

Ernesto P e s c e

**Effetti delle radiazioni α sulla germinabilità dei semi
e sullo sviluppo di plantule di *Lycopersicum
esculentum* Mill.**

INTRODUZIONE

Le radiazioni di natura corpuscolare quali le particelle α e β , i neutroni veloci e lenti, quelle di natura elettromagnetica quali i raggi X e γ , interagendo colle particelle biologiche elementari, costituenti la materia vivente, sono capaci di produrre in esse profonde modificazioni; particolarmente notevoli sono i fenomeni, noti sotto il nome di mutazioni, che tali radiazioni possono provocare a carico del patrimonio genetico delle cellule viventi.

Scopo del presente lavoro è appunto quello di indagare sugli effetti che le radiazioni α emesse da un sale di Uranio, l'acetato di uranile, provocano su semi quiescenti di *Lycopersicum esculentum* Mill. e su plantule della stessa specie, nelle prime fasi del loro sviluppo. Inoltre si è voluto distinguere quanta parte espletasse un eventuale effetto fitotossico del sale di Uranio ai danni dell'embrione ancora quiescente rispetto ai fenomeni dovuti agli effetti ionizzanti delle particelle α , emesse dall'Uranio, nei riguardi dell'embrione stesso.

MATERIALE E TECNICA

Tre lotti di semi di *Lycopersicum esculentum* Mill. cv. « Corbara », sono stati immersi per 12, 24 e 48 ore in una soluzione di acetato di uranile avente una concentrazione di 2 mg./ml. ed una radioattività di 0,66 microcurie per litro.

Altrettanti lotti di semi sono stati tenuti, per le stesse durate di tempo, in acqua distillata. Questi semi avevano la funzione di controllo rispetto a quelli tenuti nella soluzione radioattiva.

Trascorso il tempo prestabilito, i semi irradiati sono stati lavati, per circa 6 ore, con acqua corrente, in modo da essere certi che sia stata eliminata da essi ogni traccia della soluzione radioattiva. Anche i semi di controllo sono stati tenuti, per lo stesso tempo, in acqua di fonte corrente.

La germinazione di entrambi i lotti di semi è stata fatta avvenire in scatole Petri sul cui fondo è stato posto un doppio strato di carta da filtro imbevuta di H₂O fontis. Per ciascun tempo di trattamento sono state allestite 4 replicazioni, ciascuna di 25 semi. La germinazione è stata fatta avvenire in condizioni controllate, in termostato munito di finestra di vetro e regolato alla temperatura di 25°C.

Controlli quotidiani della germinazione sono stati effettuati per la durata di 8 giorni, in pratica, fino a quando circa il 100% dei semi di controllo erano germinati.

Dopo l'ultimo rilevamento, è stata misurata la lunghezza di 5 germinelli presi a caso da ciascuna replicazione. Le medie di tali misure sono state confrontate col metodo dell'analisi della varianza in un blocco randomizzato.

Contemporaneamente è stato effettuato un ulteriore controllo degli effetti della radioattività sullo sviluppo delle plantule.

Due cristallizzatori del diametro di 25 cm. e della profondità di 10 cm. sono stati riempiti di « agriperlite » imbevuta di acqua di fonte; sullo strato superiore di tale sostanza è stato messo un foglietto di carta da filtro sulla cui superficie sono stati disposti i semi, a cerchi concentrici, alla stessa distanza

gli uni dagli altri. I semi, così preparati, sono stati posti a germinare in termostato a 25°C.

Frattanto è stata preparata una soluzione satura di acetato di uranile facendo sciogliere la sostanza in acqua distillata portata alla temperatura di ebollizione. Una parte di tale soluzione, previamente filtrata a temperatura ambiente, è stata diluita della metà con acqua distillata.

Sia la soluzione satura che quella semisatura sono state versate su dischetti di carta da filtro del diametro di cm. 11,5 e fatte evaporare in cristallizzatore su cloruro di calcio secco.

