

GAMMA SUGÁRZÁS HATÁSA A *BOMBYX MORI* L. (LEPIDOPTERA) VARO RASSZÁRA

I. DIAPAUZÁLÓ PETÉK VIZSGÁLATA

LUKACSOVICS FERENC és GUBICZA ANDRÁS

Érkezett: 1963. március 10-én

A Lepidoptera rend egyes fajának és fajon belül a különböző embrionális és posztembrionális fejlődési szakaszban a radioaktív sugárzással szemben mutatott érzékenységre kevés irodalmi adatot találunk. Kivétel csak a Bombycidae család *Bombyx mori* faja, amelynek több rasszával értékes — de első-sorban gyakorlati szempontból jelentős — radiológiai kísérlet folyt. Például említhetjük TAZIMA (1961) munkáját, akinek radioszelektív módszerrel már a petestádiumban sikerült ivari dimorfizmust kimutatni. COLOMBO (1959) a „Nistari” bivoltin rassz lárváit és bábjait kezelte röntgensugárzással.

Kísérleteinkhez KARPOV (1960) munkája áll közel. Az USz-1 és B-2 rasszok petéit kezelte gamma sugárzással. Miután egyrészt dolgozatából nem derül ki, hogy a petefejlődés melyik stádiumában végezte a besugárzásokat, másrészt közismert, hogy a különböző fejlettségű állatok sugárérzékenysége változik, eredményeit csak fenntartással hasonlíthatjuk össze a mieinkkel.

Munkánk célja az volt, hogy a hazai tömegtenyésztésben alkalmazott „Varo” rassz petéinek kimutassuk a gammasugárzás-érzékenységét az ontogenezis korai szakában (diapauza), megismerjük az embriófejlődésre gyakorolt károsító hatását, nevezetesen: hogyan befolyásolja az embriófejlődés és lárvakikelés időtartamát és a kikelő egyedek mennyiségét. Lárvakibúvásig mértük az O_2 -fogyasztást mint a diapauzát kísérő egyetlen mérhető (WOLSKY 1937) és az embriófejlődés ütemét jól jellemző életjelenséget (GOLŪSEV 1928, LUKACSOVICS és GUBICZA 1960).

Anyag és módszer

A diapauzáló *Bombyx* peték besugárzását 1962. I. 23-án végeztük el a Budapesti Műanyagipari Kutató Intézet izotóplaboratóriumában.

Sugárforrásul 420 C aktivitású Co_{60} szolgált. A gamma fotonok energiája 1,17—1,33 MeV. A besugárzást 20 különböző dózissal végeztük.

8	24	40	57	73	117	351
585	819	1 053	3 000	4 500	6 000	7 500
9000	10 500	12 000	13 500	15 000	476 000 r	—

Főnti dózismennyiségeket a besugárzási idő tartamának és a sugárforrástól való távolságnak a kiszámításával állítottuk elő.

A dózisértékek a besugárzott anyag képzeletbeli tengelyére vonatkoznak. A petéket kémcsövekben a sugárforrás körül koncentrikusan helyeztük el. A kémcsőkeresztmetszet méretéből adódik, hogy a peték egy része közelebb, más része távolabb volt a sugárforrástól. Ezért a besugárzási idő felénél a kémcsöveket 180°-kal elfordítottuk, így közel azonos dózisu sugárzás érte a kísérleti anyagot. Az izotóplaboratórium hőmérséklete megfelelt a diapauza alatt szükséges hőmérsékletnek (+4, +6° C).

A sugárkezelés időszakában a peték a III. embrionális stádiumban voltak (SEBESTYÉN 1957).

A diapauza állapotban besugárzott petéket fokozatosan emelkedő hőmérsékleti hatásnak tettük ki. Ezeken végeztük el az O₂-fogyasztási, valamint az embriófejlődés, a hernyókikelés elhúzódásának időtartama és a kikelés %-ának vizsgálatát. Utóbbit azonos dózis értékenként 200 db petén állapítottuk meg.

