ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

Mario Carfagna

Selezione per la radioresistenza in popolazioni artificiali di Drosophila melanogaster. — I. Dati popolazionistici

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. **34** (1963), n.6, p. 681–684.

Accademia Nazionale dei Lincei

ihttp://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1963_8_34_6_681_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.



Genetica. — Selezione per la radioresistenza in popolazioni artificiali di Drosophila melanogaster. – I. Dati popolazionistici (*). Nota di Mario Carfagna, presentata (**) dal Corrisp. G. Monta-Lenti.

Il problema della capacità o meno degli organismi viventi di adattarsi ad un ambiente in cui la radioattività sia di gran lunga superiore a quella attualmente esistente sulla superficie terrestre, si presenta particolarmente interessante.

Lüning e Jonsson (1) nel 1958 se lo ponevano in forma dubitativa e le loro conclusioni furono negative. La base teorica della loro ricerca era rappresentata dalla diversa mutabilità di isoalleli e dalla possibilità di selezionare i più stabili.

Negli ultimi anni sono andate accumulandosi le segnalazioni di differente radiosensibilità fra ceppi della stessa specie animale (ved. per rassegna Roderick (2)) e fra varietà della stessa specie vegetale (Pershad e Bowen (3)).

I primi esperimenti di selezione per radioresistenza sono stati condotti su cellule coltivate *in vitro*. Whitfield e Rixon ⁽⁴⁾, Rhynas e Newcombe ⁽⁵⁾ hanno isolato ceppi radioresistenti da culture di fibroblasti di topo irradiate con raggi X.

Vanno a questo punto segnalati gli interessanti risultati ottenuti da E. Mustacchi dell'Istituto Pasteur che nella 1ª (Rapallo, 1961) e nella 2ª (Bruxelles, 1962) riunione della «Association des Radiobiologistes des Pays de l'Euratom» comunicava di aver indotto radioresistenza nel lievito Saccharomyces cerevisae. Un ceppo selezionato isolando i sopravvissuti al suicidio con P³² si dimostrava successivamente più resistente al trattamento con raggi X che non il ceppo originario.

Kerkis, Lebedjeva e Osetrova ⁽⁶⁾, con una ricerca pubblicata di recente, hanno dimostrato che culture *in vitro* di fibroblasti presentano differente radiosensibilità (misurata con il numero di traslocazioni cromosomiche) a seconda della specie di appartenenza. Il dato interessante è che la differenza della

- (*) Layoro eseguito presso gli Istituti di Biologia Generale e Genetica della Università di Napoli e di Genetica dell'Università di Roma con il contributo del Comitato Nazionale per l'Energia Nucleare.
 - (**) Nella seduta del 13 giugno 1963.
 - (1) K. G. LÜNING e STEN JONSSON, «Radiation Research», 8, 181-186 (1958).
 - (2) THOMAS H. RODERICK, «Genetics», 48, 205-216 (1963).
 - (3) GURU D. PERSHAD e C. C. BOWEN, «The J. of Heredity», 52, 67-72 (1961).
 - (4) J. F. WHITFIELD e R. H. RIXON, « Exptl. Cell Res. », 19, 531-538 (1960).
 - (5) P. O. W. Rhynas e H. B. Newcombe, « Exptl. Cell Res. », 21, 326-331 (1960).
- (6) I. I. KERKIS, L. I. LEBEDJEVA e T. D. OSETROVA, «Dokl. Ak. Nauk.», 5, 1165–1167 (1962).

radiosensibilità fra le specie, misurata sulle cellule *in vitro*, corrisponde sufficientemente a quella riscontrata per l'organismo *in toto*.

