



SY0000773

SYRIAN ARAB REPUBLIC  
ATOMIC ENERGY COMMISSION ( AEC5 )  
DAMASCUS, P.O. BOX 6091



FINAL REPORT ON SCIENTIFIC RESEARCH  
DEPARTMENT OF AGRICULTURE

INVESTIGATING PHYSIOLOGICAL METHODS TO DETERMINE  
PREVIOUS EXPOSURE OF IMMATURE INSECTS TO IONIZING  
RADIATION AND ESTIMATING THE EXPOSURE DOSE

DR.M.MANSOUR

AECS - A \ FRSR 173

OCTOBER 1998



الجمهورية العربية السورية  
هيئة الطاقة الذرية

---

قسم الزراعة

البحث عن طرائق فيزيولوجية للكشف عن سبق  
تعرض يرقات الحشرات للأشعة المؤينة

الدكتور محمد منصور

تشرين الأول ١٩٩٨

هـ ط ذ س - ز / ت ن ب ع ١٧٣

---

حقوق النشر:

يسمح بالنسخ والنقل عن هذه المادة العلمية للاستخدام الشخصي بشرط الإشارة إلى المرجع ، أما النسخ والنقل لأهداف تجارية فغير مسموح بهما إلا بموافقة خطية مسبقة من إدارة الهيئة .

## جدول المحتويات

رقم الصفحة	المحتويات
3	المخلص
4	المقدمة
7	المواد والطرائق المستخدمة
9	النتائج
18	المناقشة
20	المراجع
23	شكر
24	المخلص بالانكليزي

## الخلاصة

دُرس تأثير أشعة غاما على قدرة يرقات فراشة ثمار التفاح *Cydia pomonella* I. فى الوصول إلى طور العذراء والحشرة الكاملة، وعلى نشاط أنزيم الفينول أوكسيداز فى اليرقات، بعد قتلها بالتجميد. بينت نتائج الدراسة أن جرعة 50 غرى خفضت بشكل معنوى نسبة تحول اليرقات إلى عذارى وحشرات كاملة، كما حالت جرعة 200 غرى دون وصول اليرقات إلى فراشات. أظهرت النتائج أيضاً أن اليرقات الساكنة أكثر حساسية للأشعة المؤينة من اليرقات غير الساكنة والاناث أكثر حساسية للأشعة المؤينة من الذكور. قيس نشاط أنزيم الفينول أوكسيداز باستعمال جهاز قياس الطيف الضوئى (Spectrophotometer) وذلك بقياس الزيادة فى الكثافة الضوئية عند موجة 490 نانوميتر، أو بملاحظة درجة تلون اليرقات باللون الأسود، بعد قتلها بالتجميد ثم وضعها فى درجة حرارة الغرفة. بينت النتائج أن الأنزيم يبدأ نشاطه فى اليرقات غير المعاملة بالأشعة بعمر أسبوع، ويستمر هذا النشاط بالتزايد طوال طور اليرقة، غير أن هذه الزيادة فى نشاط الأنزيم لم تلاحظ فى اليرقات التى عرضت لجرعة لاتقل عن 50 غرى خلال الأسبوع الأول من عمرها. غير أن تشيع اليرقات بعد تزايد نشاط الأنزيم فيها (بعمر 2-3 أسابيع) لم يؤد إلى وقف نشاط الأنزيم، ولكنه أثر على معدل زيادته. كما جاءت نتائج اختبار تلون اليرقات باللون الأسود متوافقة، بشكل عام، مع نتائج مقايسة أنزيم الفينول أوكسيداز.

## المقدمة

استرعت فكرة استعمال الأشعة المؤينة لأغراض الحجر الزراعى، ومكافحة الآفات فى المنتجات الزراعية، اهتمام العلماء منذ زمن بعيد، فقد درس Murgan و Runner فى بداية القرن الحالى امكانية مكافحة خنفساء التبغ *Lasioderma serricornis* (F.) فى علب السجاير باستخدام أشعة x (Murgan and Runner, 1913). كما اقترح Koidsumi عام 1930 فى جزيرة تايوان (Koidsumi, 1930) استخدام أشعة x لمعاملة ثمار الفاكهة التى تصدرها الجزيرة إلى البلدان التى تخضع فيها ذبابة الفاكهة للحجر الزراعى. اقترح (Balock et al., 1963;1966) أيضاً فى جزيرة هاواى استخدام أشعة غاما لمعاملة ثمار الفاكهة المصابة بأنواع ذباب الفاكهة، قبل تصديرها إلى الولايات المتحدة الأمريكية. ونُصح باستعمال الأشعة المؤينة لمعاملة المواد الزراعية المصابة بذبابة الفاكهة الأسترالية *Bactrocera tryoni* (F.) قبل تصديرها إلى البلدان التى تخلص من هذه الآفة (Macfarlane, 1966; Shipp and Osborn, 1968; Eric et al. 1970). وقد وافقت الولايات المتحدة الأمريكية على معاملة ثمار البابايا، المستوردة من جزيرة هاواى، بالأشعة المؤينة كوسيلة للقضاء على أنواع ذبابة الفاكهة التى يمكن أن توجد فى هذه الثمار، والتى تخضع لإجراءات الحجر الزراعى فى الولايات المتحدة (Anonymous. 1989).

