

ANESTETIZZARE LE CREATURE D'ACQUA DOLCE: SI PUO'?

Lorenzo Conti, Milano¹

1. INTRODUZIONE

Chissà quante volte avrete maledetto il dannato animaletto d'acqua dolce che sfreccia alla velocità della luce mentre tentate di osservarlo! In alcuni casi ci sembra che quanto più sono belli, tanto più si muovono! Non parliamo poi del caso in cui, volendo scattare una foto, vi trovate con l'inquadratura vuota perché il tizio colle cilia² si è spostato ed è uscito dal campo. Poiché di professione faccio l'anestesista, mi viene spontaneo chiedermi se posso "anestetizzare" questi simpatici animaletti senza ucciderli; una cosa è certa: bisogna fare qualcosa per rallentarne il movimento! Possibilmente mantenendoli vivi, perché sarebbe troppo facile fotografarli da morti; a noi piacciono vivi, con tutti i flagelli o cilia o altre appendici vive e vibranti. E poi un anestesista non uccide il paziente per poter farlo operare, quindi ...

Ovviamente, non essendo un veterinario o un biologo marino, le note seguenti non sono "farina del mio sacco". Non essendo un esperto del settore, mi limito a riassumere quello che ho trovato sul web senza aggiungere o togliere niente; se qualche vero "esperto" del settore volesse correggere/integrare queste poche righe, sarebbe il benvenuto.

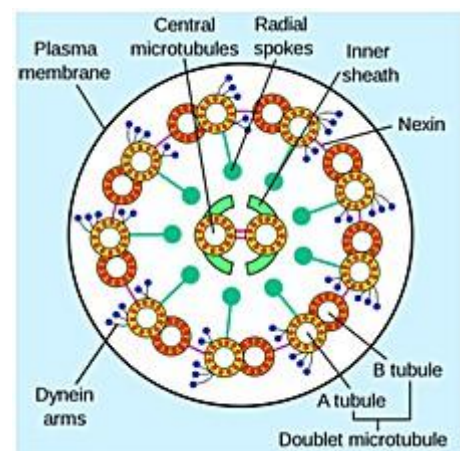
2. LE STRUTTURE DI MOVIMENTO NEI PROTISTI D'ACQUA DOLCE – CILIA, FLAGELLI, PSEUDOPODI³

I protisti (essere viventi unicellulari: Protofiti, se vegetali; Protozoi, se animali) utilizzano tre principali sistemi di movimento; i flagelli (spesso singoli o a coppie, ma anche qualche centinaio), le cilia ed i movimenti ameboidi (tramite l'estroflessione di pseudopodi) nei protisti più primitivi.

I flagelli e le cilia hanno funzione analoga; Il flagello dei protisti^{4 5 6} (organismi eucariotici) è differente dal flagello dei batteri (procarioti). Il flagello dei procarioti ha un movimento rotatorio mentre il flagello degli eucarioti oscilla. Il flagello è composto da un sistema di filamenti di tubulina organizzati a coppie, in un sistema di 9 microtubuli periferici (coppie) + 2 centrali in coppia unica. La locomozione avviene per idrolisi dell'ATP tramite l'azione catalitica di una proteina detta dyneina, che a sua volta è connessa, assieme alla nexina, alle doppiette di tubuli. La motilità di cilia e flagelli è regolata dalle modificazioni del quantitativo di calcio intraflagellare.

La regolazione del calcio intraflagellare, che contribuisce a generare il movimento, interessa la proteina dyneina che è fissata ai tubuli. La contrazione della dyneina determina la forza che sostiene il movimento. Sia la calmodulina che la chinasi calmodulina-dipendente⁷ intervengono in questa complessa regolazione calcio-mediata. Il sistema flagellare è inoltre controllato da un sistema micro tubulare posto alla base del flagello detto blefaroplasto.

Figura 1 – da wikipedia - en.wikipedia.org/wiki/Flagellum

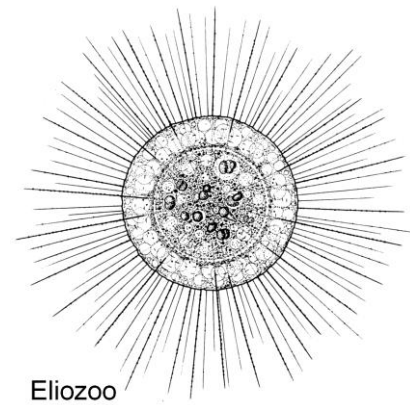


Le cilia hanno struttura analoga al flagello, ma differiscono per la lunghezza ed il pattern di movimento.