L'attività dei dischetti di carta è stata misurata mediante un contatore decimale d'impulsi in regime di Geiger; le caratteristiche del contatore usato sono le seguenti: spegnimento ad alogeno, pianerottolo della lunghezza media di 250 V, tempo morto max. 125 μ sec., spessore della finestra di mica 1,5-2 mg/cm².

L'attività rilevata, corretta del fondo e del tempo morto del contatore, è stata poi riferita all'unità di superficie del dischetto. I dati del conteggio, riportati nella tabella I, rappresentano la media di 5 rilevamenti al contatore.

TABELLA I

Max. (sol.satura)	208 \pm 3
Min. (sol.semisat.)	73 \pm 0,7

Radioattività in C.P.M. riferita ad 1 cm² dei dischetti di carta.

I dischetti di carta sono stati incollati su di una lastra di vetro che è stata posta sui semi, alla distanza di cm. 1 da essi appena questi avevano iniziato la germinazione.

Allo scopo di fugare ogni dubbio sulla possibilità di una contaminazione diretta dei germinelli, è stata stabilita nel termostato una corrente ascensionale di aria capace di eliminare

i vapori che eventualmente si fossero sviluppati dalla sostanza radioattiva.

Le plantule sono state fatte sviluppare, sotto l'azione cronica della radioattività, per 8 giorni.

RISULTATI SPERIMENTALI

La germinabilità dei semi trattati coll'acetato di uranile, rispetto a quelli non trattati, viene messa a confronto nei grafici delle figg. 1, 2 e 3.

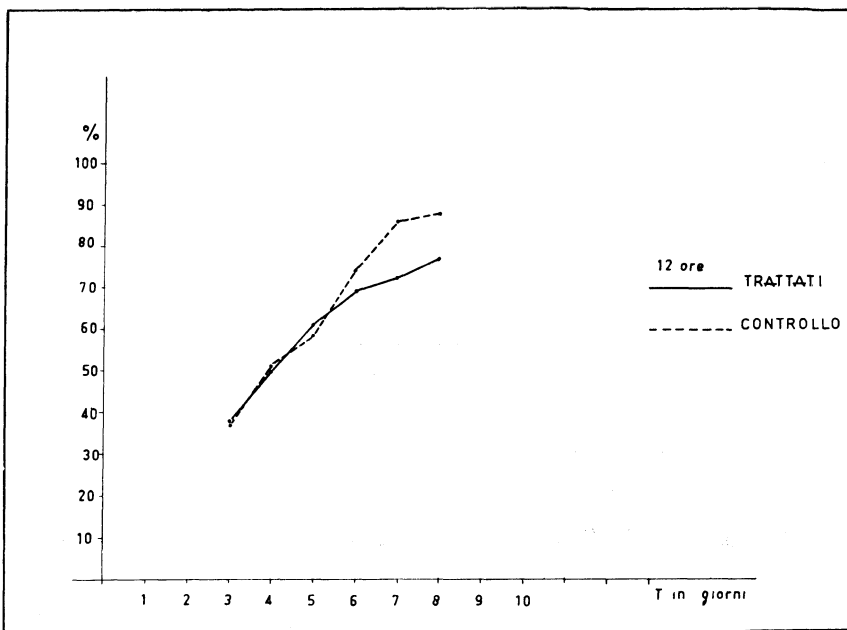


Fig. 1 — Grafico mostrandente l'andamento della germinabilità di semi di *Lycopodium esculentum* Mill. trattati per 12 ore con acetato di uranile rispetto a quelli trattati, per lo stesso tempo, con acqua distillata.

