

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# RENDICONTI

---

MARIO BENAZZI

## L'azione delle radiazioni ionizzanti sullo sviluppo delle planarie

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 32 (1962), n.1, p. 26-29.*

Accademia Nazionale dei Lincei

[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1962\\_8\\_32\\_1\\_26\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1962_8_32_1_26_0)

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

---

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma  
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)  
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>

**Radiobiologia.** — *L'azione delle radiazioni ionizzanti sullo sviluppo delle planarie* (\*). Nota (\*\*) del Corrisp. MARIO BENAZZI.

Nel corso di ricerche radiobiologiche intraprese da vari anni con la collaborazione di alcuni allievi (1), abbiamo raccolto un certo numero di dati riguardanti l'azione dei raggi X e Y su uova ed embrioni di planarie, che credo non inutile riassumere brevemente.

Le ricerche sono state svolte su *Dugesia lugubris* (O. Schmidt), usufruendo di esemplari del biotipo A (diploide anfigonico) e del biotipo C (triploide asinaptico nella linea femminile e pseudogamico) (2). Non ho ancora stabilito se vi sia una diversa sensibilità alle radiazioni in rapporto al grado di ploidia (problema questo assai discusso nell'ambito vegetale), quindi nella esposizione dei reperti indicherò soltanto lo stadio di sviluppo, prescindendo dal biotipo cui l'esemplare apparteneva.

Sono stati usati raggi X, duri e molli, e raggi Y. Dopo una serie di saggi preliminari su esemplari adulti, abbiamo sperimentato su uova ed embrioni in vari stadi di sviluppo. Come noto, le planarie depongono bozzoli contenenti poche uova e migliaia di cellule vitelline, di cui si nutrono gli embrioni. L'uovo viene fecondato subito dopo l'uscita dal germigeno, quando si trova alla pro-metafase I, e compie la maturazione durante la formazione del bozzolo nell'atrio genitale; al momento della deposizione l'uovo fecondato è nella intercinesi che precede la 1ª divisione di segmentazione, con i cromosomi invisibili; questi ridivengono colorabili dopo 6-8 ore circa dalla deposizione, quando inizia la profase della 1ª divisione di segmentazione. Lo sviluppo si svolge tutto entro il bozzolo, che schiude dopo 20 giorni circa dalla deposizione, (con variazioni in rapporto alla temperatura ambiente ed al numero degli embrioni contenuti) dando piccole planarie completamente formate e capaci di vita autonoma.

Senza entrare in particolari sullo sviluppo embrionale, è utile ricordare che si forma dapprima un embrione sferico cavo munito di faringe provvisorio, il quale poi si allunga ed attraverso ai processi organogenetici dà la giovane planaria munita di faringe definitivo. Lo sviluppo può essere controllato in vita entro il bozzolo; infatti l'esame al binoculare mette in evidenza, verso il 10° giorno circa dalla deposizione, la presenza di embrioni e successivamente di giovani planarie che iniziano i movimenti. Questa possibilità

(\*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Zoologia e Anatomia comparata dell'Università di Pisa.

(\*\*) Presentata nella seduta del 13 gennaio 1962.

(1) Alle presenti ricerche hanno collaborato Lia Marchetti e Giampaolo Lemmetti, che ne hanno fatto oggetto della loro tesi di laurea presso la Facoltà di Scienze di Pisa.

(2) Per i vari biotipi di questa planaria cfr. BENAZZI, 1957.

di controllo è assai utile, sia per la scelta dei bozzoli da irradiare, sia per accertare se uova od embrioni irradiati in stadi precoci procedono o meno nello sviluppo.

La maggioranza dei bozzoli irradiati è stata conservata fino all'epoca presumibile della schiusa; se questa aveva luogo i nati erano seguiti con la massima attenzione. Parecchi bozzoli irradiati in stadi precoci sono stati tuttavia aperti dopo un certo numero di giorni per esaminarne il contenuto; gli embrioni eventualmente presenti venivano studiati microscopicamente previo schiacciamento in una goccia di carminio acetico.