Gli pseudopodi sono sostanzialmente delle protrusioni/proiezioni di citoplasma attive e mobili. Esistono varie specie di pseudopodi (lobopodi, filopodi, actinopodi). Nello pseudopodio del tipo lobopodio si ha la proiezione di citoplasma esterno ectoplasmatico, non granulare, a cui segue la movimentazione del citoplasma interno, granulare, endoplasmico, con conseguente locomozione dell'intero protista. Durante il movimento, si ha la partecipazione attiva ATP-dipendente dei microfilamenti di actina e miosina attivati dai movimenti ionici del calcio intracitoplasmatico¹. Gli pseudopodi del tipo filopodi sono strutture ialine nelle quali la contrazione dei microfilamenti fa muovere il corpo cellulare.

Gli pseudopodi reticulopodi sono fini reti che non solo possono aggrapparsi al substrato per la locomozione, ma anche formare dense reti anastomotiche (a filamenti intrecciati) che possono intrappolare le prede. Gli axopodi sono più complessi. Sono composti da uno strato esterno di citoplasma fluido che circonda un nucleo centrale contenente un fascio di microtubuli che sono intrecciati in uno specifico pattern. Lo strato esterno di citoplasma può estrarre organelli atti alla predazione. Gli axopodi sono tipici dei Protozoi Eliozoi (fig. 2).

Fig. 2 - Da: Streble e Krauter – Atlante dei microrganismi acquatici. - Muzzio ed., Padova, 1982.



Di seguito alcuni esempi di pseudopodi (lobopodia, filopodia, reticulopodia, axopodia)

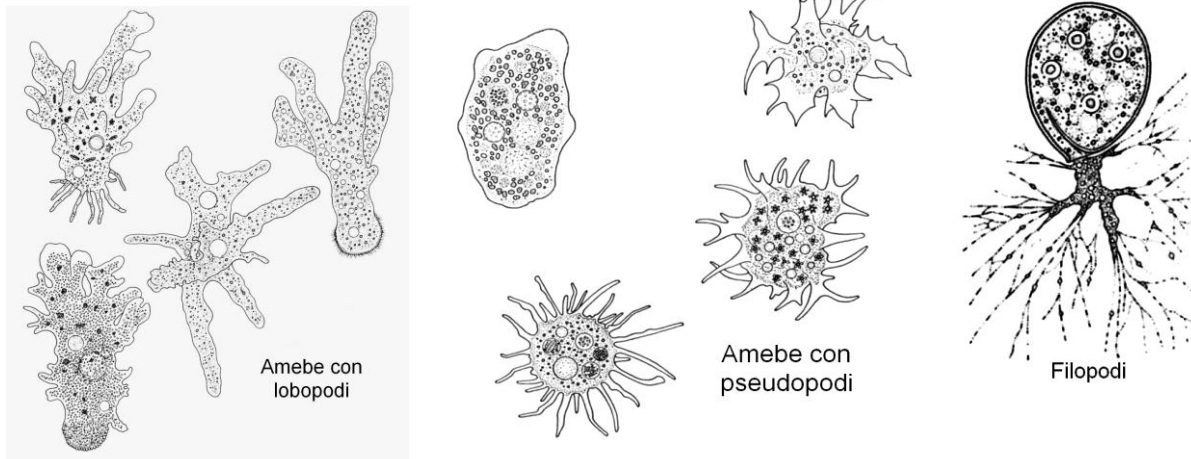


Fig. 3 – Da: Streble e Krauter – Atlante dei microrganismi acquatici. - Muzzio ed., Padova, 1982.

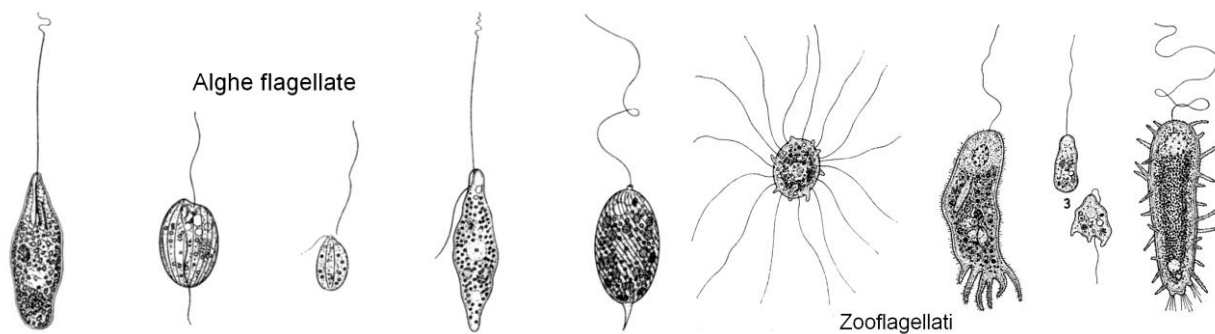


Fig. 4 – Varie forme di Fitoflagellati e Zooflagellati (idem)