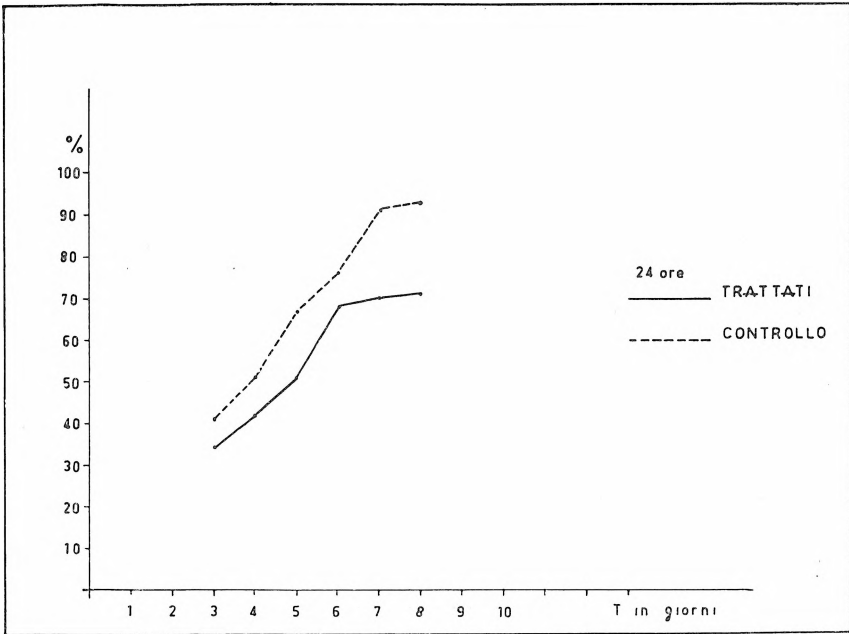


Fig. 2 — Come nella fig. 1, per semi trattati per 24 ore.

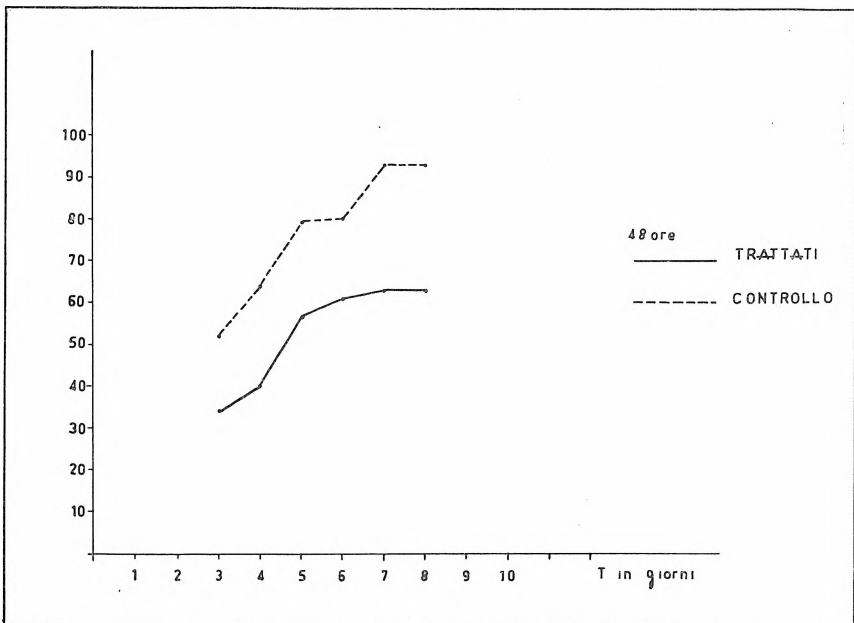


Fig. 3 — Come nella fig. 1 e 2, per semi trattati per 48 ore.

Si può notare dal grafico della fig. 1 che, per i primi 3 giorni, i semi trattati per 12 ore presentano la stessa percentuale di germinazione rispetto a quelli tenuti in acqua per lo stesso tempo, ma che successivamente, la percentuale di germinazione dei semi non trattati cresce più rapidamente, pur senza discostarsi di molto, rispetto a quelli trattati.

Una più spiccata differenza si nota (fig. 2) nella percentuale di germinazione dei semi trattati per 24 ore col sale di Uranio rispetto a quelli di controllo, fin dai primi giorni; questa differenza aumenta notevolmente nei giorni successivi, fino ad assumere un valore maggiore del 20%.