تعتبر فراشة ثمار التفاح *Cydia pomonella* L. من أهم حشرات التفاحيات فى العالم، إذ تتغذى يرقاتها على ثمار التفاح والإجاص والسفرجل والجوز، بشكل خاص، والعديد من ثمار الفاكهة الأخرى، بشكل عام، وتسبب لها سنوياً خسائر إقتصادية فادحة. كما تخضع هذه الحشرة فى بعض بقاع العالم مثل اليابان وكوريا وتايوان وأجزاء من الصين لقوانين الحجر الزراعى (Shel'deshova, 1967)، مما يؤدى إلى صعوبة تصدير بعض أنواع الثمار إلى مثل هذه الدول، لتفادى دخول هذه الحشرة إليها.

تقضى فراشة ثمار التفاح الشتاء على شكل يرقات ساكنة تحت قلف الأشجار كما يمكن أن توجد فى ثمار الجوز غير المقشورة، ولذلك فمن غير الممكن تصدير الجوز غير المقشور إلى الدول التى لا تنتشر فيها هذه الحشرة. تنتقل بيوض الحشرة ويرقاتها أيضاً على ثمار التفاح والإجاص والسفرجل أو بداخلها، ولذا يصعب تصدير هذه الثمار إلى الدول التى تخضع فيها الحشرة للحجر الزراعى.

استعمل غاز الايثيلين ثنائى البروميد (EDB) لقتل اليرقات فى الثمار المصدرة إلى البلدان التى تخلو من هذه الآفة (Anonymous, 1978)، ولكن التخوف من الآثار المسرطنة والمطفرة والضرارة للبيئة الناتجة من هذا المركب، دعت الولايات المتحدة الامريكية إلى اتخاذ قرار بالتوقف عن استعمال هذا الغاز وحذت حذوها العديد من الدول الاخرى (Anonymous, 1984).

اقترح استعمال الأشعة المؤينة كبديل للتبخير بالغازات السامة لمعاملة المواد الزراعية، لأغراض الحجر الزراعى، واعتمدت جرعة 300 غرى لمعاملة المواد الزراعية لمكافحة أى من أنواع الحشرات (عدا أنواع ذباب الفاكهة) التى يمكن أن تصيب هذه المواد (Anonymous, 1986a). دلت نتائج الدراسات على امكانية استعمال أشعة غاما للقضاء على يرقات فراشة ثمار التفاح، فى الثمار المصابة (Burditt and Muffitt, 1985; Burditt et al., 1985). ولكن السلالات الجغرافية المتباعدة يمكن أن تختلف فى درجة حساسيتها للأشعة المؤينة (Hooper, 1989) مما يستدعى اختبار الحساسية الاشعاعية لهذه السلالات. إضافة إلى ذلك، فإن الجرع الاشعاعية المستعملة لا تؤدى بالضرورة إلى قتل فورى لليرقات المعاملة، إذ يمكن أن تتابع هذه اليرقات نموها لتصل إلى طور العذراء، ولذلك فمن الضروري إيجاد طريقة للتأكد من تعرضها للأشعة المؤينة عند اكتشافها فى أية شحنة زراعية مصدره إلى بلد تخضع فيه هذه الحشرة للحجر الزراعى (Anonymous, 1986b).

أجريت دراسات عدة للتمييز بين الحشرات المشعة وغير المشعة (Rahman et al., 1990, 1992, Jessup et al., 1992) واعتمدت بعض هذه الدراسات (Nation et al., 1995, Mansour and Franz, 1996) على استعمال تأثير أشعة غاما على أنزيم الفينول أوكسيداز (phenoloxidase) فى اليرقات كدليل على سبق تعرضها للأشعة المؤينة. يوجد أنزيم الفينول أوكسيداز فى جميع أنواع الحشرات، ويلعب دوراً هاماً فى إكساب جسم الحشرة قساوته ولونه البنى، عن طريق تحويل مركبات الكينون الحلقية إلى ميلانين (Anderson, 1985). ويشكل جزءاً هاماً من الجهاز الدفاعى للحشرة، ويساهم فى شفاء الجروح، وتلون أنسجة الحشرة باللون البنى فى مكان الجرح (Salt, 1970). درس (Nation et al., 1995) تأثير أشعة غاما على هذا الأنزيم، فى يرقات ذبابة فاكهة البحر الكاريبى *Anastrepha suspensa* (Loew). وعلى تلونها باللون الاسود melanization بعد قتلها بالتجميد، ثم وضعها فى درجة حرارة الغرفة، ووجد أن تعرض البيوض، أو اليرقات الصغيرة، لجرعة 20 غرى خفض بشكل كبير فعالية هذا الأنزيم فى يرقات العمر الثالث، ومنع تلونها باللون الاسود. كما حصل

بأحثون آخرون على نتائج مشابهة عند معاملة يرقات ذبابة فاكهة البحر الابيض المتوسط (*Ceratitis capitata* (Wiedemann) بالأشعة المؤينة (Mansour & Franz, 1996; 1995).