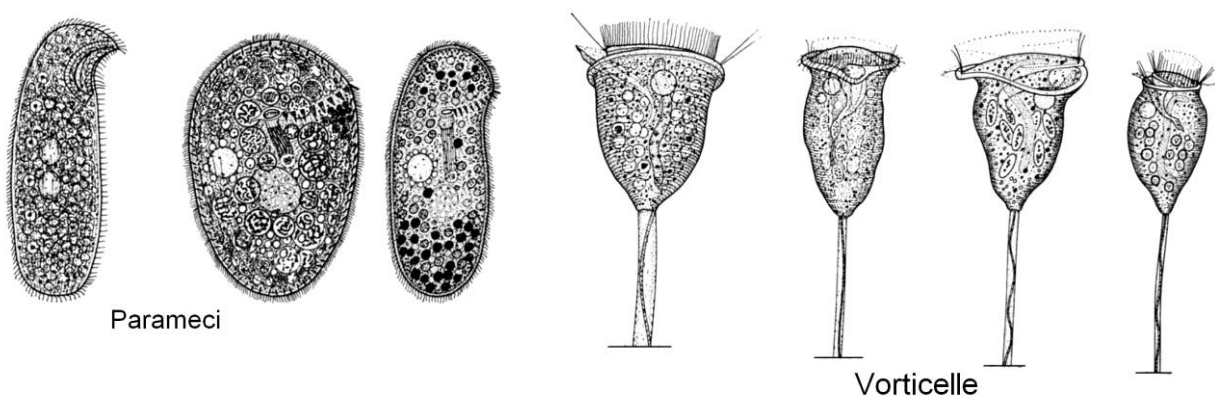


Fig. 5 – Alcuni Protozoi Ciliati (idem)

3. L'AZIONE DELLE VARIE MOLECOLE SULLE STRUTTURE DI MOVIMENTO

La lidocaina (un anestetico locale) blocca il movimento dei flagelli di *Chlamydomonas*, utilizzato a scopo sperimentale. Il calcio è coinvolto nell'attività flagellare; anche gli inibitori della calmodulina^{8 9} sono in grado di rallentare il movimento flagellare;¹⁰ La lidocaina rallenta sino ad inibire completamente la motilità ciliare delle cellule della mucosa nasale e respiratoria nell'uomo^{11 12}.

La lidocaina, etere e cloroformio bloccano o rallentano la contrazione ciliare e flagellare delle specie di spugne *Cliona* sp e *Grantia* sp.¹³

Altri fattori come la temperatura, la concentrazione dei principali ioni, la diminuzione del calcio nel medium di sospensione, possono determinare in *Chlamydomonas* sp. una diminuzione della funzione flagellare.¹⁴

L'alcool in basse dosi aumenta la motilità ciliare delle cilia delle cellule dell'apparato respiratorio, mentre in alte dosi la inibisce.¹⁵

Nei mammiferi, l'alcool causa un'alterazione della motilità ciliare in base all'alterazione dei segnali ossido-nitrico mediati e in base all'alterata regolazione delle proteine delle cilia, incluso il sistema della dyneina.¹⁶ Un'analisi sperimentale sulla motilità delle cilia delle cellule della mucosa respiratoria nei mammiferi mostra che l'alcool agisce sul sistema dyneina – microtubuli mediante un'alterazione della fosforilazione delle proteine dell'axonema.¹⁷

La fenilefrina diminuisce il battito delle cilia nelle cellule epiteliali nasali nell'uomo.^{18 19} Molte sostanze che interferiscono con l'acetilcolina²⁰ sembrano potenziare un effetto narcotico degli anestetici locali (soprattutto lidocaina, procaina ed anestetici locali ionizzabili) sui rotiferi. Alcune di queste sostanze sono i betabloccanti (propranololo) e l'atropina.

Da queste evidenze sperimentali appare l'indicazione che alcune sostanze chimiche agiscono sul flagello e sulle cilia (abbiamo visto che entrambe le strutture sono simili) inibendone la motilità e che queste sostanze, in ultima analisi, possano rallentare il moto dei Protisti ciliati.

4. LESSICO²¹

- Narcosi: stato di sonno profondo indotto da farmaci.
- Anestesia: soppressione transitoria della sensibilità dolorifica indotta da farmaci.

5. METODI DI RALLENTAMENTO DEI MOVIMENTI DEI PROTISTI

- METODI FISICI

Il raffreddamento è una metodica molto usata in fotografia biologica anche per i pesci. L'utilizzo d'acqua bollente ipossica (con scarsità di ossigeno) determina la fissazione in estensione di tutte le strutture dei rotiferi.

- METODI MECCANICI

Rendere più denso il medium in cui nuotano i protisti serve a rallentarne il movimento²².