Il confronto fra i valori percentuali di germinabilità dei semi trattati per 48 ore, rispetto a quelli di controllo, (fig. 3) dimostra che esiste una notevole differenza fra i rispettivi va-

TABELLA II

Trattamenti	R 1	R 2	R 3	R 4	Somma	Media
I 12	42,6	44,0	53,1	41,6	181,30	45,32
I 24	35,2	38,2	39,6	47,4	160,40	40,10
I 48	33,6	37,0	27,4	36,8	134,80	33,70
C 12	60,4	50,8	58,6	54,4	224,20	56,05
C 24	57,8	55,2	58,6	60,0	231,60	57,90
C 48	66,6	54,6	58,6	58,0	237,80	59,45
Totali	296,2	279,8	295,9	298,2	1170,10	

D.M.S. 1% = 9,63
5% = 7,02

C = controllo
I = irradiati

Misure medie in mm. di 5 plantule prese a caso da ciascuna replicazione di ogni trattamento e del controllo.

lori riportati sulle due curve, differenza che raggiunge un valore finale maggiore del 30%.

L'andamento qualitativo delle curve di germinabilità dei semi trattati a tempi diversi colla sostanza radioattiva, così come quelle dei semi di controllo, è essenzialmente analogo.

Nella tabella II sono riportate le misure medie, in mm., di 5 plantule, prese a caso, da ciascuna delle replicazioni effettuate. Tali medie sono state confrontate col metodo dell'analisi della varianza in un blocco randomizzato.

Una differenza altamente significativa si rende evidente fra le misure medie dei germinelli nati da semi trattati colla soluzione radioattiva e quelli nati da semi tenuti in acqua per la stessa durata di tempo.

Un confronto diretto fra i diversi trattamenti mostra che non vi è differenza significativa fra lo sviluppo delle plantule nate da semi trattati per 12 ore rispetto a quelle i cui semi sono stati trattati per 24 ore col sale di Uranio. Esiste ed è altamente significativa la differenza fra queste ultime e quelle i cui semi hanno subito il trattamento ionizzante per 48 ore.

Nessuna differenza, statisticamente rilevabile, esiste fra le misure medie delle plantule i cui semi sono stati tenuti in acqua distillata per i tre periodi di tempo.

Lo sviluppo delle giovani plantule, sottoposte alla radioattività prodotta dalla sostanza applicata sui dischetti di carta, è stato influenzato in maniera palese: tutti i germinelli che si trovavano nella zona sottostante la fonte di radioattività hanno mostrato fenomeni anormali e degenerativi a carico dei diversi organi. Le radichette primarie hanno arrestato o rallentato fortemente il loro sviluppo, mentre radichette secondarie si sono precocemente formate lateralmente alla primaria deturgescente; la zona pilifera si è scarsamente formata.

Il fusticino si è scarsamente allungato mentre i cotiledoni, ove siano riusciti a districarsi dal tegumeno seminale, mostrano tutti chiari sintomi di sofferenza: atrofici ed arricciati, si nota in essi una deficienza di formazione di clorofilla.

Tutte le plantule, che si trovavano nella zona immediatamente circostante i dischetti resi radioattivi, mostrano sintomi di sofferenza più o meno spiccati. Mano a mano che si allontana dalla zona radioattiva si può notare che le plantule si sviluppano normalmente.

I fenomeni sopra descritti si sono verificati sia per le plantule sottoposte all'azione dei dischetti imbevuti della soluzione satura sia per quelle sottoposte ai dischi imbevuti della soluzione semi-satura. Le fotografie riportate nel testo mostrano visivamente quanto è stato asserito.

DISCUSSIONE

E' noto che la disintegrazione degli isotopi dell'Uranio produce l'emissione di particelle α , per l'ammontare dell'88% circa aventi una energia di 4,18Mev.; la residua parte di radioattività riguarda l'emissione di particelle β e γ di diverso potere energetico.