Az O₂-fogyasztást 4 különböző sugármennyiséggel kezelt petén mértük (117, 1053, 10 500 és 476 000 r). A méréseket WARBURG módszerével végeztük (KREBS 1928), éspedig az újabban módosított légzőedények alkalmazásával (WARBURG és KRIPPAHL 1960. 1. tábla). Edényenként 2 g petét használtunk. Egy-egy fejlődési fokon mért fogyasztási érték 6 párhuzam átlaga. A légzés-mérés egyéb feltételei megegyeznek a korábbi vizsgálatainknál alkalmazottakkal (LUKACSOVICS és GUBICZA 1960).

Kísérleti anyagunkban fejlődésképtelen (skart) pete nem volt. Mérési hőmérsékletek a következők voltak: 5, 15, 20 és 22° C. A peték térfogatát GNANAMUTHU (1952) jól bevált mikrotérfogat meghatározójával mértük meg. Két leolvasás közötti időtartam — a fogyasztás nagyságától függően — 30 perctől 8 óra hosszáig terjedt. A kapott fogyasztási értékeket $\mu\text{l O}_2/1\text{ g élőanyag/óra}$ egységre számítottuk át. Két átlagérték különbségét akkor tekintettük valósnak, ha számítások azt megerősítették (t-statisztika: PÁTAU 1943).

Eredmények és az eredmények megbeszélése

A kapott oxigénfogyasztási mennyiségek (1. táblázat) statisztikai értékelése kapcsán a következőket állapítottuk meg. 5° C hőmérsékleten a mért fogyasztási értékek egymástól nem különböznek. A fejlettebb és nagyobb dózist kapott peték között magasabb hőmérsékleten (15° C) már kezd mutatkozni a sugárhatás abban, hogy O₂-fogyasztási értékük csökken. Előbbieket meggyőzően az 1. ábra szemlélteti. Legerősebb csökkenést az extrémén nagy

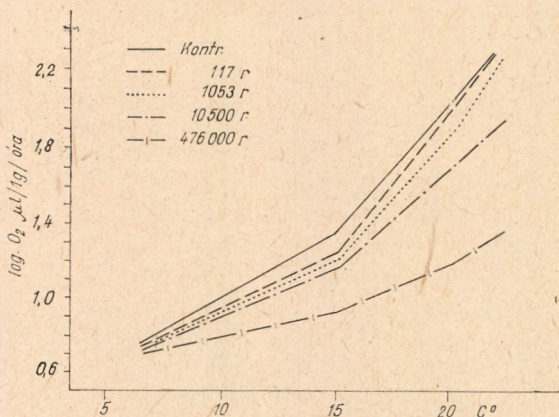
1. táblázat

C°	Kontroll	Dózisértékek (r)			
		117	1053	10 500	476 000
Oxigénfogyasztás $\mu\text{l/l g élőanyag/óra}$					
5	4,4	4,8	4,7	4,5	5,1
15	21,3	17,6	16,1	16,2	9,2
20	99,0	92,6	71,1	46,9	15,4
22	220,4	200,3	161,9	79,0	21,2

sugárzás hatásának kitett peték fogyasztása mutatja (476 000 r) 9,2 μl O_2 , ugyanakkor a kontroll 21,3 μl). Statisztikailag kimutatható valós különbségek ($P \leq 0,0027$) azonban nem minden átlagérték között vannak, csak a

kontroll és 476 000 r csoport között
 117 r és 476 000 r csoport között
 1053 r és 476 000 r csoport között.

Gyengén biztos a különbség ($0,01 < P > 0,0027$) a 10 500 r—476 000 r-rel besugárzott peték fogyasztása között. 15, 20 és 22° C-on a kontroll és a 117 r-es csoport között nincs különbség.



1. ábra. — Abb. 1. Az oxigénfogyasztás és a hőmérséklet emelésének kapcsolata a *Bombyx mori* L. pete fejlődése során különböző γ -besugárzási dózisok hatására. — Temperaturabhängigkeit des Sauerstoffverbrauches während der Entwicklung des *Bombyx mori* Eies in Zusammenhang mit den verschiedenen Dosen von γ -Strahlung.