تتطرق هذه الورقة إلى دراسة تأثير أشعة غاما على يرقات فراشة ثمار التفاح الساكنة وغير الساكنة من السلالة المحلية، وعلى أنزيم الفينول أوكسيداز فى يرقات الحشرة وامكانية استعمال هذا التأثير كدليل على سبق تعرض اليرقات للأشعة المؤينة.



## المواد والطرائق المستعملة

### الحشرات المستخدمة

غُذيت اليرقات المستعملة، فى هذه الدراسة، على بيئة صناعية (Brinton et al, 1969) ضمن علب بلاستيكية (15 × 18 × 6 سم)، ووضعت قطع من الكرتون المتعرج على سطح بيئة التربية، لجمع اليرقات مكتملة النمو التى تغادر البيئة للتعذر. وضعت اليرقات غير الساكنة فى درجة حرارة  $28 \pm 2$  م° ورطوبة جوية 40-60% ونوبة ضوئية 8:16 (اضاءة : ظلام)، ويستغرق طور اليرقة فى هذه الظروف حوالى 28 يوماً. أما اليرقات الساكنة فقد وضعت فى درجة حرارة  $26 \pm 2$  م° ونوبة ضوئية 8:16 (اضاءة: ظلام).

### التشعيع

استعمل، فى هذه الدراسة، مصدرين لأشعة غاما (قديم وجديد). بلغ معدل الجرعة للجهاز القديم، عند استعماله، 13.5 غرى/دقيقة، بينما كان معدل الجرعة للجهاز الجديد حوالى 83.3 غرى/دقيقة. استعمل الجهاز القديم فى الاختبارات التى تمت لدراسة تأثير أشعة غاما على قدرة اليرقات على التحول إلى عذارى وحشرات كاملة فى حين استعمل الجهاز الجديد لدراسة تأثير أشعة غاما فى نشاط أنزيم الفينول أوكسيداز فى اليرقات المعاملة.

### تأثير أشعة غاما فى اليرقات

شُععت اليرقات مكتملة النمو فى علب بلاستيكية أسطوانية الشكل (3×6Cm). منطاة بغطاء يسمح بالتبادل الغازى، وبمعدل 50 يرقة لكل جرعة وكررت كل جرعة أربع مرات. اختيرت سلسلة من الجرع الإشعاعية تراوحت بين 50 و250 غرى بفاصل 50 غرى بين الجرعة والأخرى كما تركت مجموعة من اليرقات دون معاملة (شاهد). وضعت اليرقات بعد التشعيع فى درجة حرارة  $28 \pm 2$  م°، وسجل عدد العذارى والحشرات الكاملة الناتجة.

### تأثير أشعة غاما فى نشاط أنزيم الفينول أوكسيداز

عُرِضت يرقات الحشرة، بأعمار معينة، لأشعة غاما، وهى داخل بيئة التربية ضمن أكياس بلاستيكية، ثم أعيدت اليرقات بعد التشعيع إلى غرفة التربية، وقتلت بالتجميد عند وصولها إلى العمر المناسب. استعملت جرع إشعاعية بين 25 و 100

غرى بفاصل 25 غرى بين الجرعة والاخرى، كما تركت مجموعة من الحشرات دون معاملة (شاهد).

#### مقايسة أنزيم الفينول أوكسيداز

سُحقت اليرقات، كل على حدة، فى 150 ميكرو ليتر، من محلول فوسفاتى واقى، عيار 0.1 مول وpH 6.5، فى انبوب اختبار سعته 1.5 مل. سُفّل المستحلب الناتج لمدة 5 دقائق، بسرعة 15 ألف دوره فى الدقيقة، وحفظ الرائق الناتج فى الجليد حتى اختباره. أُضيف 50 ميكرو لتر، من الرائق الحاوى على الأنزيم، إلى 0.95 ملم من محلول مادة التفاعل، الحاوية على 5 ملغ/مل من Dihydroxyphenylalanine (L-Dopa) فى 0.1 مول محلول فوسفاتى واقى. مُزج المحلول جيداً فى خلاط رأسى لعدة ثوان وحُضن المزيج فى درجة حرارة 25 م° لمدة خمس دقائق ثم قيست شدة اللون الأحمر الناتج عن أكسدة مادة التفاعل (L-Dopa) بفعل الأنزيم إلى Dopachrome (Horowitz and Shen, 1952) والتي تتناسب ونشاط الأنزيم. استخدم مقياس طيف لوني Spectrophotometer بطول موجة 490 نانوميتر لاجراء عملية القياس (Bidoshca, 1989) وسجلت قراءة الجهاز لكل عينة.

تأثير أشعة غاما على تلون اليرقات باللون الأسود أُخرجت اليرقات (المشعة وغير المشعة) من الجمادة ووضعت، بعد غسلها بالماء المقطر، فى أطباق بتري فى درجة حرارة الغرفة العادية، لمدة ساعتين ثم سجلت التغيرات اللونية التى طرأت عليها.