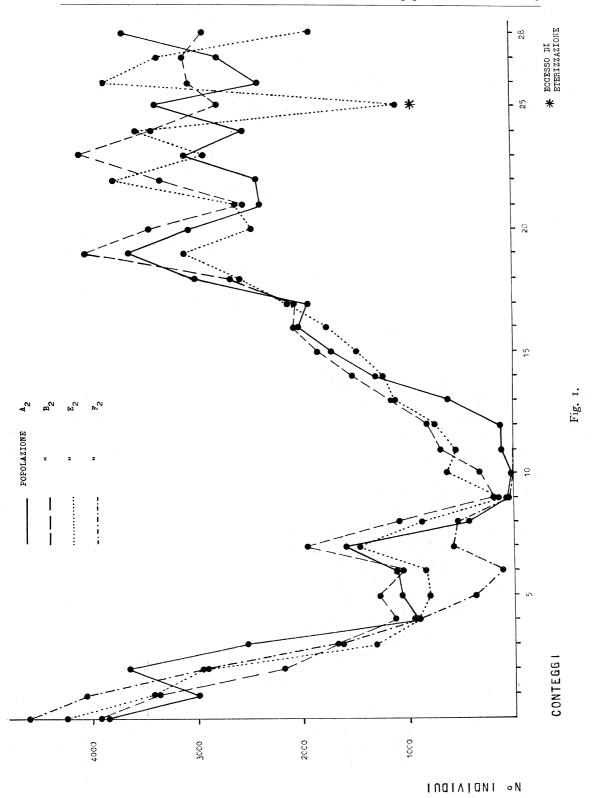
Gli importanti risultati delle ricerche su ricordate concorrono tutti ad indicare che il carattere «radioresistenza» è geneticamente controllato, che individui appartenenti alla stessa specie presentano per esso variabilità di natura genetica e che pertanto, come logica conclusione, un programma di selezione può essere sperimentalmente affrontato.

Il recentissimo lavoro di Roderick (loc. cit.) rappresenta la prima realizzazione sperimentale di selezione positiva per radioresistenza dell'intero organismo che sia stata pubblicata. Irradiando, nel topo, l'intero organismo con 100 r di raggi X al giorno e selezionando la discendenza per il carattere lunga o breve sopravvivenza della generazione parentale, Roderick è riuscito ad avere, in sole 9 generazioni, una divergenza fra le due linee con una differenza fra le medie di sopravvivenza statisticamente molto significativa. Irradiando con 400 r al giorno, la divergenza fra le due linee di selezione, per breve e per lunga sopravvivenza, è stata meno marcata, ma egualmente significativa. Quindi si è ottenuta selezione positiva per il carattere sopravvivenza scelto come indice di radioresistenza. Il carattere sopravvivenza si è rivelato provvisto di forte correlazione genetica positiva con il carattere peso corporeo. La correlazione positiva fra i due caratteri viene spiegata dalla considerazione che ambedue sono componenti della idoneità biologica e quindi contemporaneamente selezionati.

La mia personale ricerca, tendente a dimostrare la possibilità di selezione per la radioresistenza in $Drosophila\ melanogaster$, è stata iniziata accettando come base teorica provvisoria quella suggerita da Lüning e Jonsson (loc. cit.). Quindi inizialmente il problema è stato affrontato verificando se popolazioni artificiali, per lungo tempo (circa due anni) irradiate con raggi X alla dose di 500 r/generazione, si mostrassero più resistenti, che non popolazioni di controllo, ad un'unica dose acuta. Questi primi dati, tutti negativi e non pubblicati, sono stati raccolti in collaborazione con la dott. A. De Capoa.

Nel marzo 1962 fondavo 4 popolazioni sperimentali derivandole da altre preesistenti e di cui due, la A e la B, mai irradiate, e due, la E e la F che ricevevano la dose di 500 r/generazione dal febbraio 1960. Le quattro nuove popolazioni venivano denominate: A_2 , B_2 , E_2 e F_2 . Il ceppo fondatore di tutte le popolazioni è stato un Oregon–R da molti anni allevato in laboratorio in cultura di « massa » e a suo tempo ricevuto dalla Type Colture Collection of Drosophila di Pavia. Per tutta la durata dell'esperimento le popolazioni sono state allevate in camera termostatica a 19° \pm 1 C. La tecnica di allevamento realizza condizioni di ambiente limitato, continuamente rinnovato (Buzzati–Traverso $^{(7)}$). Venivano eseguiti due travasi per settimana; ad ogni travaso l'intera massa della popolazione veniva irradiata in una sola

