------ مجلة علوم الرافدين، المجلد16، العدد7، خاص بعلوم الحياة، ص 134-144، 2005-----

التأثير التطفيري لأشعة الشمس في الفطر أسبرجلس أمستيلودامي

رافعة قادر جرجيس	جيهان موفق سعيد
قسم علوم الحياة كلية التربية جامعة الموصل	

(تاريخ الاستلام2004/5/29 ، تاريخ القبول 2004/9/7)

الملخص

تم في هذا البحث دراسة التأثير التطفيري لاشعة الشمس المباشرة في كونيدات الفطـر أسـبرجلس أمستيلودامي. وقد جرت الدراسة في فصل الصيف وفي منتصف النهار، حيث تم تعريض العالق الكونيدي للفطر لاشعة الشمس لاربعة فترات زمنية وهي 20، 40، 60 و 90 دقيقة على التوالي، ثـم تـم فـرش العالق الكونيدي على الوسط الانتقائي والحاوي على العقار Azaguanine – 8 وهي مـادة سـامة تقتـل الخلايا البرية غير الطافرة وتبقى الخلايا التي طفرت الى حالة المقاومة للعقار. وقد تم الحـصول علـى طفرات جينية مقاومة للازاكوانين ومستحثة بفعل اشعة الشمس وبتكررات اعلى بكثير من تكرار الطفرات التلقائية للمعاملة صفر والتي تم الحصول عليها من العالق الكونيدي غيـر المعـرض لاشـعة الـشمس (السيطرة السالبة)، ومقارنةً بعينة السيطرة الموجبة والمتمثلة بالعقار ميثوكـسي سـورالين (8 - MOP) والمعروف بقدرته التطفيرية العالية في الفطريات بوجود الاشعة فوق البنفسجية القريبة (NUV) تبـين ان متوسط تكرار الطافرات الجينية المقاومة للازاكوانين والمستحثة بفعل اشعة الشمس وللفترتين الزمنية 60 و 90 دقيقة مشابهاً للتأثير التطفيري للعقار MOP – 8 مع NUV.

The Mutagenic Effect of Sunlight on the Fungus *Aspergillus amstelodami*

Rafia K. Girges **Gehan M. Saeed**

Department of Biology
College of Education
Mosul University

ABSTRACT

In the present research the mutagenic action of direct sunlight at the mid-day of summer had been tested on the conidia of the fungus *Aspergillus amstelodami* and its effect was compared to that from far-ultraviolet (FUV) and from 8 – methoxypsoralen

plus near -ultraviolet (8–MOP + NUV). The conididal suspension of *A.amstelodami* was exposed to sunlight at four exposure times (20, 40, 60 and 90 min) were tested, and then plating on selective media which contain 8–azaguanine to select azaguanine resistant mutant.

All the four treatments had produced mutant frequencies significantly higher than the spontaneous one, which represented the negative control (zero-min.).

The effect of the direct sunlight for 60 min. and 90 min. exposure time resembled that of 8–MOP plus NUV. This was used as positive control.

المقدمة

من المعروف ان ضوء الشمس ضروري جداً لكل أشكال الحياة على الارض ولكن في الوقت نفسه له تأثيرات سلبية وقد تكون أخطر مما يظن معظم الناس. وقد باتت فكرة العلاقة الوثيقة بين سرطان الجلد والتعرض لاشعة الـشمس مقبولـة تمامـاً وبخاصـة مـن المجتمعـات فـي ذوي البـشرة البيـضاء (Elwood et al., 1984). ومؤخراً تأكد ان مـدى حـدوث سـرطان الجلـد مـن نـوع (Basel Cell Carcinoma) يرتبط بالتعرض المبكر لاشعة الشمس اثناء الطفولة (Brash et al., 1991). كما ان هناك انواعاً اخرى من سرطان الجلد تنشأ نتيجة التعرض المتراكم لاشعة الـشمس مثـل (Squamous Cell Carcinoma) وان معدل حدوث الميلانوما الخبيث (Malignant melanoma) يظهر بشكل كبيـر عنـد الاشخاص الذين يتعرضون لضوء الشمس وبشكل متقطع ويـزداد كلمـا اقتربنـا مـن خـط الاسـتواء (Elwood et al., 1984). واستناداً الى جمعيـة الـسرطان الامريكيـة (American Cancer Society, 1999) فان معدل حدوث سرطان الجلد يفوق كل انواع السرطان الاخرى مثل سـرطان الثـدي والرئـة والامعاء والبروستات وفي كل سنة يتم تشخيص 1.3 مليون حالة جديدة لسرطان الجلد.