#### تحليل النتائج

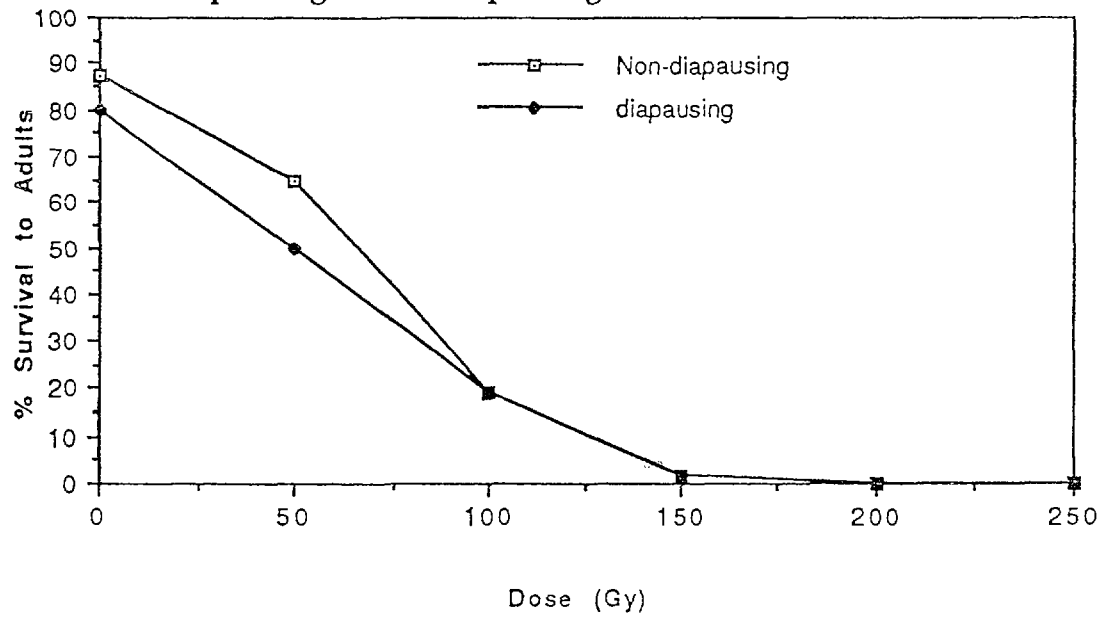
حلت نتائج التجارب باستخدام تحليل التباين كما استخدم اختبار (Duncan, 1955) Duncan لايجاد الفروق المعنوية بين المعاملات المختلفة.

## النتائج

### تأثير أشعة غاما فى اليرقات مكتملة النمو

يبين الجدولان 1 و 2 تأثير أشعة غاما فى نسبة تحول اليرقات إلى عذارى وحشرات كاملة. توضح النتائج أن الأشعة أثرت بشكل كبير على اليرقات المعاملة، إذ خفضت الجرعة 50 غرى معدل تحول اليرقات إلى عذارى وحشرات كاملة بشكل معنوي، فى حين أن الجرعة 200 غرى أوقفت ذلك نهائياً. يبين الشكل 1 أيضاً أن اليرقات الساكنة كانت أكثر حساسية للأشعة المؤينة مقارنة باليرقات غير الساكنة، ففى حين لم تصل أياً من اليرقات الساكنة التى عرضت لجرعة 150 غرى إلى طور الحشرة الكاملة، وصل 1.5% من اليرقات غير الساكنة التى تعرضت للجرعة نفسها إلى هذا الطور. وتتفق هذه النتائج مع نتائج الدراسات الأخرى التى تمت فى هذا المجال (Burditt and Muffit, 1985; Burditt et al., 1985; Proverbs and Newton, 1962).

Fig. 1. Effects of gamma radiation on codling moth mature (diapausing & non-diapausing larvae).



الجدول 1. تأثير أشعة غاما فى تطور يرقات فراشة ثمار التفاح غير الساكنة.

الجرعة (GY)	%	
	عذراى	فراشات
0	94.5a	87.5a
50	85.0b	65.0b
100	82.5c	19.0c
150	69.0d	01.5d
200	30.5e	00.0e
250	20.5f	00.0e

لا يوجد فروق معنوية على مستوى ثقة 5% بين المتوسطات المتبوعة بأحرف متشابهة فى العمود نفسه.

الجدول 2. تأثير أشعة غاما فى تطور يرقات فراشة ثمار التفاح الساكنة.

الجرعة (GY)	%	
	عذراى	فراشات
0	87.0a	79.5a
50	77.5b	49.5b
100	64.3c	09.5c
150	49.5d	0.00d
200	11.0a	00.0d
250	09.5e	00.0d

لا يوجد فروق معنوية على مستوى ثقة 5% بين المتوسطات المتبوعة بأحرف متشابهة فى العمود نفسه.