L'azione densamente ionizzante delle particelle α emesse da varie sorgenti quali il Polonio, l'Uranio, il Nettunio sulle molecole dell'acqua è stata messa in evidenza da numerosi Autori (ALLEN e coll. 1948, 1952 a, 1952 b; HART 1954; DAINTON e coll. 1953; DEWHURST e coll. 1955). Essi hanno attribuito all'azione di queste particelle, dotate di una doppia carica positiva, la decomposizione dell'acqua in ioni OH^- ed H^+ ed inoltre la formazione in essa di H_2O_2 , O_2 ed H_2 . Anche i primi ricercatori che si occuparono delle radiazioni α (CAMERON e RAMSAY 1908) notarono che il numero di molecole di acqua decomposte in O_2 e H_2 gassosi è dello stesso ordine del numero di ioni prodotti nell'aria dalle medesime quantità di tali particelle ionizzanti.

Le ricerche condotte da WEISS (1944) hanno stabilito che l'acqua, « attivata » mediante diluizione in essa di piccole quantità di sostanze radioattive, contiene frammenti molecolari o radicali liberi risultanti dalla frammentazione delle molecole dell'acqua.

Le radiazioni corpuscolari α e i neutroni, quelle di natura elettromagnetica provocano nell'acqua fenomeni analoghi di de-

composizione (DEBIERNE 1914; RISSE 1929; BUZZATI-TRAVERSO e CAVALLI 1948; ALLEN 1961).

L'azione che queste particelle possono esercitare sul corredo cromosomico delle cellule, sia per azione diretta, sia per azione secondaria delle particelle ionizzate o non da esse formate nell'aria o nell'acqua, non può essere ovviamente trascurabile (GUSTAFFSON et al. 1950; EHRENBERG 1954; CAVALLORO 1960; CAVALLORO 1961).

Tuttavia, altri Autori hanno attribuito una grande importanza all'azione fitotossica dei sali di Uranio, quando questi agiscono direttamente sulle giovani plantule. FAVILLI, 1946; PASINETTI e coll. 1959 a, 1959 b).

Lo scopo del presente lavoro è appunto quello di distinguere quanta parte abbia l'azione fitotossica e quanta quella ionizzante su semi quiescenti e su plantule nella primissima fase di sviluppo.

Il confronto fra i risultati ottenuti facendo agire direttamente il sale di Uranio, in soluzione, sui semi (sale che è stato poi allontanato mediante prolungato lavaggio) e quelli ottenuti facendo agire solo i prodotti di fissione dell'Uranio sulle giovani piante sembrerebbe confermare l'importante ruolo assunto dai fenomeni ionizzanti sul materiale in esame. L'azione fitotossica dell'acetato di uranile sui semi quiescenti ha avuto, nel nostro caso, una durata limitata al solo tempo durante il quale i semi sono stati a contatto con esso. Una volta allontanato il sale, mediante lavaggio, nessun effetto tossico residuo nel tempo avrebbe ragione di esistere; resterebbe invece l'effetto mutagenico che la parte radioattiva di esso avrebbe provocato sul corredo cromosomico e somatico delle cellule dell'embrione.

Risultati analoghi sono stati ottenuti da KOUZINE (1956) mediante immersione in soluzioni di prodotti di fissione dell'Uranio, estratti dalla pila atomica, di semi quiescenti di varie specie e dall'Autore del presente lavoro che sperimentò sull'effetto dell'immersione di semi quiescenti di *Nicotiana tabacum* L. in soluzione di acetato di Uranile (PESCE 1960).

Ulteriori prove sperimentali sono necessarie in questo

campo di ricerche con radiazioni α . Sono appunto in corso altri esperimenti tendenti a dimostrare alterazioni citologiche e carologiche nelle plantule sottoposte a trattamento radioattivo da parte dell'Autore della presente nota, ricerche che saranno oggetto di pubblicazione in un non lontano futuro.

R I A S S U N T O

Semi quiescenti di *Lycopersicum esculentum* Mill. sono stati tenuti immersi, per tempi vari, in una soluzione radioattiva, α emettitrice, di acetato di uranile. Dopo aver allontanato il sale, mediante prolungato lavaggio, i semi sono stati fatti germinare. I semi irradiati hanno mostrato minore germinabilità rispetto a quelli di controllo; le plantule nate da semi irradiati mostravano uno sviluppo minore di quelle nate da semi di controllo.