ان أشعة الشمس قد تحدث عطباً في خلايا الجلد في مراحل مبكرة من العمر وبعد عقد أو عقـدين من الزمن يتطور هذا العطب الى سرطان الجلد، وهذا يفسر تطور حرقة الـشمس التـي يتعـرض لهـا الصبيان أثناء الصيف على الشواطئ المشمسة الى سرطان الجلد عند البلـوغ (Lynda, 2003; Khlat, 1992)، اذ ان خلايا الجلد تستغل معظم هذا الوقت في تجميع الطفـرات الضرورية لنـشوء الـسرطان وهـذا يعتمد على الصفات الوراثية التي يحملها الفـرد مثل نـوع الجلد وفعالية انظمة اصـلاح الـ DNA فـي خلايا الجلد (Armstong and Kricker, 1993). ان التجارب التي أجريت علـى الفئـران المختبرية تؤكد على ان طيف الاشعة فوق البنفسجية الموجود في ضوء الشمس بشكل خاص هو المسؤول عن الاصابة بسرطان الجلد (David, 1994)اذ ان من الطاقة الشمسية الكلية التي تصل الى سطح الارض حوالي 5% تمثل الاشعة فوق البنفسجية (UV، 190- 400 نانوميتر) (Cathrine and Taylor, 1994). وقد صنف العلماء ضوء الاشعة فوق البنفسجية الى ثلاثة أقسام حسب الاطوال الموجيـة (Sage, 1993)، UVA (320-400 نانوميتر) وقـد أظهرت هـذه الاشعة تأثيراً مطفراً في الخلايا المزروعة (Tyrell and Keyes,1990) وتأثيـراً مسرطناً فـي فئـران المختبر (Alapetite et al., 1996). وتشترك فـي

توليد جذور حرة احادية لكل من الاوكسجين والهيدروكسيل وهذه تحدث تخريباً في جزيئات البروتين والدهون والكربوهيدرات وبشكل أساسي جزيئات الـ DNA مما قد يؤدي الى حدوث الطفرات وبذلك تساعد في نشوء سرطان الجلد (Armstong and Kricker, 1993). وقد وجد ان لهذه الاشعة علاقة بـ 67% من حالات سرطان الجلد المعروف باسم سرطان الشامة (Malignant melanoma). UVB (280-320) نانوميتر فضلاً عن كونها المسؤول الرئيسي عن سرطان الجلد وبشكل خاص المعروف باسم (Non-melanoma)، و UVB تحدث طفرات في الجينات المسرطنة (Oncogenes) والجينات الكابحة للسرطان (Tumor suppressor genes) وبالاخص الجين P_{53} (Drobetsky et al., 1993). وان جزءاً كبيراً من هذه الاشعة يحجز من قبل طبقة الاوزون. UVC (190-280 نانوميتر) وهي قصيرة الموجة وتمتص كلياً من قبل طبقة الاوزون وتستخدم لاغراض التعقيم لقدرتها الهائلة على قتل الكائنات الحية الصغيرة بما فيها الاحياء المجهرية، كما انها معروفة بقدرتها التطفيرية العالية ولذلك فهي مسرطنة جداً (Sage, 1993).

ان الاشعة فوق البنفسجية تحدث عطباً (Photolesion) في الـ DNA من خلال تكوين دايمرات البريمدين (Py < > Py) بين قواعد البرمدين المتجاورة. وعدت دايمرات الثايمين لسنوات طويلة العلامة المميزة لعطب الـ DNA بفعل الاشعة فوق البنفسجية الا ان الباحثين أشاروا فيما بعد الى ان التعرض للاشعة فوق البنفسجية يؤدي الى توليد جذور الاوكسجين (Oxygen radicals) والتي تحدث عطباً في الـ DNA قد يؤدي الى احداث الطفرة (Venitt and Parry, 1984).

الهدف من البحث

يهدف البحث الى دراسة التأثير التطفيري لاشعة الشمس في الفطر اسبرجلس امستبلودامي وذلك من خلال الحصول على طفرات أمامية جينية مقاومة للعقار 8-azaguanin ومستحثة بفعل الاطوال الموجبة المطفرة الموجودة في اشعة الشمس. والعقار (8-azg) هو نظير للقاعدة النيتروجينية الطبيعية الكوانين ولكنه سام للفطر *A. amstelodami* في حدود التركيز 10 مايكروغرام/مل من الوسط (Girges, 1999).