Circa le sorgenti di r.i. ricordo che per i raggi X duri ci siamo valse di un apparecchio Siemens dell'Istituto Radiologico della Università di Pisa a 200 KV e 15 mA, con filtro 0,5 mm Cu, distanza dal foco del tubo 18 cm; le dosi usate, da 1000 a 6000 r, sono state ottenute, naturalmente, variando i tempi di esposizione. Per i raggi X molli abbiamo usufruito di un apparecchio a 50 KV e 4 mA pure dell'Istituto Radiologico, mentre come sorgente di raggi Y ci siamo valse della bomba di  $^{60}\text{Co}$  del C.A.M.E.N. di Livorno. La maggior parte dei dati riguardanti l'azione sullo sviluppo embrionale si riferisce tuttavia ai raggi X duri.

Dall'insieme dei reperti è risultato evidente che, a parità di dose, l'effetto della irradiazione varia in rapporto allo stadio di sviluppo: uova da poco fecondate ed embrioni ai primi stadi sono infatti assai più sensibili di embrioni più avanzati o di giovani planarie prossime alla schiusa.

Dosi tra 1000-1300 r circa sono tollerate anche da uova irradiate entro le prime ore dalla deposizione; esse possono svilupparsi e dare nati vitali, alcuni dei quali, raggiunta la maturità sessuale, hanno deposto uova con corredo cromosomico normale<sup>(3)</sup>. Vi sono però differenze individuali, in quanto anche con le dosi più basse alcuni bozzoli non sono schiusi ed allo esame microscopico hanno rivelato la presenza di piccoli embrioni precocemente bloccati nello sviluppo.

Dosi più elevate, tra 1500-2000 r, appaiono costantemente letali per le uova nelle prime ore dalla deposizione: i bozzoli non producono mai nati, ed in quelli esaminati dopo alcuni giorni dalla irradiazione si trovano, talora, piccoli embrioni sferici con blastomeri morti. Evidentemente le uova irradiate hanno potuto segmentarsi ed i blastomeri organizzarsi nei primi stadi embrionali, ma poi lo sviluppo si è arrestato.

Anche i piccoli embrioni sferici normali, quali si trovano in bozzoli deposti da pochi giorni, sono uccisi dalle dosi di 1500-2000 r.

Un reperto assai indicativo è la presenza, negli embrioni morti, di blastomeri senza traccia di materiale cromatinico ed il cui citoplasma appare con-

(3) Desidero rilevare che in tutte le esperienze finora compiute, trattando sia uova ed embrioni che adulti, non siamo riusciti a provocare mutazioni cromosomiche. Anche individui che avevano riparato lesioni da irradiazioni, dopo raggiunta la maturità sessuale hanno deposto ovociti con corredo cromosomico normale; alcuni hanno pure prodotto discendenza apparentemente normale. Sugli aspetti citogenetici delle nostre ricerche credo opportuno tuttavia attendere i risultati di ulteriori esperienze.

formato a lamelle concentriche; per il loro aspetto caratteristico li indico come *blastomeri a cipolla* (Tav. I, fig. 1). Non ho ancora stabilito se questa alterazione cellulare sia specificamente dovuta all'azione delle r.i. o rappresenti semplicemente un esito finale della morte dei blastomeri; comunque è utile per stabilire, in un bozzolo aperto precocemente, l'effetto letale della irradiazione.

Resistenza notevolmente superiore mostrano invece gli embrioni più avanzati, già allungati, con inizio di faringe definitivo e di occhi: essi possono sopportare dosi di 1500-2000 *r* ed anche più elevate, dando giovani planarie che alla nascita sono di aspetto normale e molto vivaci. Nei giorni successivi, tuttavia, queste subiscono una peculiare alterazione, caratterizzata da rigonfiamento, depigmentazione e rarefazione del parenchima, per cui i tre rami intestinali divengono, per trasparenza, estremamente evidenti (Tav. I, fig. 2). L'anomalia si instaura con gradualità e dapprima gli esemplari colpiti si mantengono vivaci, ma poi finiscono per disgregarsi; solo in pochi casi il processo si arresta e gli animali possono riprendersi e sopravvivere.