Sono state inoltre irradiate, usando come sorgente di radioattività dischetti di carta da filtro imbevuti dello stesso sale di Uranio, plantule nelle primissime fasi di crescita; tutti i germinelli sottoposti alla azione diretta della radioattività hanno mostrato gravi sintomi di sofferenza.

I risultati sperimentali vengono discussi allo scopo di accertare se e in quanta parte un'azione fitotossica possa essere espletata dall'acetato di uranile sul materiale in esame.

R É S U M É

Des grains de *Lycopersicum esculentum* Mill. ont été tenues plongées dans une solution radio-active de acetate d'uranyle pendant des temps variés. Après avoir enlevé le sel, par un lavage prolongé, on a fait germer les semences. Les grains irradiées ont montrées une moindre puissance germinative en comparaison de celles de contrôle; le petis plantes nées des semences irradiées montraient un moindre accroissement que celles nées de semences de contrôle.

En outre on a irradié, employant comme source de radio-activité des petits disques de papier filtre imbibés du même sel d'Uranium, des petites plantes dans les première phases de croissance. Tous les bourgeons soumis à l'action directe de la radio-activité ont montré des graves symptômes de souffrance.

Les résultat expérimentels sont discutés dans le but de vérifier si et en quelle mesure une action phytotossique puisse être exécutée par l'acetate d'uranyle sur le materiel en examen.

S U M M A R Y

Resting seeds of *Lycopersicum esculentum* Mill. have been treated with a α emitter solution of uranyl acetate for a time varying between 12 and 48 hours. Seeds have been washed for a very long time in order to take off the salt; they have germinated in petri dishes. A delay of germination and a less growth of irradiated seedlings, with respect to controls are pointed out.

Have been also irradiated seedlings during the first time of growth, using, as a radiation source, little disks of filter paper soaked with the same salt of Uranium. All seedlings grown under the action of the radioactivity have manifested strong symptoms of suffering.

Experimental results have been discussed in order to ascertain whether a toxic action can be executed by the uranyl acetate on the growth of seeds.

NOTA BIBLIOGRAFICA

- ALLEN, A. O. - J. Phy. Chem. **52**: 479. 1948.
- ALLEN, A. O.; HOCHANADEL, C. J., GHORMELEY, J. A.; DAVIS, T. W. - J. Phy. Chem. **56**: 575. 1952.
- ALLEN, A. O. - Disc. Farad. Soc. **12**: 79. 1952.
- ALLEN, A. O. - Rad. Res. **1**: 85. 1954.
- ALLEN, A. O. - *The Radiation Chemistry of Water and Aqueous Solutions*. D. van Norstrand comp. Inc. 1961.
- ALLEN, A. O. - *Action chimique et biologique des radiations*. Masson & Cie Ed. Paris 1961.
- BUZZATI-TRAVERSO, A. e CAVALLI, L. L. - *Teoria dell'urto e particelle biologiche elementari*. Longanesi. 1948.
- CAMERON, A. T. e RAMSAY, W. - J. Chem. Soc. **93**: 992. 1908.
- CAVALLORO, R. - Il Tabacco. **64**: 1. 1961 a.
- CAVALLORO, R. - *Convegno sulle Applicazioni dell'Energia Nucleare in Agricoltura*. Novara. 1961 b.
- DEBIERNE, A. - Ann. Physique. **2**: 119. 1914.
- FRICKE, H. - Phys. Rev. **31**: 1117. 1928.
- FRICKE, H. e MORSE, S. - Phil. Mag. **7**: 129. 1929.
- FRICKE, H., HART, E. I., SMITH, H. P. - J. Chem. Phys. **6**: 229. 1938.