المواد وطرائق العمل

1-كائن الاختبار:

أجريت جميع التجارب باستخدام السلالة (wA_1) A_1 من الفطر الكيسي *Aspergillus amstelodami* وقد تم الحصول عليها من الدكتور ساهي جواد ضاحي، قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة الموصل.

2-الاوساط الزرعية وظروف الزرع:

ان ظروف الزرع والاوساط الزرعية التي تم اعتمادها في هذا البحث هي كما وصفها Caten (1979) اذ تم استخدام وسطين أساسين لاغراض النمو وهما الوسط الادنى غير المعضد (Minimal medium) ويرمز له (M) وقد اجريت جميع الاختبارات على هذا الوسط مضافاً اليه مواد الاختبار. كما أستخدم وسط مستخلص الشعير-ملح الطعام (Malt extract-Salt medium) ويرمز له (MTS) وهذا الوسط أستخدم للحصول على أكبر عدد من الكونيدات. وللحصول على نمو سريع يضاف للوسط الغذائي محلول الاضافة الكاملة (Complete supplement) ويرمز له © وبتركيز نهائي قدره 5% (حجم/حجم) ومكونات الاضافة الكاملة عبارة عن مزيج من الاحماض الامينية ومعظم الفيتامينات والادنين. وللحصول على مستعمرات عديدة ومنفردة يضاف الى الوسط الغذائي الملح Sodium deoxycholate (D) وبتركيز نهائي في الوسط مقداره 400 مايكوغرام/مل من وسط النمو في حالة الفطر *A. amstelodami* (Shnawa , 1996).وكان الرقم الهيدروجيني للاوساط الزرعية بعد التحضير بحدود 6. ويتم تحضين المزارع الفطرية بدرجة حرارة 30 م° وهذه هي الدرجة الحرارية المثلى لنمو الفطر اسبرجلس امستيلودامي (Caten, 1979)أما مدة التحضين فكانت ستة أيام لدراسة التأثير التطفيري وأربعة أيام للحصول على الكونيدات لتحضير العالق الكونيدي لاجراء الاختبارات المختلفة.

3-الكيميائيات:

3-1.نظير الكوانين (8 -azaguanine):

تم تحضير محلول خزين لهذا المركب بتركيز قدره 5000 مايكروغرام/مل ،(Hoffman and Malling, 1974) ويستعمل بتركيز نهائي قدره 50 مايكروغرام /مل من الوسط الغذائي لعزل الطافرات.

3-2 .الميثوكسي سورالين (8- methoxypsoralen):

وقد تم تحضير محلول خزين منه بتركيز قدره 400 مايكروغرام/مل (Alderson and Scott, 1970) ويستخدم بتركيز نهائي قدره 40 مايكروغرام /مل من الوسط الغذائي.

4-مصباح الاشعة فوق البنفسجية قصيرة الموجة UVC:

وهو من نوع (NOP189,Scottish scientific) المجهز من قبل شركة Philip Haris والذي يطلق اشعة غالبيتها بطول موجي قدره 253.7 نانوميتر.

5-مصباح الاشعة فوق البنفسجية طويلة الموجة NUV:

وهو من نوع Abnehmbar. Removable UV, 254/366 nm والمجهز من قبل شركة DESAGA الالمانية.

6- تحضير العالق الكونيدي:

تم تحضير العالق الكونيدي من مزرعة حديثة بعمر أربعة أيام مزروعة على الوسط (CMTS) وهذه المزرعة أصلها مستعمرة واحدة نامية على الوسط (CMD). وقسد جرى تحضير العالق الكونيدي وحساب العدد الحي للكونيدات في العالق الكونيدي وكذلك عزل الطافرات وحساب تكرارها كما مبين من قبل(Girges, 1999).