AGENTE	ORGANISMO SENSIBILE	FORMATO COMMERCIALE	DOSAGGIO	METODO D'USO
Ossido di polietilene	<i>Euglena gracilis</i> , <i>Didinium nasutum</i> , <i>Paramecium aurelia</i> , <i>Blepharisma undulans</i> , e <i>Prorodon platyodon</i>	Polyox WSR 301 [®] ²³	Soluzione 1%	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali.
Metilcellulosa/hydroxyethyl cellulose		Proto-slo [®] ²⁴	10 g di metilcellulosa diluiti in 90 ml di acqua. Soluzione 1% Soluzione pronta del commercio di idrossietilcellulosa	1 goccia di medium in cui si trovano gli animali ed una goccia di soluzione di metilcellulosa.
Gelatina		Gelatina per uso alimentare	Preparare una soluzione di gelatina 2-3-% a caldo, poi lasciar raffreddare.	1 goccia di medium in cui si trovano gli animali ed una goccia di gelatina.
Gomma adragante o gomma tragacantha ²⁵		Gomma per uso alimentare	Tritare in mortaio e disciogliere in acqua fredda.	Aggiungere goccia a goccia sino all'effetto voluto.
Gomma arabica		Gomma arabica per uso alimentare	Mescolare sino ad ottenere una pasta.	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali.

Un ulteriore mezzo meccanico di rallentamento consiste nello "schiacciare" i protisti tra due vetrini, meccanicamente connessi con una vite (graduata o no) che funge da "vite da torchio", diminuendo la quantità d'acqua in cui possono nuotare i protisti. La pressione rallenta l'attività degli Invertebrati in quanto diminuisce lo spazio vitale per gli organismi. Un esempio di questi strumenti di origine antica (il Compressorium di Rousselet^{26 27}) è il Taylor Microcompressor Mark II, che è di recente invenzione.

6. METODI CHIMICI DI “ANESTESIA”

Alcuni agenti chimici agiscono rallentando i protisti senza indurre la morte degli stessi. La maggior parte appartiene alla classe degli anestetici locali “umani” che agiscono rallentando reversibilmente la trasmissione nervosa nei nervi sensitivi che trasportano la sensazione dolorosa al cervello. Ciò avviene per la capacità dell’anestetico locale²⁸ di bloccare i canali ionici che presiedono alla creazione dell’impulso elettrico che viene trasmesso attraverso il nervo sino al neurone sensitivo, che ha la funzione di attivare la catena neuronale deputata alla percezione cosciente del dolore. Altre sostanze utilizzate per sedare i protisti sono noti depressivi del sistema nervoso centrale (nell’uomo e negli animali), come l’alcool, ma negli organismi unicellulari l’alcool agisce in diversa maniera. Vasocostrittori nasali come la neosinefrina, utilizzati per il trattamento sintomatico del raffreddore, rallentano i protisti. L’olio di chiodi di garofano, il mentolo ed il magnesio solfato sono utilizzati per sedare gli Invertebrati marini.²⁹ Un noto anestetico per i pesci, Sandoz MS 222, agisce anche sui protisti, rallentandoli.

Il migliore “narcotico” per i rotiferi sembra essere la Bupivacaina (un anestetico locale)³⁰.

Un elenco delle principali sostanze è riportato nella tabella sottostante^{31 32}.

ANIMALE	NARCOTICI/ANESTETICI	MODO D'USO
PROTOZOI	BUTYN (BUTACAINA SOLFATO)	0,1-2% SOLUZIONE ACQUOSA AGGIUNGERE GOCCIA A GOCCIA SINO AD EFFETTO DESIDERATO
	METILCELLULOSA	AGGIUNGERE 10G DI METILCELLULOSA A 90 ML D’ACQUA - MESCOLARE IN PROPORZIONE 1:1
	CHLORETONE	SOLUZIONE 1% - DILUIRE A SECONDA DEGLI AUTORI DA 0,1 A 0,8% SINO AD UN MAX DI 5-10%
	NICKEL SOLFATO ³³	Soluzione 0,01 ³⁴ - soluzione 1-3% ³⁵
	RAME ACETATO ³⁶	Soluzione 0,01 – soluzione 2-3% ³⁷ - aggiungere 1 goccia al vetrino
	MAGNESIO SOLFATO	SOLUZIONE 1% - AGGIUNGERE AL MEDIUM OVE SI TROVANO GLI ANIMALI
	NEO-SYNEPHRINE HYDROCHLORIDE	SOLUZIONE 1% - DILUIRE ALLO 0,1-0,5%
	ACETONE	AGGIUNGERE GOCCIA A GOCCIA
	SOLFATO DI NICKEL	SOLUZIONE 1%
OPERCULARIA	ACQUA OSSIGENATA 3%	AGGIUNGERE AL MEDIUM
SPIROSTOMUM	IDROSSILAMINA IDROCLORIDRATO	SOLUZIONE 1%-2%
STENTOR	POTASSIO IODURO O SODIO IODURO	SOLUZIONE 1% - SOLUZIONE 0,5-1% - soluzione 1-2% ³⁸
VORTICELLA	ALCOOL METILICO	SOLUZIONE 10% - AGGIUNGERE GOCCIA A GOCCIA
	BUTYN (BUTACAINA SOLFATO)	0,1-2% SOLUZIONE ACQUOSA AGGIUNGERE GOCCIA A GOCCIA SINO AD EFFETTO DESIDERATO
HYDRA	ACQUA GASSATA	AGGIUNGERE ALLA SOLUZIONE DOVE SI TROVANO GLI ANIMALI
	MAGNESIO SOLFATO	SOLUZIONE SATURA - AGGIUNGERE AL MEDIUM OVE SI TROVANO GLI ANIMALI
	CHLORETONE	SOLUZIONE 1% DILUIRE A SECONDA DEGLI AUTORI DA 0,1 A 0,8% SINO AD UN MAX DI 5-10%
	ETANOLO 10%	AGGIUNGERE SINO ALL’EFFETTO DESIDERATO