Questa alterazione è certo dovuta alla distruzione dei neoblasti, cioè di quelle cellule libere del mesenchima che si ritiene restino quiescenti dagli stadi embrionali, fino al momento in cui partecipano a processi formativi; esse sono capaci di migrare per movimenti ameboidi ed hanno grande importanza nella rigenerazione, che si blocca se tali cellule vengono totalmente distrutte. La loro sensibilità ai raggi X è ben nota, poiché sono uccise da dosi che sembrano lasciare indenni altri tessuti. Merita ricordare come fin dal 1904 Bardeen e Baetjer dimostrassero che dosi sufficienti di raggi X annullano il potere rigenerativo delle planarie e come Schaper pur nel 1904 ottenesse lo stesso effetto col radio; si ebbero successivamente le ricerche di altri Autori (Gianferrari 1929, Curtis e coll., ecc., riassunte in Curtis 1936) e più di recente quelle assai dimostrative della Scuola di Et. Wolff, in particolare della Dubois (vedi pure Stéphan-Dubois in bibl.), svolte con le tecniche della irradiazione totale combinata all'innesto di frammenti normali, oppure della irradiazione zonale localizzata. Queste ricerche hanno dimostrato che le cellule di rigenerazione sono effettivamente neoblasti, dotati di un notevole potere di migrazione e di moltiplicazione e capaci di edificare tutto il blastema di rigenerazione e le sue ulteriori differenziazioni.

L'elevata sensibilità dei neoblasti alle r.i. spiega i risultati da noi ottenuti agendo su planarie in via di sviluppo, come pure gli effetti della irradiazione *in toto* di individui adulti. Infatti, anche con dosi elevate (da 3000 a 6000 *r*) non si manifesta inizialmente alcun sintomo di sofferenza: gli animali continuano a nutrirsi e possono deporre bozzoli; solo dopo parecchi giorni (3-5 settimane circa a seconda della dose) insorgono lesioni, soprattutto all'estremo cefalico e nella parte dorsale della regione faringea, che gradualmente estendendosi portano alla disgregazione dell'animale, salvo casi di recupero, se la dose non era troppo elevata, come già ricordato nella nota<sup>(3)</sup>. Evidentemente l'animale non mostra danno fino al momento in cui si renda necessaria la riparazione fisiologica di tessuti ad opera di neoblasti, e poiché

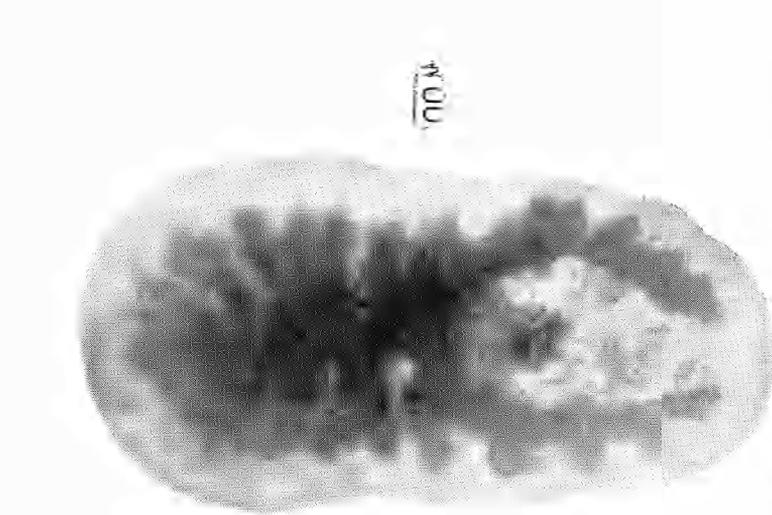


Fig. 2. - Piccola planaria nata da embrione irradiato, col caratteristico aspetto dovuto alla distruzione delle cellule libere del parenchima.