7- عينات السيطرة:

لقد تركز البحث الحالي حول دراسة الاثر الطفري لاشعة الشمس المباشرة وتضمنت الدراسة ثلاثة أنواع من السيطرة وهي السيطرة السالبة (Negative control) ويمثلها العالق الكونيدي غير المعرض لاشعة الشمس.وكانت المعاملة صفر تمثل هذه السيطرة والطفرات المتحصلة من هذه المعاملة تمثل الطفرات التلقائية. كما تضمنت الدراسة ادخال سيطرة معروفة في تأثيرها التطفيري وقد أستخدم العقار 8-methoxypsoralen (8-MOP) والمعروف بتأثيره التطفيري في كونيدات الفطريات عند تفاعله مع الاشعة فوق البنفسجية القريبة (NUV) (Alderson and Scott, 1970) وعدت هذه السيطرة موجبة. كما أستعملت الاشعة فوق البنفسجية قصيرة الموجة. (FUV) والمعروفة بقدرتها التطفيرية العالية في البكتريا والفطريات (Habash, 1983)وأعتبرت هذه سيطرة موجبة ثانية.

8- دراسة الاثر الطفري لاشعة الشمس:

لقد تم اجراء هذه الدراسة في أواخر شهر تموز وأوائل شهر أب وفي منتصف النهار وكانت درجات الحرارة للمكررات الثلاثة للتجربة تتراوح بين 47-53 م° .

وقد تمت دراسة التأثير التطفيري لاشعة الشمس بطريقة المعاملة المسبقة اذ جرى تحضير 100 مل عالق كونيدي من مزرعة حديثة بعمر أربعة أيام وبكثافة مقدارها حوالي10^7 كونيدة/مل. نقلت عينة من العالق بحجم 5 مل الى قنينة صغيرة ومعقمة وتركت في المختبر دون تعريض لاشعة الشمس لتمثل المعاملة صفر (السيطرة السالبة) بينما نقل بقية العالق الى طبق بتري نظيف ومعقم ونقل الطبق الى سطح البناية بعيداً عن الحركة والغبار ووضع الطبق مكشوفاً على منضدة ارتفاعها حوالي متر وموضوعة تحت الشمس المباشرة وقد تم تعقيم سطحها جيداً، ويتم مزج العالق بين حين وآخر بوساطة ماصة معقمة، ثم أخذت عينات من العالق لدراسة الاثر التطفيري لاشعة الشمس بعد مرور 20، 40، 60 و 90 دقيقة على التوالي ونقلت هذه العينات الى داخل المختبر ليصبح لدينا خمسة عينات بضمنها العينة صفر التي لم تعرض لاشعة الشمس وتمثل كل عينة العالق الكونيدي ذي التخفيف 10^0 للمعاملة المدروسة. ولكل من العينات الخمسة تم تحضير تخافيف متسلسلة لغاية 10^{-5} لغرض دراسة العدد الحي لكل معاملة بعد ان يتم تلقيح طبقي MD بـ 0.1 مل من التخفيف 10^{-5} لكل معاملة. كما تم تلقيح طبقي MD+ 8-azg بـ 0.5 مل من التخفيف 10^0 لكل من المعاملات الخمسة لعزل الطافرات المقاومة للازاكوانين والمستحثة بفعل

اشعة الشمس، ونقلت جميع المعاملات الى الحاضنة بدرجة 30 مº ولمدة ستة أيام ثم تم حساب تكرار حدوث الطافرات لكل معاملة كما موضح في (Girges, 1999).

وللتأكد من ان الطافرات المقاومة والمستحثة التي تم الحصول عليها كانت بفعل تأثير أشعة الشمس وليس بفعل تأثير درجة الحرارة أثناء اجراء التجربة (اذ كانت درجات الحرارة تتراوح بين 47-53 مº) فقد تم تحضيرعالق كونيدي من مزرعة حديثة بعمر أربعة أيام ووضع العالق في الحاضنة بدرجة 53 مº (بعد ان أخذت منه عينة لتمثل المعاملة صفر) ويتم مزج العالق بين حين وآخر ثم أخذت عينات من العالق بعد مرور 20، 40، 60 و 90 دقيقة على التوالي، وتم تحضير تخافيف متسلسلة لكل معاملة لغاية 10^{-5} ولقح طبقان من MD بـ 0.1 مل من التخفيف 10^{-5} لكل معاملة لحساب العدد الحي كما تم تلقيح طبقتي MD+8- azg بـ 0.5 مل لكل طبق من التخفيف 10^{0} لكل معاملة لحساب عدد الطافرات، ووضعت جميع المعاملات في الحاضنة بدرجة 30 مº ولمدة ستة أيام وجرى بعد ذلك حساب تكرار حدوث الطافرات لكل معاملة من المعاملات الخمسة.