NEMATODI	MAGNESIO SOLFATO ³⁹	SOLUZIONE SATURA - AGGIUNGERE AL MEDIUM OVE SI TROVANO GLI ANIMALI
	IDRATO DI CLORALIO ⁴⁰	USARE UNA SOLUZIONE AL 2% OPPURE 10% A SECONDA DEGLI AUTORI
	CLOROFORMIO ⁴¹	SOLUZIONE SATURA IN ACQUA 1% OPPURE SPRUZZARE SOPRA LA SUPERFICIE DELL'ACQUA E COPRIRE
PLANARIA d'ACQUA DOLCE	IDRATO DI CLORALIO	USARE UNA SOLUZIONE AL 2% OPPURE 10% A SECONDA DEGLI AUTORI
	TRICAINA METANSOLFONATO - SANDOZ MS 222®	0,1-1G PER GALLONE (circa 4 litri – dipende dallo stato)
	MENTOLO IN CRISTALLI	METTERE ALCUNI CRISTALLI SULLA SUPERFICIE DELL'ACQUA DOVE SI TROVANO GLI ANIMALI E COPRIRE
	SOLFATO DI STRICNINA	SOLUZIONE 2%
	URETANO	SOLUZIONE 1%
	ETANOLO 10%	AGGIUNGERE SINO AD EFFETTO
MICOSTOMUM	IDRATO DI CLORALIO	USARE UNA SOLUZIONE AL 2% OPPURE 10% A SECONDA DEGLI AUTORI
	TRICAINA METANSOLFONATO - SANDOZ MS 222®	0,1-1G PER GALLONE
	MENTOLO IN CRISTALLI	METTERE ALCUNI CRISTALLI SULLA SUPERFICIE DELL'ACQUA DOVE SI TROVANO GLI ANIMALI E COPRIRE
	SOLFATO DI STRICNINA	SOLUZIONE 2%
	URETANO	SOLUZIONE 1%
	ACQUA OSSIGENATA 3%	AGGIUNGERE AL MEDIUM
EPISTYLIS	BUTYN (BUTACAINA SOLFATO)	0,1-2% SOLUZIONE ACQUOSA AGGIUNGERE GOCCIA A GOCCIA SINO AD EFFETTO DESIDERATO
ROTIFERI BDELLOIDI⁴²	IDROSSILAMINA IDROCLORIDRATO	SOLUZIONE 1%-2%
	SOLFATO DI STRICNINA	SOLUZIONE 2%
	SOLUZIONE DI HANLEY	90 ML ACQUA + 10 ML ETIL-CELLUSOLVE + 9,2 G DI EUCAINA IDROCLORIDRATO - AGGIUNGERE 1 GOCCIA OGNI 10 ML DI MEDIUM. RIPETERE LA SOMMINISTRAZIONE OGNI 10 MINUTI SINO AD EFFETTO
	CHLORETONE ⁴³	SOLUZIONE 1% DILUIRE A SECONDA DEGLI AUTORI DA 0,1 A 0,8% SINO AD UN MAX DI 5-10%
	NEO-SYNEPHRINE HYDROCHLORIDE	SOLUZIONE 1%- DILUIRE ALLO 0,1-0,5%
	ACETONE	AGGIUNGERE GOCCIA A GOCCIA
	BENZAMINA LATTATO O IDROCLORIDRATO ⁴⁴	SOLUZIONE 2%
	IDROSSILAMINA IDROCLORIDRATO ⁴⁵	SOLUZIONE 1%-2%