20 és 22° C-on az embriófejlődés utolsó szakaszában a következő csoportok között szignifikáns a különbség:

kontroll, 1053 r, 10 500 r és 476 000 r.

Az O_2 -fogyasztási méréseink szerint tehát a nyugvó peték légzési anyagcseréjét károsító gammasugárzás dózisértéke 1000 r körül van.

Az embriófejlődés időtartamát az inkubáció kezdetétől az első hernyók kibúvásáig számítottuk, innét az utolsó hernyók kikeléséig eltelt időt vettük a kibúvás időtartamának.

Az emelkedő dózisértékekkel mind az embriófejlődés, mind a hernyókibúvás ideje megnövekszik (2. ábra), a kikelési százalék pedig csökken (2. táblázat).

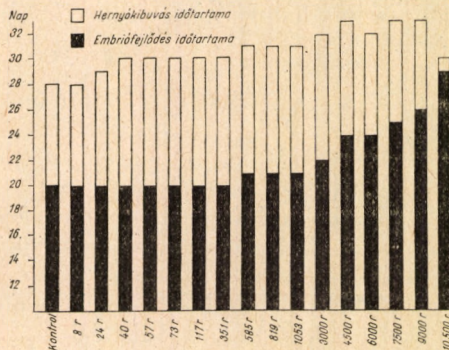
Az embriófejlődés időtartamának megnövekedése már 585 r dózisonál észlelhető. A leghosszabb idő (29 nap) 10 500 r dózisonál jelentkezik, ez azonban csak egy db pete embriófejlődésére vonatkozik (0,5%), mert a kísérleti tétel 99,5%-a ennél a dózisonál elpusztult (2. ábra).

Gamma-sugárzással kezelt diapauzáló peték hernyókibúvási %-a

röntgen	nap/%										kibúvás %-a összesen
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	
kontroll	0,5	5,0	22,0	24,5	19,5	13,0	9,0	2,0	—	—	95,5
8 r	1,5	6,5	21,0	24,0	27,5	8,0	5,0	3,5	—	—	97,0
24 „	1,0	8,0	16,0	24,5	18,0	14,0	11,0	2,5	1,0	—	96,0
40 „	7,5	16,0	15,5	20,5	18,0	7,0	4,5	2,5	1,0	0,5	93,0
57 „	2,0	8,0	18,0	19,0	14,0	12,0	14,5	3,0	2,0	1,0	93,5
73 „	0,5	9,5	17,5	19,0	18,0	14,5	9,0	4,0	1,5	1,0	94,5
117 „	1,0	7,0	19,5	37,0	16,5	8,0	2,5	1,0	1,0	0,5	94,0
351 „	2,0	6,5	19,0	26,5	15,5	9,5	8,0	4,0	2,5	1,5	95,0
585 „	1,0	16,5	19,5	20,0	16,0	8,5	4,0	4,0	3,0	1,0	93,5
819 „	0,5	15,0	27,0	21,0	13,0	7,5	6,0	2,5	1,0	0,5	94,0
1 053 „	1,5	6,0	17,0	23,0	19,0	14,5	7,5	2,5	0,5	1,0	92,5
3 000 „	3,0	5,0	16,5	13,0	13,0	10,0	7,5	3,0	1,0	1,0	73,0
4 500 „	3,5	7,5	18,5	10,5	8,5	5,0	4,5	2,0	1,0	—	61,0
6 000 „	1,0	5,5	8,5	9,5	9,0	4,5	3,5	1,0	—	—	43,0
7 500 „	1,0	3,5	3,0	2,5	2,0	3,0	1,0	0,5	—	—	16,5
9 000 „	0,5	1,0	2,0	1,5	2,0	1,0	0,5	—	—	—	8,5
10 500 „	0,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,5
13 000 „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0

A kikelési idő 1 nappal való megnyúlása már viszonylag kis dózis értékénél (24 r) jelentkeznek. A legnagyobb dózisonál viszont egy napra rövidül le, ez azonban ismét az az 1 db pete, amelyről előbb szó volt.