النتائج والمناقشة

كانت النتائج كما مبينة في الجدول (1) اذ تراوح متوسط تكرار الطافرات المقاومة للازلكوانين والمستحثة بفعل اشعة الشمس وللفترات الزمنية الاربعة المدروسة بين (2.80×10^{-7}) للفترة الزمنية 20 دقيقة و (8.03×10^{-7}) للفترة الزمنية 90 دقيقة. بينما كان متوسط تكرار الطافرات التلقائية أي الفترة الزمنية صفر (1.24×10^{-7})، وهذا يشير وبشكل واضح الى وجود تأثير تطفيري لاشعة الشمس في كونيدات الفطر. وكما موضح في الجدول (1) بزيادة الفترة الزمنية لتعريض الكونيدات لاشعة الشمس هناك زيادة واضحة في متوسط تكرار الطافرات المقاومة للازلكوانين والمستحثة بفعل اشعة الشمس عن متوسط تكرار الطافرات التلقائية وعند اجراء التحليل الاحصائي باستعمال اختبار (t) وتحت مستوى معنوية 5% على النتائج المبينة في الجدول (1) تبين عدم وجود فرق معنوي بين متوسط تكرار الطافرات المقاومة للازلكوانين والمستحثة بفعل اشعة الشمس لكل من الفترتين الزمنية 20 و 40 دقيقة واللتين كانتا (2.80×10^{-7} و 3.54×10^{-7}) على التوالي وبين متوسط تكرار الطافرات التلقائية أي المعاملة صفر (1.24×10^{-7}) اذا كانت قيمة t المحسوبة للفترة الزمنية 20 دقيقة (1.9745) وللفترة الزمنية 40 دقيقة (2.583) والقيمتان كلتاهما اصغر من قيمة t الجدولية (4.303) وبهذا يمكن القول ان تعريض الكونيدات لاشعة الشمس لغاية 40 دقيقة ليس له تأثير تطفيري ذو اهمية. وقد يعود السبب لكون الفترة الزمنية للمعاملتين 20 دقيقة و 40 دقيقة ليست كافية للاطوال الموجية المطفرة الموجودة في ضوء الشمس لاحداث العطب الذي يؤدي الى نشوء الطفرة.

أو قد تكون الاطوال الموجية المطفرة الموجودة في ضوء الشمس قد أحدثت اضراراً في الـ DNA ولكن هذه الاضرار ليست كبيرة مما يسهل عملية اصلاحها بفعل أنزيمات الاصلاح مثل

انزيمات التفاعـل الـضـوئي (Photoreactivating enzymes) والتـي تـسمى DNA Photolyase (Sancar, 1996). علماً ان الاطوال الموجية المطفرة الموجودة في ضوء الشمس والتـي لهـا تـأثيرات بايولوجية على الكائنات الحية تشمل كـل مـن طيف الاشعة فوق البنفسجية UVA وجـزء مـن UVB (Long UVB) فقط.

الجدول 1: تكرار الطافرات ($\times 10^{-7}$) المقاومة للآزاكـوانين والمـستحثة فـي كونيـدات الفطـر *Aspergillus amstelodami* بعد تعريضها لاشعة الشمس ولفترات زمنية مختلفة.

1- الزمن بالدقيقة	المكررات			المعدل
	R_1	R_2	R_3	
a-صفر	2.08	0.88	0.77	1.24
20-b	4.21	1.71	2.47	2.80
40-c	5.34	1.91	3.36	3.54
60-d	7.81	3.08	7.58	6.16
90-e	7.84	8.55	7.70	8.03
NUV+8-MOP-2				
a- التلقائية	0.15	0.67	0.26	0.36
b- المستحثة	7.40	7.92	6.95	7.32
FUV-3				
a- التلقائية	0.33	0.39	1.57	0.76
b- المستحثة	500.38	400.81	500.50	500.23

أما UVC وجزء كبير من UVB (Short UVB) يتم امتصاصها من قبل طبقة الاوزون.