BRIOZOI	IDRATO DI CLORALIO	USARE UNA SOLUZIONE AL 2% OPPURE 10% A SECONDA DEGLI AUTORI
	MENTOLO IN CRISTALLI	METTERE ALCUNI CRISTALLI SULLA SUPERFICIE DELL'ACQUA DOVE SI TROVANO GLI ANIMALI E COPRIRE
	SOLUZIONE DI HANLEY	90 ML ACQUA + 10 ML ETIL-CELLUSOLVE + 9,2 G DI EUCAINA IDROCLORIDRATO - AGGIUNGERE 1 GOCCIA OGNI 10 ML DI MEDIUM. RIPETERE LA SOMMINISTRAZIONE OGNI 10 MINUTI SINO AD EFFETTO
	MENTOLO ED IDRATO DI CLORALIO	1 CUCCHIAIO DI MENTOLO ED 1 CRISTALLO DI IDRATO DI CLORALIO; UNIRE I CRISTALLI MACINARE E SOSPENDERE IN ACQUA
	ACETONE	AGGIUNGERE GOCCIA A GOCCIA
OLIGOCHETI D'ACQUA DOLCE	CHLORETONE	SOLUZIONE 1% DILUIRE A SECONDA DEGLI AUTORI DA 0,1 A 0,8% SINO AD UN MAX DI 5-10%
	CLOROFORMIO	SOLUZIONE SATURA IN ACQUA 1% OPPURE SPRUZZARE SOPRA LA SUPERFICIE DELL'ACQUA E COPRIRE
SANGUISUGHE	MAGNESIO SOLFATO	SOLUZIONE 1% - AGGIUNGERE AL MEDIUM OVE SI TROVANO GLI ANIMALI
	IDRATO DI CLORALIO	USARE UNA SOLUZIONE AL 2% OPPURE 10% A SECONDA DEGLI AUTORI
	CLOROFORMIO	SOLUZIONE SATURA IN ACQUA 1% OPPURE SPRUZZARE SOPRA LA SUPERFICIE DELL'ACQUA E COPRIRE
	CHLORETONE	SOLUZIONE 1% DILUIRE A SECONDA DEGLI AUTORI DA 0,1 A 0,8% SINO AD UN MAX DI 5-10%
	ACQUA GASSATA	AGGIUNGERE ALLA SOLUZIONE DOVE SI TROVANO GLI ANIMALI
	ETERE	
DAFNIA	ALCOOL METILICO	SOLUZIONE 10% - AGGIUNGERE GOCCIA A GOCCIA
	URETANO	SOLUZIONE 1%
	CLOROFORMIO	SOLUZIONE SATURA IN ACQUA 1% OPPURE SPRUZZARE SOPRA LA SUPERFICIE DELL'ACQUA E COPRIRE
LUMACHE ACQUATICHE	MAGNESIO SOLFATO	SOLUZIONE 1% - AGGIUNGERE AL MEDIUM OVE SI TROVANO GLI ANIMALI

- **METODI CHIMICI DI "FISSAZIONE"**

Le seguenti sostanze possono essere usate per uccidere i protozoi e fissarli.

ANIMALE	FISSATIVI	MODO D'USO
PROTOZOI	Fluido di Schaudin (miscela di cloruro mercurico, alcool ed acido acetico)	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali

OPERCULARIA	Acido osmico	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali
	Fumi di acido nitrico di Olmey (produrre fumi di acido inserendo un pezzo di rame in 1 ml di acido nitrico concentrato - esporre il vetrino ai fumi per 20 secondi - risciacquare)	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali
SPIROSTOMUM	Fluido di Schaudin (miscela di cloruro mercurico alcool e acido acetico)	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali
STENTOR	Fluido di Schaudin (miscela di cloruro mercurico alcool e acido acetico)	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali
VORTICELLA	Acido osmico	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali
	Fumi di acido nitrico di Olmey (produrre fumi di acido inserendo un pezzo di rame in 1 ml di acido nitrico concentrato - esporre il vetrino ai fumi per 20 secondi - risciacquare)	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali
HYDRA	Fissativo di Bouin (fornalina, acido acetico ed acido picrico)	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali
NEMATODI	Alcool a 70%	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali
	Formalina al 5%	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali
		Aggiungere al medium ove si trovano gli animali
PLANARIE D'ACQUA DOLCE	Fluido di Gilson (cloruro mercurico, acido acetico, alcool ed acido nitrico)	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali
	Perossido di idrogeno 3%	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali
	Acido nitrico 2%	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali
MICOSTOMUM	Fluido di Gilson (cloruro mercurico, acido acetico, alcool ed acido nitrico)	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali
EPISTYLIS	Acido osmico	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali
ROTIFERI	Acido osmico	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali
Gastrotrichi ⁴⁶	Cloruro mercurico - fissativo di Bouin-formalina 10%	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali
Rotiferi loricati ⁴⁷	Formalina 10%	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali
	Fumi di acido nitrico di Olmey (produrre fumi di acido inserendo un pezzo di rame in 1 ml di acido nitrico concentrato - esporre il vetrino ai fumi per 20 secondi - risciacquare)	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali
	Formalina 10%	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali
	Acqua bollente	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali
	Perossido di idrogeno 3%	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali

BRIOZOI	Formalina 10%	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali
	Fissativo di Bouin (formalina, acido acetico ed acido picrico)	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali
OLIGOCHETI D'ACQUA DOLCE	Formalina 10%	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali
	Fluido di Zenker (cloruro mercurico, acido acetico, potassio dicromato, sodio solfato)	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali
SANGUISUGHE	Formalina 10%	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali
	Fluido di Zenker (cloruro mercurico, acido acetico, potassio dicromato, sodio solfato)	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali
	Acidi deboli (succo di limone)	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali
DAFNIA	Formalina 10%	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali
LUMACHE ACQUATICHE	Formalina 10%	Aggiungere al medium ove si trovano gli animali

¹ Lorenzo Conti, Medico Chirurgo, specialista in anestesia e rianimazione; avendo un lontano passato di tirocinante in un servizio di anatomia patologica ho mantenuto la passione per la microscopia ottica, preparando a casa i vetrini che amo osservare.

² Nonostante l'etimologia latina, il termine corrente, anche in biologia, è "ciglio", ma alcuni autori utilizzano in particolare **cilio** per le finissime strutture analoghe dei batteri. Credo si tratti del solito anglicismo, anzi, americanismo.

³ <https://www.britannica.com/science/protist/Means-of-locomotion>

⁴ <https://en.wikipedia.org/wiki/Flagellum>

⁵ <http://omodeo.anisn.it/omodeo/flagelliatt.htm>

⁶ L R. Gibbons - Cilia and flagella of eucaryotes - The Journal of Cell Biology Vol. 91 N 3 107s-124s Dec. 1981

⁷ <https://it.wikipedia.org/wiki/Calmodulina>

⁸ Le calmoduline sono proteine particolarmente abbondanti nelle cellule eucariotiche (fino all'1% delle proteine totali). Sono particolarmente importanti nei processi di segnalazione intracellulare, dove lega ioni Ca^{2+} con alta affinità. Il legame di due o più ioni ne determina un cambiamento conformazionale che le rende adatte a legare proteine bersaglio.- <https://it.wikipedia.org/wiki/Calmodulina>

⁹ Elizabeth F. Smith - Regulation of Flagellar Dynein by Calcium and a Role for an Axonemal Calmodulin and calmodulin dependent Kinase - Mol Biol Cell. 2002 Sep; 13(9): 3303–3313.

¹⁰ W Denter G Whitman - Methods in cell and biology – cilia and flagella — Academic press 1955

¹¹ Koen J. A. O. Ingels, MD, PhD; Marten R. Nijziel, MD; Kees Graamans, MD, PhD; Influence of Cocaine and Lidocaine on Human Nasal Cilia Beat Frequency and Harmony In Vitro Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 1994;120(2):197-201.

¹² Verra F¹, Escudier E, Pinchon MC, Fleury J, Bignon J, Bernaudin JF - Effects of local anaesthetics (lidocaine) on the structure and function of ciliated respiratory epithelial cells. - Biol Cell. 1990;69(2):99-105.

¹³ TL Simpson The cell biology of sponges – Springer Verlag 1984

¹⁴ Bloodgood RA, Leffler EM, Bojczuk AT - Reversible inhibition of *Chlamydomonas* flagellar surface motility. - J Cell Biol. 1979 Sep;82(3):664-74.

¹⁵ Sisson, Joseph H. Ethanol-mediated cilia motility dysfunction - University of Nebraska Medical Center, Omaha, NE, United States - <http://grantome.com/grant/NIH/R01-AA008769-20A1>

¹⁶ Fan Yang,¹ Jacqueline Pavlik,² Laura Fox,³ Chasity Scarbrough,¹ Winfield S. Sale,³ Joseph H. Sisson,² and Maureen Wirschell - Alcohol-induced ciliary dysfunction targets the outer dynein arm- Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2015 Mar 15; 308(6): L569–L576

¹⁷ Fan Yang,¹ Jacqueline Pavlik,² Laura Fox,³ Chasity Scarbrough,¹ Winfield S. Sale,³ Joseph H. Sisson,² and Maureen Wirschell - Alcohol-induced ciliary dysfunction targets the outer dynein arm- Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2015 Mar 15; 308(6): L569–L576.