Ha megnézzük a kikelési százalékokat, azt találjuk, hogy a 8–1053 r-ig terjedő sugárdózissal kezelt peték között nem mutatkozik nagyságrendi eltérés. A 92–97 (átlagban 94) %-os kelési ingadozás a gyakorlatban, normális tenyésztésekben is mindennapos. Az 1053 r-nél nagyobb dózisértékek viszont a kelési % nagyarányú csökkenését eredményezik.



2. ábra. — Abb. 2. Az embriófejlődés és hernyókibúvás időtartamának viszonya különböző γ -sugárdózisok hatására. — Verhältnis der Zeitdauer der Embryonalentwicklung und des Raupenausschlüpfens unter dem Einfluss verschiedener Dosen von γ -Strahlung. Zeitdauer des Schlüpfens (weiss), Zeitdauer der Embryonalentwicklung (schwarz).

KARPOV (1960) eredményeit a 2. táblázat adataival összehasonlítva megállapíthatjuk, hogy az USz-1 és B-2 peték 1000—6000 r dózis hatására csak 15—29%-os pusztulást mutattak, ugyanakkor a mi „Varo” rasszunk petéi ilyen dózistól lényegesen nagyobb mortalitást mutatnak (57%). (Mint a bevezetőben már említettük, nem ismerjük, hogy az USz-1 és B-2 peték milyen fejlődési állapotban voltak kezelve.)

A gammasugárzás hatását a légzési eredményeken lemérve azt a megállapítást tettük, hogy a károsító dózis 1000 r körül van, a keltetési eredmények föntieket megerősítik, s a két módszer által kapott károsító sugárdózist 1000 r—3000 r között állapíthatjuk meg.

A félhalálos dózist (LD_{50}) BEHRENS és KÄRBER módszere szerint számítva (GYERMEK 1957) a következő értéket kaptuk:

$$LD_{50} = 4767 \pm 117$$

Összefoglalás

A különböző dózisu gammasugárzásnak kitett Varo peték O_2 -fogyasztása $5^\circ C$ -on azonos a kontrollal.

A besugárzás után az inkubált peték ($15^\circ C$ -on) az embriófejlődés elején a dózis nagyságától függően már mutattak különbséget légzésintenzitásban, de a kontroll és a 117 r-rel besugárzott petetétel között még $20-22^\circ C$ -on sem volt szignifikáns O_2 -fogyasztási különbség.

A kontroll, az 1053 r, 10 500 r és a 476 000 r sugárzásnak kitett petéknél az embriófejlődés utolsó szakaszában mért O_2 -fogyasztás adatai között szignifikáns különbségek vannak.

Az 585 r-nél nagyobb dózissal kezelt csoportoknál kezdődött az embriófejlődés időtartamának elhúzódása. A lárvakibúvás időtartama már 40 r-nél maximális volt. A kibúvás százalékos csökkenése (elpusztulás) 1000 r-nél nagyobb dózisonál kezdődött. 10 500 r-nél már csak 0,5%-os kelés mutatkozott.

Az LD_{50} értékét 4767 ± 117 r-nek számítottuk.

IRODALOM

- COLOMBO, G. (1959): Gli effetti letali dei raggi X sugli oociti del baco da seta (*Bombyx mori* L., Lepidoptera). — *Caryologia* **11** n. 3, 274—296
- GNANAMUTHU, C. P. (1952): A Simple Device for Measuring the Volume of an Aquatic Animal. — *Nature* **170**, 587
- GOLÜSEV, N. O. (1928): Гольшев И. О.: Газоудмен тутового шелкопряда от грени до бабочки. Центр. Шелк. Станци. СССР Труды Станци **3**, 129—160.
- GYERMEK L. (1957): Toxicitási vizsgálatok. A) A halálos adag meghatározása. — In KOVÁCH: *A kísérleti orvostudomány vizsgáló módszerei* **3**, 854—932
- KARPOV, A. E. (1960): Карнов А. Е.: Влияние рентгеновского облучения на заболеваемости тутового шелкопряда полиневрозом. Госмедиздат **441**, 445.
- KREBS, H. A. (1928): Stoffwechsel der Zellen und Gewebe. — In T. PÉTERFI: *Methodik der wiss. Biol.* **2**. Berlin, J. Springer
- LUKACSOVICS, F. und A. GUBICZA (1960): Über die Atmung der verschiedenen Rassen des Seidenspinners *Bombyx mori* L. I. Untersuchung der Atmung von Eiern. — *Annal. Biol. Tihany* **27**, 29—40