أما بالنسبة للفترات الزمنية 60 و 90 دقيقة فقد أعطت تأثيراً تطفيرياً واضحاً وقـد أكـدت نتـائج التحليل الاحصائي باستخدام اختبار (t) معنوية هذا التأثير، اذ تبين وجـ ـود فرق معنـوي بين متـوسط تكرار الطافرات المقاومة والمستحثة للفترة الزمنية 60 دقيقة (6.16×10^{-7}) وبين متوسط تكرار للطافرات التلقائية (1.24×10^{-7}) اذا كانت قيمة t المحسوبة (4.554) وهذه اكبر من قيمـة t الجدوليـة (4.303) وكذلك بالنسبة للفترة الزمنية 90 دقيقة اذ كان متوسط تكرار الطـافرات المقاومـة والمـستحثة مقـداره (8.03×10^{-7}) وهذا اكبر بكثير من متوسط تكرار حدوث الطافرات التلقائية (1.24×10^{-7}) واظهـرت نتائج التحليل الاحصائي وجود فرق معنوي كبير بين متوسط تكرار الطافرات المقاومة والمستحثة للفتـرة الزمنية 90 دقيقة وبين متوسط تكرار الطافرات التلقائية ، اذا كانت قيمة t المحـسوبة (11.308) وهـذه اكبر بكثير من قيمة t الجدولية (4.303) وهذه النتائج تشير الى انه عند تعريض الكونيدات لاشعة الشمس للفترتين 60 و 90 دقيقة فان الاشعة فوق البنفسجية (Long UVB وUVA) الموجودة في ضوء الـشمس قد تم امتصاصها بشكل مباشر من قبل الـ DNA (Alapetite,1996)واستطاعت هذه الاشعة ان تحـدث

عطباً ضوئياً في الـ DNA (DNA Photo-lesion) وهذا العطب يشمل بالاساس كـل مـن دايمـرات البريميـدين (Pyrimidine dimer Cyclobutane) وقـد تتكـون مركبـات ضـوئية تعـرف بأسـم Photoproducts (6-4) بعد أن ترتبط جـزيئتي البريمـ ـ ـدين المتجـ ـاورة بأصـ ـرة بـين 6 – Cلاحدهما و 4 – C للاخرى.

هذا فضلاً عن ان هذه الاطوال الموجية قد تحدث تحويرات ضـوئية (Photomodification) فـي القواعد النيتروجينية مما ينتج عنها ازدواجات مغلوطة اثناء عملية التضاعف تؤدي الى نـشوء الطفـرة (Sage,1993)كما ان هناك اضراراً وراثية لكل مـ ـ ـن UVA و UVB تعتمد على وجود الاوكـسجين مثل احداث كسر في احدى سلاسـل الـ ـ DNA (Single strand breaks) (Friedberg et al., 1995) وهذه ايضاً لها تأثيرات مطفرة ويعقبها تأثير مسرطن (Breimer, 1990) وقـد أظهـرتUVA تـأثيراً مطفراً فـي الخـلايا المزروعة وتأثيراً مسرطناً تماماً فـي خـ ـلايا القـوارض (Drobetsky et al., 1995). وتشير الدراسات الى ان UVA فعالة في اختراق الطبقة القاعدية لبشرة جلـد الانـسان حيـث يستحث التسرطن الضوئي (Photo carcinogenesis) من خـلال احـداث الطـفرات (Sage, 1997)، الا ان دايمرات البريميدين التي تحدثها (Long UVB) في خلايا الطبقة القاعدية للبشرة تكون اكثر بـ ـ 50 مرة مما تحدثه UVA، ولذلك فان التأثير المطفر والمسرطن لضوء الشمس بشكل رئيسي سببه UVB الموجودة في الاشعاعات التي تصل الى الارض الا انه لا يمكن تجـاهل دور الـ UVA فهي عامل مهم فـي احداث تخريب في الـ DNA عند تعـرض الانسان لفتـ ـرات طويلة لهذا المـدى مـن الطـول الموجي (Sage, 1997)، ومـن هـذا تبين ان العطب الذي أحدثته كـل مـن (Long UVB و UVA) والموجودة في ضوء الشمس في كونيدات الفطر اسبرجلس امستيلودامي للفترات الزمنية 60 و 90 دقيقـة كان كبيراً بحيث عجزت أنظمة اصلاح الـ ـ DNA المباشـرة (Direct repair) الخاليـة مـن الخطـأ (Error-free) عن اصلاح العطب مما يستدعي انظمة اصلاح اخرى للعمل والتي لا تخلو مـن الخطـأ (Error-prone) مثل نظام الاصلاح بالقص ونظـام SOS الـذي يـساعد علـى بقـاء الخليـة حيـة (Sancar, 1996) ولكن مع وجود الطفرة، وهذه النتائج تؤكد أهمية الفترة الزمنية والفصل السنوي والوقت من النهار في استحداث الطفرات بفعل اشعة الشمس وهذا ما يفسر سبب تعرض المـزارعين والبنـائين، والذين يعملون لفترات طويلة تحت اشعة الشمس، لخطر الاصابة بسرطان الجـلد اذ انهـم يتعرضـون الـ ـى جرع كبيرة من (Long UVB و UVA) وهذه تحدث عطباً في الـ DNA لخلايا الجلد وبمرور الزمن تتراكم الطفرات في هذه الخلايا مما يؤدي الى نشوء السرطان بعد عقـد او عقـدين مـن الـزمن (Gallagher et al., 1995) وعند مقارنة التأثير التطفيري لاشعة الشمس بالتاثير التطفيري للاشعة فـوق البنفسجية القصيرة الموجة (FUV) بأعتبارها سيطرة موجبة نلاحظ ان متوسط تكرار الطافرات المقاومة للازلكوانين والمستحثة بفعل (FUV) كان (5.23×10^{-5}) وهذا اكبر بكثير من معدل تكرار الطـافرات