-
- ¹⁸ Yang-Gi Min, MD; Yeong-Seok Yun, MD; Chae-Seo Rhee, MD; Myung-Whun Sung, MD; Kang-Soo Lee, MD; Myung Sil Ju, MD; Kwang-Suk Park, PhD - Effects of Phenylephrine on Ciliary Beat in Human Nasal Respiratory Epithelium: Quantitative Measurement by VideoComputerized Analysis - *Laryngoscope* 108: March 1998
- ¹⁹ <https://en.wikipedia.org/wiki/Decongestant>
- ²⁰ Thomas Nogrady, Jalal Keshmirian - Rotifer neuropharmacology—II. Synergistic effect of acetylcholine on local anesthetic activity in *Brachionus calyciflorus* (Rotifera, Aschelminthes) *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology Volume 83, Issue 2*, 1986, Pages 339-344
- ²¹ <http://www.treccani.it/enciclopedia/anestesia/> - <http://www.treccani.it/enciclopedia/narcosi/>
- ²² Karl J. Aufderheide¹ and Christopher Janetopoulos^{2,3} - Immobilization of living specimens for microscopic observation – in: *Current Microscopy Contributions to Advances in Science and Technology* (A. Méndez-Vilas, Ed.)
- ²³ Spoon DM, Feise CO II, Youn RS - Poly(ethylene oxide), a new slowing agent for protozoa. . *J Protozool.* 1977 Aug;24(3):471-4.
- ²⁴ Marchio proprietario Carolina Biological Supply Company - USA
- ²⁵ https://it.wikipedia.org/wiki/Gomma_adragante - La **gomma adragante** (più raramente chiamata anche "gomma da tragacanto") è un essudato secco ricavato dai fusti e dai rami di una ventina di specie di leguminose del genere *Astragalus*,
- ²⁶ <http://www.microscopy-uk.org.uk/mag/indexmag.html?http://www.microscopy-uk.org.uk/mag/art97b/dingly5.htm>
- ²⁷ https://archive.org/stream/journalofquekett0209quek/journalofquekett0209quek_djvu.txt
- ²⁸ Per anestetico locale si intende un anestetico che agisce solo nel sito in cui viene iniettato inibendo reversibilmente la trasmissione nervosa del dolore dal sito della lesione al midollo spinale; per anestetico generale si intende un farmaco od una combinazione di farmaci che iniettati endovena determinano perdita di coscienza (narcosi), analgesia ed insensibilità allo stimolo doloroso (anestesia).
- ²⁹ G W Rouse and F Pleijel – *Polychaetes* - Oxford University Press 2001
- ³⁰ T Nogrady and TLA Rowe – comparative laboratory studies on narcosis in *Brachionus plicatilis* – *Hydrobiologia* 255-256 51-56 1993
- ³¹ <http://www.microscopy-uk.org.uk/mag/indexmag.html?http://www.microscopy-uk.org.uk/mag/artmay02/rhmicrotech.html>
- ³² J Delly – Narcotizing, slowing down and preserving microscopic and other aquatic animals – *Modern Microscopy* June 16 2008
- ³³ Immobilization of living specimens for microscopic observation Karl J. Aufderheide¹ and Christopher Janetopoulos^{2,3} – in: *Current Microscopy Contributions to Advances in Science and Technology* (A. Méndez-Vilas, Ed)
- ³⁴ Michael A. Sleight – *Protozoa and other protists* – Cambridge University Press - 1989
- ³⁵ <http://www.microscopy-uk.org.uk/mag/indexmag.html?http://www.microscopy-uk.org.uk/mag/artjun10/rh-protists.html>
- ³⁶ Karl J. Aufderheide and Christopher Janetopoulos - Immobilization of living specimens for microscopic observation – in: *Current Microscopy Contributions to Advances in Science and Technology* (A. Méndez-Vilas, Ed)
- ³⁷ <http://www.microscopy-uk.org.uk/mag/indexmag.html?http://www.microscopy-uk.org.uk/mag/artjun10/rh-protists.html>
- ³⁸ <http://www.microscopy-uk.org.uk/mag/indexmag.html?http://www.microscopy-uk.org.uk/mag/artjun10/rh-protists.html>
- ³⁹ idem
- ⁴⁰ Sharon G Berck and John H Gunderson – *Wastewater organism – a colour atlas*
- ⁴¹ idem
- ⁴² Sharon G Berck and John H Gunderson – *Wastewater organism – a colour atlas*
- ⁴³ idem
- ⁴⁴ idem
- ⁴⁵ idem
- ⁴⁶ idem
- ⁴⁷ Sharon G Berck and John H Gunderson – *Wastewater organism – a colour atlas* Lewis Publishers 1993