- PÁTAU, K. (1943): Zur statistischen Beurteilung von Messungsreihen (Eine neue t-Tafel). — *Biol. Zbl.* **63**, 152—168
- RICHTER H. (1958): Radioaktív sugárzások. *Budapest, Akadémiai Könyvkiadó*
- SEBESTYÉN E. (1957): A selyemhernyó tenyésztése. — *Budapest, Mezőgazdasági Kiadó*
- TAZIMA, Y. (1961): Studies on radiation mutagenesis in the silkworm. — *Rev. Ver à Soie* **13**, 1. 61—68
- WARBURG, O., G. KRIPPAHL (1960): Further Development of Manometric Methods. — *J. Nat. Canc. Inst.* **24**, 51—55
- WOLSKY S. (1937): A szénmonoxid hatása a selyemlepke (*Bombyx mori* L.) nyugvó petéinek lélegzésére. — *Állattani Közl.* **36**, 1—2, 65—70

UNTERSUCHUNG DER EINWIRKUNG DER GAMMASTRAHLUNG
AN DIAPAUSIERENDEN EIERN VON *BOMBYX MORI* L.
(LEPIDOPTERA)

Ferenc Lukacsovics und András Gubicza

Zusammenfassung

Die Untersuchung bezweckte die Empfindlichkeit gegenüber der Gammastrahlung im frühen Abschnitt der Ontogenese (Diapause) bei den Eiern der in Ungarn in der Massenzüchtung verwendeten Rasse „Varo“ nachzuweisen. Ferner wurde die schädigende Wirkung der Strahlung auf die Entwicklung des Embryos studiert, namentlich inwiefern dadurch die Zeitdauer der embryonalen Entwicklung und des Larvenschlupfes sowie die Anzahl der ausgeschlüpften Individuen beeinflusst werden. Bis zum Schlupf wurde der Sauerstoffverbrauch als die einzige, die Diapause begleitende messbare Lebenserscheinung, welche den Rhythmus der embryonalen Entwicklung gut kennzeichnet, bestimmt.

Hierbei wurde festgestellt, dass der Sauerstoffverbrauch der Eier der Varo Rasse, die verschiedenen Dosen von Gammastrahlung ausgesetzt waren, bei 5° C dieselben Werte anzeigt wie die Kontrolle.

Nach der Bestrahlung weisen die inkubierten Eier (bei 15° C) zu Beginn der embryonalen Entwicklung in Abhängigkeit von der Dosengrösse bereits Unterschiede in der Atmungsintensität auf, der Unterschied im Sauerstoffverbrauch zwischen Kontrolle und mit 117 r bestrahlten Eiern war jedoch selbst bei 20 bis 22° C nicht signifikant.

Unter den im letzten Abschnitt der embryonalen Entwicklung gemessenen Angaben des Sauerstoffverbrauches waren bei der Kontrolle, sowie den Eiern, die Bestrahlungen mit 1053, 10 500 und 476 000 r ausgesetzt waren, die Unterschiede signifikant.

Die Verschleppung der Zeitdauer der embryonalen Entwicklung begann bei den Gruppen, die mit Dosen von über 585 r behandelt wurden.

Die Dauer des Larvenschlupfes erreichte bereits bei 40 r das Maximum.

Die prozentuale Abnahme des Schlupfes (Absterben) begann erst bei Dosenwerten von über 1000 r; bei 10 500 r konnte nur mehr ein Schlupf von 0,5% beobachtet werden.

Der LD₅₀ Wert wurde mit 4767 ± 117 r berechnet.