- HART, E. I. - Rad. Res. **1**: 53. 1954.
KOUZINE, A. M. - *Actes de la Conf. Int. sur l'utilistion de l'énergie atomique a des fins pacifiques*. Vol. XI: 167. 1956.
PESCE, E. - Depinoa n. s. **2**: 25. 1960.
RISSE, O. - Strahlernterapie. **34**: 578. 1929.
SCARASCIA, G. T. - Il Tabacco. **61**: 3. 1958.
WEISS, J. - *Nature*. **153**: 749. 1944.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE

TAVOLA I

Fig. 1 — Dall'alto in basso: a sinistra, plantule di *Lycopersicum esculentum* Mill. nate da semi trattati con acetato di uranile, rispettivamente per 12, 24 e 48 ore; a destra, plantule nate da semi trattati, per gli stessi tempi, con acqua distillata.

TAVOLA II

Fig. 1 — Plantule di *Lycopersicum esculentum* Mill. sottoposte alle radiazioni emesse dai dischetti di carta da filtro imbevuti di acetato di uranile.

Fig. 2 — Fila di plantule prelevate lungo il diametro maggiore del cristallizzatore in fig. 1.

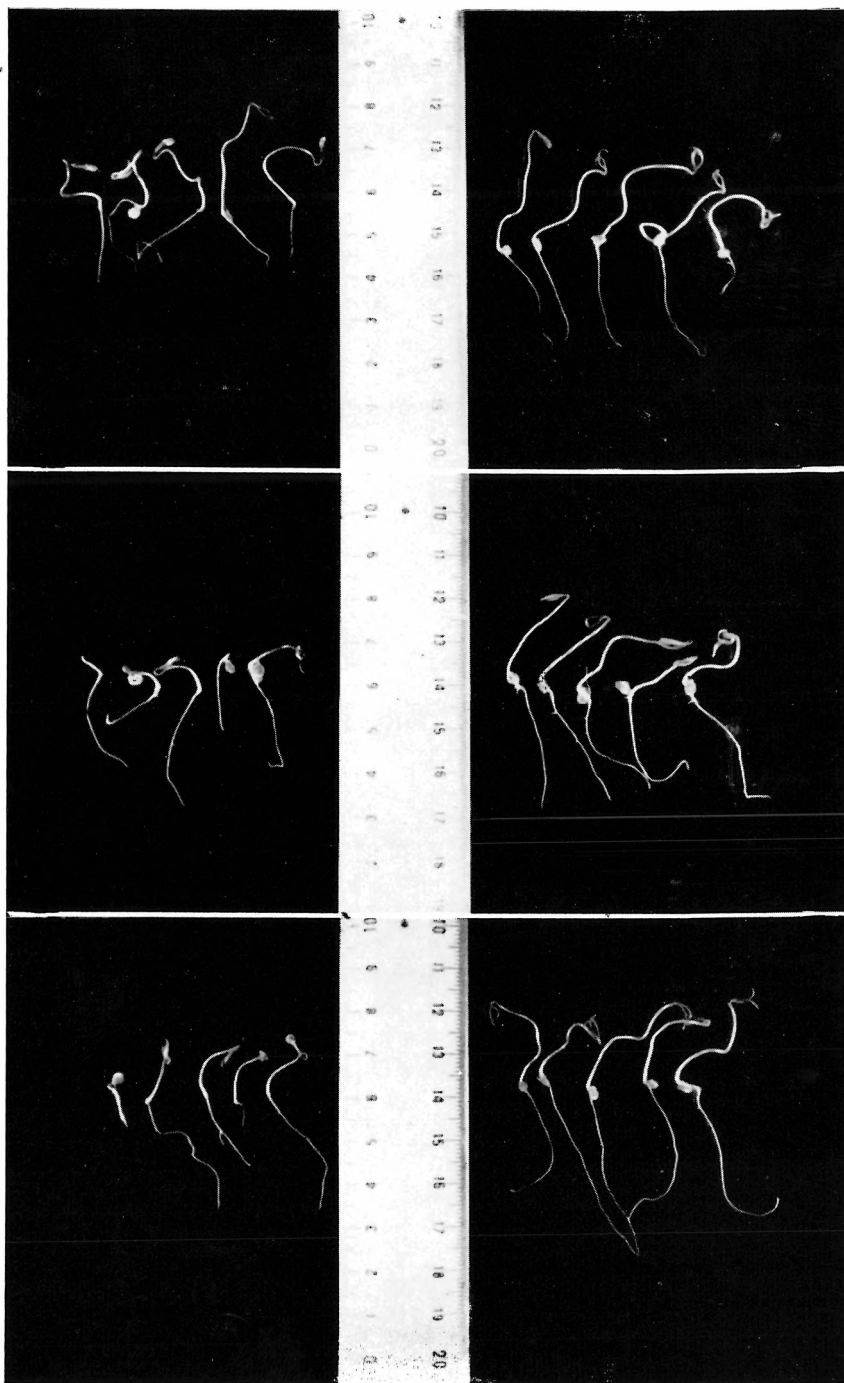


FIG. 1

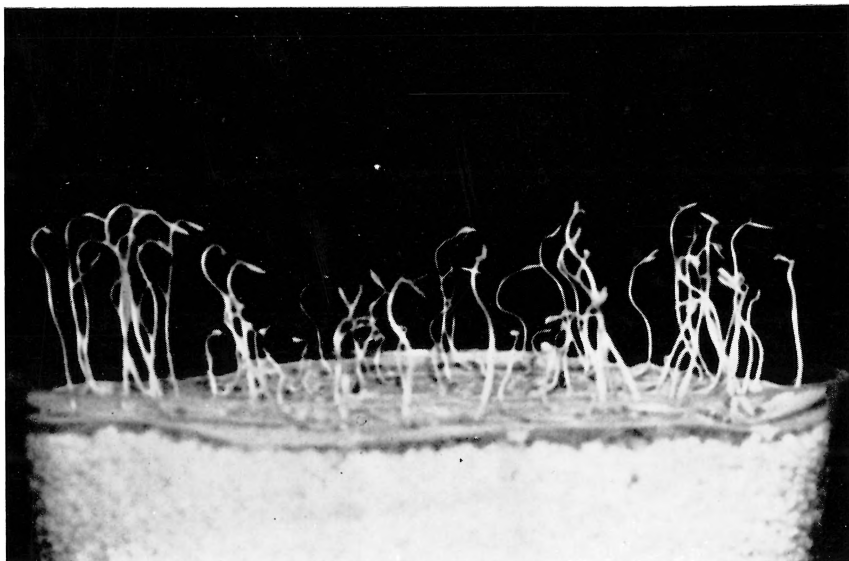


FIG. 1

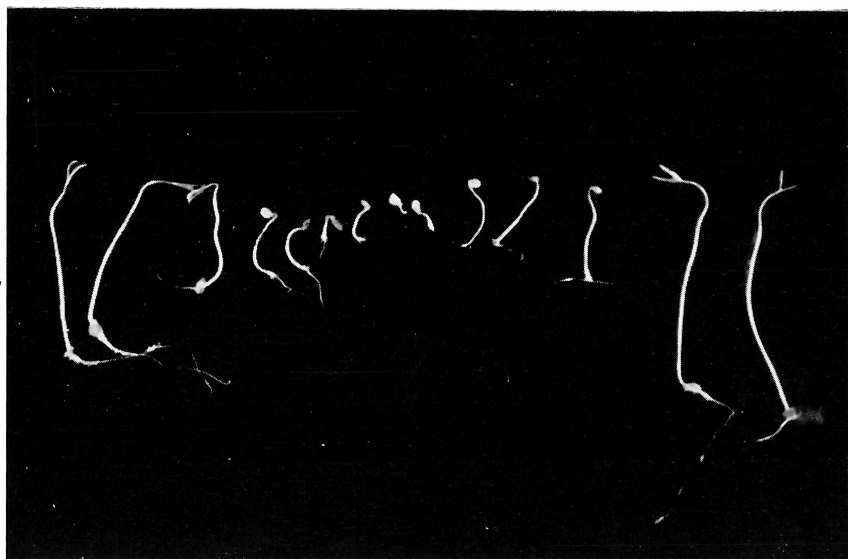


FIG. 2