المقاومة والمستحثة بفعل اشعة الشمس وللفترات الزمنية الاربعة المعتمدة في التجربة والمبينة في الجدول (1).

أما عند مقارنة التأثير التطفيري لاشعة الشمس بالتأثير التطفيري للعقار الميثوكسي سورالين (8-MOP) والمعروف بقدرته التطفيرية في الفطريات بوجود الاشعة فوق البنفسجية (NUV) (Alderson and Scott, 1970)، وقدرته التسرطنية لجلد الانسان (Bredberg,1982)، نلاحظ ان المعاملتين 20 دقيقة و 40 دقيقة قد أعطت تأثيراً طفرياً أقل من التأثير التطفيري للعقار 8-MOP بوجود NUV أما الفترتين 60 دقيقة و 90 دقيقة فقد أعطت تأثيراً مطفراً تقريباً مماثلاً للتأثير التطفيري للعقار NUV+8-MOP كما مبين في الجدول (1).

وللتأكد من أن الزيادة في متوسط تكرار الطافرات المقاومة والمستحثة المبينة في الجدول (1) هي بفعل الاشعة فوق البنفسجية الموجودة في ضوء الشمس وليس بفعل درجات الحرارة التي تعرضت لها الكونيدات اثناء تعريضها لاشعة الشمس والتي كانت تتراوح بين 47-53 م° فقد تم اجراء تجربة لاختبار القابلية التطفيرية لدرجة 53 م° في كونيدات الفطر اسبرجلس امستيلودامي وللفترات الزمنية نفسها التي أعتمدت في التجربة السابقة 20، 40، 60 و 90 دقيقة فضلاً عن المعاملة صفر وكانت النتائج كما مبينة في الجدول (2) اذ كان متوسط تكرار الطافرات المقاومة والمستحثة للفترتين 20 و 40 دقيقة أقل من متوسط تكرار الطافرات التلقائية (2.26×10^{-7}) أما الفترتين 60 و 90 دقيقة فقد أظهرت تأثيراً مطفراً في كونيدات الفطر تقريباً مماثلاً لمتوسط تكرار الطافرات التلقائية. لذا يمكن القول بان الزيادة في تكرار حدوث الطافرات المقاومة والمستحثة في الجدول (1) عند تعريض الكونيدات لاشعة الشمس كان بفعل أشعة الشمس وما تحويه من أطوال موجبة مطفرة وليس بفعل درجة الحرارة.

الجدول 2: تكرار الطافرات ($\times 10^{-7}$) المقاومة للآزاكوانين والمستحثة في كونيدات الفطر *Aspergillus amstelodami* بعد تعريضها لدرجة حرارة 53 °م ولفترات زمنية مختلفة.

الزمن بالدقيقة	المكررات		المعدل
	R_1	R_2	
1-صفر	3.42	1.10	2.26
2-20	2.31	1.03	1.67
3-40	2.46	1.63	2.04
4-60	3.40	1.50	2.45
5-90	3.63	1.30	2.46

المصادر الاجنبية

Alapetite, C., Wchter, T., Sage, E. and Moustacchi, E., 1996. Use of the alkaline comet assay to detect DNA repair deficiencies in human fibroblast exposed to UVC, UVA and Y rays. INT.J. Radiat. Biol., Vol.69, No.3, pp.359-369.