⁽⁷⁾ A. A. BUZZATI-TRAVERSO, «Mem. Ist. Ital. Idrobiol. Marco de Marchi», 3, 67–86 (1947).



volta con un apparecchio Gilardoni a raggi X molli alla dose di 15 Kr. Condizioni d'irradiamento: $60~{\rm KV}$, $5~{\rm mA}$, filtro $0.5~{\rm mm}$ di Al, distanza di $2.7~{\rm cm}$, potenza della dose = $1000~r/{\rm min}$. La qualità delle radiazioni corrisponde ad un SEV di $0.8~{\rm mm}$ di Al. L'irradiamento veniva iniziato allorché le popolazioni raggiungevano il massimo affollamento consentito dall'ambiente, cioè ad equilibrio numerico oscillante intorno ai $4000~{\rm individui}$, e veniva protratto per tutta la durata dell'esperimento. Ogni 14 giorni, cioè ogni 4 travasi, si prendeva nota del numero totale di individui componenti ciascuna popolazione. Si ottennero le frequenze numeriche indicate nel grafico.

Come si rileva, l'andamento delle curve è simile per le 4 popolazioni e nessuna differenza risulta fra A_2 e B_2 da una parte e E_2 e F_2 dall'altra. La diminuzione del numero di individui è stata rapida per i primi 4 conteggi; ad essa seguiva una stabilizzazione momentanea fino al 7° . Le popolazioni hanno raggiunto il livello numerico più basso al 9° –10° conteggio. Rispettivamente: 8, 232, 214 e 10 individui. La F_2 subito dopo si estingueva. Da quel momento, sempre continuando l'irradiamento alla stessa dose e con le stesse modalità, le tre popolazioni superstiti aumentavano sempre più il loro numero di individui fino a raggiungere il livello di partenza al 19° conteggio. Da allora e fino al 28° conteggio, che è stato l'ultimo effettuato, le popolazioni hanno presentato oscillazioni numeriche di poca entità e si può ritenere che esse abbiano raggiunto il *plateau* di equilibrio.

Si può pertanto affermare che nelle tre popolazioni si sia selezionato positivamente un genotipo radioresistente, o più radioresistente, di quello posseduto dagli individui che inizialmente le componevano. È presumibile infatti che il ceppo studiato sia stato preadattato, cioè esso già possedeva mutazioni per la radioresistenza che sono state selezionate nel corso dell'esperimento. La pressione selettiva esercitata è stata molto forte. L'irradiamento con 15 Kr di 114 coppie giovani estratte dalla popolazione E, da cui, come si è detto è stata fondata la E2, le ha tutte sterilizzate. Bisogna però ammettere che, per l'irradiamento della intera massa della popolazione in una sola volta e per la poca durezza dei raggi X impiegati, non tutte le drosofile abbiano ricevuto la intera dose erogata di 15 Kr. Comunque la uniformità nel tempo della metodica d'irradiamento e la considerazione che quando gli individui componenti una popolazione erano molto pochi tutti hanno ricevuto la stessa più elevata dose, fanno escludere che l'andamento numerico espresso dal grafico non abbia una sua realtà obbiettiva.

Si è quindi ottenuta una maggiore radioresistenza che è espressa, a livello fenotipico, da una minore sensibilità delle popolazioni all'azione sterilizzante di una dose acuta di raggi X. Infatti esperimenti preliminari tuttora in corso indicano che coppie estratte dalle popolazioni selezionate e irradiate con un'unica dose acuta danno più numerosa progenie che non coppie estratte da popolazioni di controllo.

Le future ricerche tenderanno appunto a meglio chiarire quali componenti della idoneità biologica siano i responsabili della radioresistenza nel materiale in esame e quale sia la base genetica di questo carattere.