بينت النتائج أيضاً وجود فروق فى الحساسية للأشعة المؤينة بين الجنسين، فقد بين فحص الفراشات الناتجة أن الاناث كانت أكثر حساسية للأشعة المؤينة من الذكور (الجدول 3 و 4). فمثلاً، بين فحص الفراشات الناتجة من يرقات عرضت لجرعة 50 غرى أن 64.5% منها كان ذكوراً، أما تلك التى لم تتعرض للأشعة المؤينة فكانت نسبة الذكور فيها 48% كما كانت جميع الفراشات الناتجة عن يرقات تعرضت لجرعة 150 غرى ذكوراً. وقد بين فحص العذارى أن هذه الفراشات لم تستطع أن تتابع نموها إلى طور الحشرة الكاملة. تتفق هذه النتائج وما وجده باحثون آخرون من قبل (Burditt and Muffit, 1985; Burditt et al., 1985)

أدى التشعيع بجرعة لاتقل عن 100 غرى إلى انتاج فراشات ضعيفة كثر فيها التشوهات، خاصة فى الأجنحة والبطن، ومات معظمها خلال 2-3 أيام. ورغم أننا لم نقم بدراسة قدرة هذه الفراشات على التكاثر، فمن المرجح أنها عقيمة، ولكن حتى ولو لم تكن كذلك، فإن عمرها القصير وانخفاض قدرتها على الحركة والانتقال سيخفض إلى حد كبير من قدرتها على التكاثر.

الجدول 3. تأثير أشعة غاما فى النسبة الجنسية ليرقات فراشة ثمار التفاح غير الساكنة.

الجرعة (GY)	% للفراشات	
	ذكور	إناث
0	48.0a	52.0a
50	64.5b	35.5b
100	87.0c	13.0c
150	100a	0.00d

لايوجد فروق معنوية على مستوى ثقة 5% بين المتوسطات المتبوعة بأحرف متشابهة فى العمود نفسه.

الجدول 4. تأثير أشعة غاما فى النسبة الجنسية ليرقات فراشة ثمار التفاح الساكنة.

الجرعة (GY)	% للفراشات	
	إناث	ذكور
0	52.4a	47.6a
50	36.4b	63.6b
100	00.0c	100.0c
150	00.0c	00.0d

لا يوجد فروق معنوية على مستوى ثقة 5% بين المتوسطات المتبوعة بأحرف متشابهة فى العمود نفسه.

نشاط أنزيم الفينول أوكسيداز فى اليرقات غير المعاملة قدر نشاط الأنزيم فى اليرقات غير المعاملة والمجمدة قبل فحصها، لزيادة فعالية الأنزيم (Horowitz and Shen, 1952). بينت النتائج (الجدول 5) أن فعالية الأنزيم فى اليرقات غير المعاملة كانت منخفضة فى الأسبوع الأول من عمرها، ثم إزدادت هذه الفعالية خلال الأسابيع الثانى والثالث والرابع. تتفق هذه النتائج مع تلك التى حصل عليها باحثون آخرون لأنواع عدة من حشرات ثنائية الأجنحة (Hackman and Goldberg, 1967; Mansour and Franz, 1996).

الجدول 5. نشاط أنزيم الفينول أوكسيداز ( $OD\ units \times 10^3 \pm SD$ ) فى يرقات فراشة ثمار التفاح\*.

نشاط الأنزيم $SD \pm$ ( $OD\ units \times 10^3$ )	عمر اليرقات (أيام) عند مقايسة الأنزيم
023.4 $\pm$ 05.9a	7
210.3 $\pm$ 61.8b	14
321.6 $\pm$ 73.1c	21
533.8 $\pm$ 91.8d	28

\* تمثل البيانات متوسط القياسات على 10 يرقات. لا تختلف المتوسطات التى يليها الحرف نفسه فى العمود نفسه معنوياً على مستوى ثقة 5% ( $P > 0.05$ ).

#### تأثير أشعة غاما فى نشاط أنزيم الفينول أوكسيداز

بينت النتائج أن تعرض اليرقات، بعمر أسبوع واحد، للأشعة المؤينة (الجدول 6) ثم فحصها بعمر 2 و3 و4 أسابيع، أدى إلى خفض معنوى ( $P < 0.001$ ) فى فعالية أنزيم الفينول أوكسيداز، كما بينت المقارنة بين المتوسطات أن تأثير الأشعة كان معنوياً للجرعة 25 غرى ( $P < 0.05$ ) وبلغ هذا التأثير حده الاعظمى عند جرعة 50 غرى.



الجدول 6. تأثير أشعة غاما فى نشاط أنزيم الفينول أوكسيداز  
 فى يرقات فراشة ثمار التفاح \* (OD units x 10<sup>3</sup>±SD)

الجرعة (غرى)	أيام المقيسة		
	14	21	28
0	210.8±62.3a	321.5±73.3a	534.6±90.8a
25	102.9±23.6b	135.0±33.4b	227.8±45.9b
50	023.0±09.0c	031.8±08.3c	037.6±07.6c
75	024.1±05.0c	037.3±05.9c	033.0±09.6c
100	030.5±10.7c	0.31.1±07.0c	035.1±10.0c

\* تمثل البيانات متوسط القياسات على 10 يرقات. لا تختلف المتوسطات التى يليها  
 الحرف نفسه فى العمود نفسه معنوياً على مستوى ثقة 5% (P>0.05).

