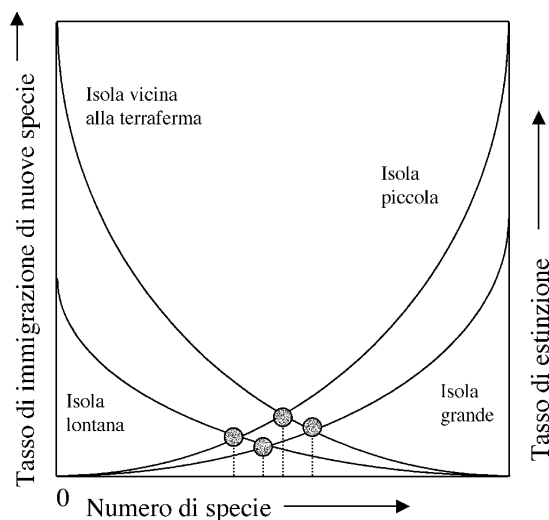


Fig. 13. Relazione tra immigrazione, estinzione e numero di specie nelle isole secondo la teoria di MacArthur e Wilson)

La teoria della biogeografia delle isole, comunque, fa un po' di luce sull'ampia distribuzione delle specie di protisti. Secondo questa teoria, il numero di specie di ogni isola (un lago, la vetta di una montagna, una vera isola) deve essere inteso come un equilibrio tra immigrazione di nuove specie ed estinzione locale di specie stabilitesi precedentemente. Il processo di estinzione può essere accelerato dalla competizione, dalla predazione o dalla stocasticità ambientale, ma alla fine l'estinzione è probabilmente dovuta alla stocasticità demografica nelle piccole popolazioni. Perciò, il numero di specie in equilibrio entro ogni taxon è più basso nelle piccole isole le quali hanno le più piccole dimensioni assolute di popolazione.

Comunque, dato che i protisti sono piccoli, le loro dimensioni assolute di popolazione possono essere immense, anche in una piccola isola come uno stagno e anche se la specie in questione fosse relativamente rara. La probabilità di estinzione locale di una popolazione di protisti in una piccola isola è perciò molto piccola in confronto della probabilità di estinzione di una popolazione di uccelli. La teoria della biogeografia delle isole predice perciò che l' "effetto distanza " (che è l'effetto sulla ricchezza in specie dovuto al diminuito tasso di migrazione di fronte a grandi distanze tra isole) sarà leggero. Una ragione fondamentale per l'ampia e talvolta globale distribuzione delle specie di protisti (e di altri piccoli organismi) è perciò l'enorme dimensione assoluta di popolazione raggiunta da questi organismi. La spiegazione è attraente perché non implica nessuna proprietà speciale dei piccoli organismi (come un lento tasso di evoluzione o uno straordinario potenziale di dispersione) come suggerito da alcuni autori, ma si basa solo sul fatto che i piccoli organismi formano popolazioni con grandi numeri di individui. Questa interpretazione predice che i grandi protisti dovrebbero mostrare una più alta tendenza a formare modelli biogeografici rispetto a quelli più piccoli. L'ameba gigante endemica del Nord America e il grande ciliato endemico dell'Africa citati prima, possono essere conformi a ciò, tuttavia non è ancora possibile fare delle generalizzazioni.

9. Bibliografia

Baldock B.M., Baker J.H., Sleight M.A., 1983. Abundance and productivity of protozoa in chalk streams. *Holarct. Ecol.*, **6**: 238-246.

Cairns J. e Ruthven J.A., 1972. A test of the cosmopolitan distribution of freshwater protozoans. *Hydrobiologia*, **39**: 405-427.

Corliss J.O., 1984. The kingdom Protista and its 45 phyla. *BioSystems*, **17**: 87-126.

Dragesco J. e Dragesco-Kerneis A., 1986. *Ciliés libres de l'Afrique intertropicale*. Edition de l'Orstrom, Paris.

Fenchel T., 1987. *Ecology of Protozoa*. Springer-Verlag, Berlin.

Fenchel T., Finlay B.J., 1983. Respiration rates in heterotrophic free-living protozoa. *Microb. Ecol.*, **9**: 99-122.

Finlay B.J., 1978. Community production and respiration by ciliated protozoa in the benthos of a small eutrophic loch. *Freshwat. Biol.*, **8**: 327-341.

Finlay B.J., Uhlig G., 1981. Calorific and carbon values of marine and freshwater protozoa. *Helgolander Meeresunters*, **34**: 401-412.

Gates M.A., Rogerson A., Berger J., 1982. Dry to wet weight biomass conversion constant for *Tetrahymena ellioti* (Ciliophora, Protozoa). *Oecologia*, **55**: 145-148.

Gause G.F., 1934. *The struggle for existence*. Williams & Wilkins, Baltimore.

Koch A.L., 1971. The adaptive responses of *Escherichia coli* to a feast and famine existence. *Adv. Microb. Physiol.*, **6**: 147-217.

MacArthur R.H. e Wilson E.O., 1967. *The theory of islands biogeography*. Princeton University Press, Princeton.

Madoni P., 1987. Estimation of production and respiration rates by the ciliated protozoa community in an experimental ricefield. *Hydrobiologia*, **144**: 113-120.

May R.M., 1978. The evolution of ecological systems. *Sci. Amer.*, **239**: 118-133.

Platt T. e Denman K., 1977. Organisation in the pelagic ecosystem. *Helgoländer Wiss. Meeresunters*, **30**: 575-581.

Satir P., 1984. The generation of ciliary motion. *J. Protozool.*, **31**: 8-12.

Sheldon R.W., Prakash A. e Sutcliffe W.H., 1972. The size distribution of particles in the ocean. *Limnol. Oceanogr.*, **27**: 765-769.

Sorokin Y.I., 1999. *Aquatic microbial ecology*. Backhuys Publishers, Leiden.