Alderson, T. and Scott, B.R., 1970. The photosensitising effect of 8-MOP on the inactivation and mutation of Aspergillus conidia by near ultraviolet light. Mutat. Res., Vol.9, pp.569-578.

Armstong, B.K. and Kricker, A., 1993. How much melanoma is caused by sun Melanoma Res., Vol.3, pp.395-401.

Brash, D.E., Rudolph, J. A. and Simon, J.A., 1991. Arole for sunlight in skin cancer-UV-induced P53 mutation in squamous cell carcinoma. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 88: 10124-8.

Bredberg, A., 1982. Genetic toxicity of Psoralen and Ultraviolet radiation in human cells. Acta Dermato-Venereologica (Stockholm), Supplementum, pp.104.

Briemer, L.H., 1990. Molecular mechanisms of oxygen radical carcinogenesis and mutagenesis: The role of DNA damage. Mol. Carcinog., Vol.3, pp.188-197.

Caten, C.E., 1979. Genetical determination of conidial colour in *Aspergillus hetrocaryoticus* and relationship of this species to *Aspergillus amstelodami*. Trans. Bri. Mic. Soc., Vol.73, pp.65-74.

Cathrin, C.A. and Taylor, H.R., 1994. The effect of sunlight on the eye and the role of prevention. Modern Medicine of Australia, May, pp.58-64.

David, N., 1994. Sickle Cell Anemia and other Good Mutation of Evolution St. Louis – Metro Voice, March, Vol.4, No.3.

Drobetsky, E.A., Turcott, J. and Chateauneuf, A., 1995. Arole for ultraviolet in solar mutagenesis. Proc. Natl. Acad. Sci: USA, Vol.92, pp.2350-2354.

Elwood, J.M., Gallagher, R.P. and Hill, G.B., 1988. Pigmentation and skin reaction to sun as risk factors for cutaneous melanoma, Western Canada Melanom Study. BMJ, Vol.288, pp.99-102.

Friedberg, E.C., G.C. Walker and C. Siede, 1995. DNA repair and mutagenesis. ASM, Washington, D.C.

Gallagher, R.P., Hill, G.B. and Bajdik, C.D., 1995. Sunlight exposure, Pigmentation factors and risk of non-melanocytic cancer. Arch. Dermatol., Vol.131, pp.164-169.

Girges, R.K., 1999. Mutagenicity of Trisoralen (TMP) and NUV in *Aspergillus amstelodami*. Ph.D. Thesis, University of Mosul, Iraq. In Arabic with English abstract.

Hoffman, G. R. and Malling, H.V., 1974. Mutants of Neurospora crassa resistant to 8–azaguanine. J. Gen. Microbiol., Vol.83, pp.319–326.

Habash, R.W., 1983. Bioeffect of the nonionizing electromagnetic fields. B.Sc. Thesis, University of Mosul, Iraq.

Khlat, M., Vail, A., Parkin, M. and Green, A., 1992. Mortality from melanoma in migrants to Australia: Variation by age at arrival and duration of stay.Am.J. Epidemiol., Vol.135, pp.1103-1113.

Lynda chin, M.D., 2003. Study Sheds Light on how the sun causes skin cancer. News and Publication, January, 30.

Sage, E., 1993. Distribution and repair of photolesions in DNA. Photochem. Photobiol., 579, pp.163-174.

Sage, E., 1997. Mutational speciticity of solar ultraviolet light in rodent cells: Implication of photolesions and repair. Trends. Photoch. Photobiol., Vol.4, pp.117-123.

Sancar, A., 1996. DNA Excision Repair. Annu. Rev. Biochem. 65: 43-81.

Shnawa, I.M.S. 1996. Mutagenicity of Benlate and 2,4-D in *Aspergillus amstelodami*. Ph.D. Thesis, University of Mosul, Iraq. In Arabic with English abstract.

Tyrell, R.M. and Keyes, S.M., 1990. The interaction of UVA radiation with cultured cells.J. Photochem. Photobiol., Vol.4, pp.349-351.

Venitt, S. and Parry, J.M., 1984. Background to mutagenicity testing. Apractical approach. Edited by S. Venitt and J.M. Parry, Oxford. IRL press.