#### تأثير العمر عند التشعيع فى حساسية الأنزيم للأشعة المؤينة

تشير نتائج دراسة تأثير عمر اليرقات، عند تشعيها فى نشاط أنزيم الفينول  
 أوكسيداز، أن الأشعة خفضت، بشكل معنوى، فعالية الأنزيم خصوصاً عند معاملة  
 اليرقات بعمر أسبوع (الجدول 7) ولكن عندما عوملت بعمر 2-3 أسابيع كان التأثير  
 أقل شدة. بينت الدراسات على ذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط (Mansour and  
 Franz, 1995, 1996) أن نشاط الأنزيم ازداد بازدياد عمر اليرقات وأن التشعيع لم يوقف  
 فعالية الأنزيم بعد افرازه وإنما قلل من زيادة تراكمه.

الجدول 7. تأثير أشعة غاما فى نشاط أنزيم الفينول أوكسيداز (OD units x 10<sup>3</sup>±SD) فى يرقات فراشة ثمار التفاح مكتملة النمو بعد تشعيها بعمر 1-3 أسابيع.

الجرعة (غري)	أيام التشعيع		
	7	14	21
0	500.8±95.0a	500.8±95.0a	500.8±95.0a
25	121.2±04.4b	201.6±33.7b	270.0±35.9b
50	025.3±04.7c	121.5±42.3c	204.3±29.9c
75	019.6±04.5c	154.2±34.7c	217.4±33.5c
100	022.0±05.4c	132.5±43.6c	211.9±28.2c

\* تمثل البيانات متوسط القياسات على 10 يرقات. لا تختلف المتوسطات التى يليها الحرف نفسه فى العمود نفسه معنوياً على مستوى ثقة 5% (P>0.05).

#### تأثير أشعة غاما فى تلون اليرقات باللون الأسود

تتوافق نتائج دراسة تلون اليرقات باللون الاسود بعد قتلها بالتجميد، ووضعها فى درجة حرارة الغرفة (الجدول 8)، مع نتائج دراسة تأثير أشعة غاما فى نشاط أنزيم الفينول أوكسيداز. بينت نتائج الدراسة عدم اسوداد اليرقات غير المشعة التى قتلت بعمر أسبوع، أما اليرقات التى قتلت بعمر أسبوعين، فكانت النتائج فيها غير واضحة إذ تلون بعضها باللون الأسود فى حين لم يتلون بعضها الآخر، ولكن اليرقات التى قتلت بعمر 3-4 أسابيع، تلونت جميعها باللون الأسود، بعد وضعها فى درجة حرارة الغرفة لمدة 1-2 ساعة. بخلاف ذلك، لم تتلون اليرقات التى شععت بعمر أسبوع بجرعة لا تقل عن 50 غري وفحصت بالطريقة السابقة نفسها، ولكن تشعيع اليرقات بعمر 2-3 أسابيع ثم قتلها وفحصها خلال فترات زمنية متتالية بعد التشعيع بفاصل أسبوع بين المرة والأخرى، لم يؤد إلى وقف عملية التلون فى معظم اليرقات التى شععت بعمر أسبوعين ولا بأى من اليرقات المشعة بعمر 3 أسابيع.

الجدول 8. نتائج اختبار تأثير أشعة غاما في تلون يرققات فراشة ثمار التفاح باللون الأسود.\*

عمر اليرقات (أيام)			عمر اليرقات (أيام)
عند فحصها (غير مشعة/مشعة)			عند تشعيها
28	21	14	
-/+	-/+	-/+	7
±/+	±/+		14
+/+			21

\* عرضت اليرقات لجرعة 50 غري وفحصت 50 يرقة منها في كل مرة، + متلون باللون الأسود، - غير متلون، ± غير واضح (بعض اليرقات متلون وبعضها الآخر غير متلون).

## المناقشة

تعود فكرة استعمال الأشعة المؤينة لمعاملة المنتجات الزراعية، لأغراض الحجر الزراعى، إلى بداية القرن الحالى (Murgan and Runner, 1913; Koidsumi, 1930) ولكن التطبيق العملى لهذه الفكرة تأخر لعقود عدة لأسباب علمية وتقنية وسياسية متعددة. أدت التطورات العلمية، التى حصلت فى العقود القليلة الماضية، إلى إعادة الإهتمام بهذه التقنية التى بدأت تأخذ مكانتها كتطبيق آخر من التطبيقات السلمية للتقانات النووية.

تعرض هذه الورقة نتائج لتأثير أشعة غاما على مقدرة يرقات فراشة ثمار التفاح على التعذر والوصول الى طور الحشرة الكاملة، وعلى نشاط أنزيم الفينول أوكسيداز والتلون باللون الأسود فى اليرقات المعاملة بعد قتلها بالتجميد.