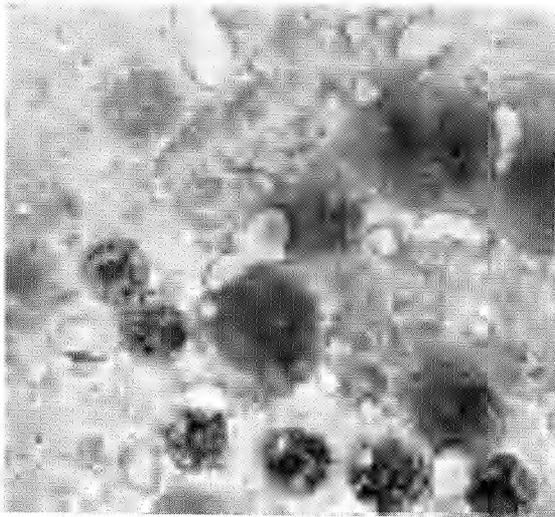


Fig. 1. - Porzione di embrione sferico morto, schiacciato e colorato in carminio acetico: blastomeri a cipolla e nuclei di cellule vitelline.



questi sono stati completamente distrutti dalle radiazioni, la riparazione è impossibile (cfr. pure Wolff 1956, p. 197).

Le esperienze compiute sulle planarie hanno permesso quindi di affrontare proficuamente varie questioni d'ordine citologico ed istogenetico, alcune delle quali suscettibili di ulteriore approfondimento.

Per chiudere questa Nota desidero rilevare come l'influenza dello stadio di sviluppo sulle dosi letali di r.i. sia stata dimostrata da molteplici Autori in varie specie animali, sia vertebrati che invertebrati (ad esempio da Colombo in *Locusta*); si tratta di una nozione di particolare importanza, anche dal punto di vista delle applicazioni mediche, nell'ambito della Radiobiologia.

#### BIBLIOGRAFIA.

- C. R. BARDEEN, and F. H. BAETJER, *The inhibitive action of the roentgen rays on regeneration in planarians*, « J. exp. Zool. », 1, 191-195 (1904).
- M. BENAZZI, *Cariologia di Dugesia lugubris (O. Schmidt) (Tricladida Paludicola)*, « Caryologia », 10, 276-303 (1957).
- G. COLOMBO, *Differente sensibilità ai raggi X in rapporto agli stadi di sviluppo di embrioni di Locusta migratoria migratorioides (R. e F.)*, « Rend. Acc. Naz. Lincei », serie VIII, 26, 583-591 (1959).
- W. C. CURTIS, *Effects of X-rays and radium upon regeneration*, « Biological effects of radiation », 1, 411-457, New York (1936).
- F. DUBOIS, *Contribution à l'étude de la migration des cellules de régénération chez les planaires dulcicoles*, « Bull. Biol. France et Belg. », 83, 213-283 (1949).
- L. GIANFERRARI, *Raggi X, rigenerazione e mortalità nelle planarie (Polycelis nigra - Planaria polychroa)*, « Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. », 4, 915-920 (1929).
- A. SCHAFER, *Experimentelle Untersuchungen über den Einfluss der Radiumstrahlen und der Radiumemanation auf embryonale und regenerative Entwicklungsvorgänge*, « Anat. Anz. », 25, 298-314 und 326-337 (1904).
- F. STÉPHAN-DUBOIS, *Migrations et potentialités histogénétiques des cellules indifférenciées chez les Hydres, les Planaires et les Oligochètes*, « Ann. Biol. », 27, 733-753 (1951).
- ÉT. WOLFF, *Sur l'application de techniques d'irradiations locales (rayons X) aux problèmes de la régénération des invertébrés et des vertébrés*, « Proc. XIV Intern. Congress Zool. », Copenhagen 1953 (1956).
- ÉT. WOLFF et F. DUBOIS, *Sur la migration des cellules de régénération chez les Planaires*, « Rev. Suisse Zool. », 55, 218-227 (1948).