اقترح استعمال الأشعة المؤينة كبديل للتبخير بالغازات السامة لمعاملة الشحنات الزراعية التى يمكن أن تحمل أفات زراعية تخضع للحجر الزراعى فى البلدان التى تصدر اليها هذه الشحنات، واعتمدت جرعة 300 غزى لمعاملة هذه الشحنات، فى حال عدم توفر معلومات محددة عن الجرعة اللازم استعمالها (Anonymous, 1986a). تبين هذه الدراسة امكانية استعمال الأشعة المؤينة، لمعاملات الحجر الزراعى، لفراشة ثمار التفاح ويتطلب ذلك جرعة منخفضة نسبياً خاصة إذا ما اعتمدت التى توقف تحول اليرقات إلى حشرات كاملة، كأساس للمعاملة، كما أن الجرعة المقترحة سابقاً (Anonymous, 1986a) ليست كافية لفراشة ثمار التفاح فقط، بل هى أعلى من المطلوب. ولكن هذه الجرعة لاتمنع اليرقات من الوصول إلى مرحلة العذراء. ولذلك لابد من وجود طريقة للتأكد من أن اليرقات المكتشفة فى الثمار المستوردة، قد تعرضت للأشعة المؤينة، وبالتالي لن تستطيع التحول إلى فراشات. اقترح Nation et al., (1995) و (Mansour and Franz, 1995, 1996) البحث فى امكانية استعمال تأثير أشعة غاما فى أنزيم الفينول أوكسيداز كدليل على سبق تعرض هذه اليرقات للأشعة المؤينة.

بينت نتائج فحص نشاط أنزيم الفينول أوكسيداز، فى يرقات فراشة ثمار التفاح، امكانية كشف نشاط هذا الأنزيم فى اليرقات غير المشععة، فى نهاية الأسبوع الأول من عمرها، ويستمر هذا النشاط فى التزايد حتى نهاية طور اليرقة.

وتتوافق هذه النتائج مع دراسات سابقة (Hackman and Goldbeng, 1967; Mansour and Franz, 1996). بينت نتائج الدراسة أيضاً أن معاملة اليرقات بعمر

أسبوع بجرعة لاتقل عن 50 غري خفض فعالية هذا الأنزيم إلى حدودها الدنيا، وحال دون حدوث تفاعل التلون باللون الأسود، فى اليرقات المعاملة. لكن تشيع اليرقات بعمر 2-3 أسابيع ثم فحصها بعمر 3-4 أسابيع لم يحول دون حدوث تفاعل التلون باللون الأسود كما أنه لم يؤد إلى تخفيض فعالية الأنزيم، إلى المستوى المطلوب للتمييز بين اليرقات المشعة وغير المشعة، يدل ذلك أن الجرعة المستخدمة تؤثر على إنتاج الأنزيم عند معاملة اليرقات فى المراحل الأولى من نموها، ولكن تأثيرها أقل وضوحاً بعد الأسبوع الأول من العمر. مما يشير إلى امكانية استعمال هذا الاختبار(ضمن الحدود المذكورة) للدلالة على التشيع، ولكن اختبار المقايسة لأنزيم الفينول أوكسيداز أكثر دقة، فى الكشف عن سبق التعرض للأشعة المؤينة، وإخفاق اليرقات التى تعرضت خلال الأسبوع الأول من عمرها لجرعة 50 غري للتلون باللون الأسود، يمكن أن يستعمل كدليل سريع على تعرض هذه اليرقات للأشعة المؤينة.

## REFERENCES

- Anderson, S. O. 1985. Sclerotization and tanning of the cuticle, pp. 59-74. In G. Kerkut and L. Gilbert [eds.], *Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology*, Vol. 3. Pergamon, Oxford.
- Anonymous. 1984. Revocation of tolerances for ethylene dibromide. *Fed. Reg.* 49: 22082-5.
- Anonymous. 1986a. Task force meeting on irradiation as a quarantine treatment, Chiang Mai, Thailand, 17--21 February. 1986. *Food Irradiation Newsletter* 10: 5-10.
- Anonymous. 1986b. Report of the FAO/IAEA research coordination meeting on the use of irradiation as a quarantine treatment of food and agricultural commodities, Chiang Mai, Thailand, 24-28 February 1986. *Food Irradiation Newsletter* 10: 17-28.
- Anonymous. 1978. Ministry of Agriculture and Forestry (Japan). Notification No. 38. Japan plant protection law enforcement regulations (January 10, 1978), pp. 27-33.
- Anonymous. 1989. Use of irradiation as a quarantine treatment for fresh fruits of papaya from Hawaii, final rule. *Fed. Reg.* 54: 387-393.
- Balock, J. W., A. K. Burditt, Jr., and L. D. Christenson. 1963. Effect of gamma radiation on various stages of three fruit fly species. *J. Econ. Entomol.* 56: 42-46.
- Balock, J. W., A. K. Burditt, S. T. Seo and E. K. Akamine. 1966. Gamma radiation as a quarantine treatment for Hawaiian fruit flies. *J. Econ. Entomol.* 59: 202-204.
- Bidochka, M. J., J. P. Gillespie, and G. G. Khachatourians. 1989. Phenoloxidase activity of acridid grasshoppers from the subfamilies Melanoplinae and Oedipodinae. *Comp. Biochem. Physiol.* 94B: 117--124.
- Brinton, F. E., M. D. Proverbs and B. E. Carty. 1969. Artificial diet for mass production of the codling moth, *Carpocapsa pomonella* (Lepidoptera: Olethreutidae). *Can. Entomol.* 101: 577-584.

- Burditt, A. K., and H. R. Moffitt. 1985. Irradiation as a quarantine treatment for fruit subject to infestation by codling moth larvae, pp. 87-97. In: J. H. Moy (ed.), Proceedings, International Conference on radiation Disinfestation of Food and agricultural Products. University of Hawaii, Honolulu.
- Burditt, A. K., H. R. Moffitt and F. P. Hungate. 1985. Effects of gamma radiation as a quarantine treatment on the development of the codling moth larvae, pp. 3-8. In: International Symposium on Food Irradiation Processing. IAEA. Vienna.
- Duncan, D. B. 1955. Multiple range and multiple F tests. *Biometrics* 11: 1-24.
- Eric, B., J. Lecompte, S. Klein and W. Krickler. 1970. Study of disinfestation of bananas by gamma irradiation. *Food technology in Australia*. 22: 664-667.
- Hackman, R. H., and M. Goldberg. 1967. The O-diphenoloxidase of fly larvae. *J. Insect Physiol.* 13: 531--544.
- Hooper, G. H. S. 1989. The effect of ionizing radiation on reproduction. In: A. S. Robinson and G. Hooper (eds), *Fruit Flies Their Biology, Natural Enemies and Control*. Vol. 3. Elsevier. Amsterdam.
- Horowitz, N. H., and S. C. Shen. 1952. Neurospora tyrosinase. *J. Biol. Chem.* 197: 513--520.
- Jessup, A. J., C. G. Rigney, A. Miller, R. F. Sloggett, and N. M. Quinn. 1992. Gamma irradiation as a commodity treatment against the Queensland fruit fly in fresh fruit, pp. 13-42. In *Use of irradiation as a quarantine treatment of food and agricultural commodities, Proceedings, Final Research Coordination Meeting, 27--31 August 1990, Kuala Lumpur, Malaysia*. IAEA, Vienna, Austria.
- Koidsumi, K. 1930. Quarantine studies on the lethal action of X-rays upon certain insects. *J. Soc. Tropical Agr.* 2: 243-263.
- Macfarlane, J. J. 1966. Control of Queensland fruit fly by gamma irradiation. *J. Econ. Entomol.* 59: 884-889.
- Mansour M. and G. Franz. (1995). A rapid test for distinguishing irradiated from unirradiated medfly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Muscidae), larvae, pp. 505-510. In *Fruit Flies of Economic Importance*, 5-10 June 1994, St. Lucie press, Fl. USA.

- Mansour M. and G. Franz. (1996). Effects of gamma radiation on phenoloxidase activity in Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) larvae. J. Econ. Entomol. 89: (in press).
- Nation J. L., B. J. Smittle and K. Milne. (1995). Radiation induced changes in melanization and phenoloxidase in Caribbean fruit fly larvae (Diptera: Tephritidae) as the basis for a simple test of irradiation. Ann. Entomol. Soc. Am. 88: 201-205.
- Proverbs, M. D. and J. R. Newton 1962. Influence of gamma radiation on the development and fertility of the codling moth, *Carpocapsa pomonella* L. (Lepidoptera: Olethreutidae). Can. J. of Zool. 40: 401-420.
- Rahman, R., C. Rigney and E. Busch-Petersen. 1990. Irradiation as a quarantine treatment against *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae): anatomical and cytogenetic changes in mature larvae after gamma irradiation. J. Econ. Entomol. 83: 1449--1454.
- Rahman, R., A. D. Bhuiya, S. M. S. Huda, R. M. Shahjahan, G. Nahar, and M. A. Wadud. 1992. Anatomical changes in the mature larvae of two *Dacus* spp. following irradiation, pp. 133-139. in use of irradiation as a quarantine treatment of food and agricultural commodities, proc. Final Research Coordination Meeting. 27-31 august. 1990, Kuala Lumpur, IAEA, Vienna.
- Salt, G. 1970. The cellular defense reactions of insects. Cambridge Monograph in Experimental Biology, No. 16. Cambridge University Press, London.
- Shipp, E. and A. W. Osborn. 1968. Irradiation of Queensland fruit fly pupae to meet quarantine requirements. J. Econ. Entomol. 61: 1721-1726.
- Shel'deshova. G. G. 1967. Ecological factors determining distribution of codling moth, *Laspeyresia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) in northern and southern hemispheres. Entomol. Rev. 46: 349-361.



## ABSTRACT

Effects of gamma radiation on pupation and adult emergence in mature (diapausing and non-diapausing) codling moth, *Cydia pomonella* L., larvae and on phenoloxidase activity in larvae killed by freezing were investigated. Results showed that, a dose of 50 Gy reduced adult emergence (and pupation) significantly and 200 Gy completely prevented it. Diapausing larvae were more susceptible to irradiation than non-diapausing larvae and female moths were more susceptible to irradiation injury than males. Phenoloxidase activity in codling moth larvae was determined spectrophotometrically by measuring the increase in optical density at 490 nm, or by observing the degree of melanization in larvae killed by freezing. Results showed that, in un-irradiated larvae, phenoloxidase activity can be detected in 7 day old larvae and activity continued to accumulate throughout the larval stage. This accumulation was not observed when larvae were irradiated with a minimum dose of 50 Gy during the 1st week of their development. However, irradiating larvae in which enzyme activity was already high (2-3 week old) did not remove activity but only reduced further accumulation. Larval melanization studies were in agreement with results of the phenoloxidase assay.