ژنتیک نوین
دوره دهم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۴
صفحه ۱۹۴-۱۸۵

# ارزیابی تاثیر دوز، زمان و نوع پرتوهای ماورا بنفش B و C بر آسیب DNA در تخم چشم زده و لارو در حال جذب کیسه زرده ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) به روش آزمون کامت قلیایی

# Assessment of dose and time dependant DNA damage induced by ultraviolet -B and C radiation on egg and larvae of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by alkaline Comet assay

پروانه سامانی[۱]، محمدرضا کلباسی مسجدشاهی[*۱]

۱- به ترتیب دانشجوی کارشناسی‌ارشد، استاد، دانشگاه تربیت مدرس

**Samani P[1] , Kalbassi Masjedshahi MR[*1]**

1. MSc Students, Professor, Tarbiat Modares University

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: kalbassi_m@modares.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۳/۶/۱۹- تاریخ پذیرش: ۹۴/۲/۱۵)

## چکیده

**پرتوها به واسطه اثرات مخربی که بر DNA موجودات دارند، به عنوان عوامل محیطی تنش‌زا موجب بسیاری از تغییرات فیزیولوژیک از جمله تاثیر بر اسپرم، کاهش لقاح و بدشکلی جنین ماهیان می‌شوند. هدف از این مطالعه، ارزیابی تاثیر دوز و مدت زمان پرتوماورا بنفش بر آسیب‌های DNA در ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بود. در این خصوص تاثیر دوزهای متفاوت پرتوهای ماورا بنفش نوع B (۱۰، ۴۰، ۸۴ و ۱۵۳ $\mu w/cm^2$) و C (۱۵، ۵۵، ۹۰ و ۱۹۶ $\mu w/cm^2$) در زمان‌های متفاوت پرتودهی (۳۰ و ۶۰ دقیقه) بر آسیب‌های ایجاد شده در DNA جنین و لارو ماهی قزل آلای رنگین کمان به روش الکتروفورز سلول‌های منفرد یا کامت قلیایی (Comet assay) ارزیابی شد. نتایج نشان دهنده رابطه خطی میان میزان دوز پرتو با آسیب DNA می‌باشد، به طوری‌که با افزایش میزان دوز پرتو، میزان آسیب DNA در لارو و تخم چشم زده به صورت معنی‌داری افزایش یافت. همچنین حساسیت لارو در مقایسه با تخم چشم زده بیشتر بوده که احتمالا به دلیل لایه کوریونی تخم یا فضای پرویتیلین تخمک می‌باشد که جنین را از تاثیرات این پرتو حفظ می‌کند. با افزایش مدت زمان پرتوماورا بنفش از ۳۰ به ۶۰ دقیقه، افزایش قابل ملاحظه‌ای در میزان آسیب DNA در تخم و لارو قزل آلای رنگین کمان مشاهده نشد. نتایج این مطالعه ضمن تایید کارآیی روش کامت قلیایی در ارزیابی آسیب DNA جنین و لاروی نشان داد که دوز پرتوهای مورد مطالعه اثرات مخرب بیشتری نسبت به زمان پرتودهی داشته و شدت این آسیب‌ها در مرحله لاروی بیش از مرحله جنینی است. یافته‌های مذکور در به کارگیری این پرتوها در فرایند اصلاح نژاد ماهیان لازم است مدنظر قرار گیرد.**

**واژه‌های کلیدی**

**آسیب DNA**
**قزل‌آلای رنگین کمان**
**الکتروفورز سلول‌های منفرد**
**پرتو ماورا بنفش**

[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084439.1394.10.2.5.3 ]

## مقدمه

پرتو ماورا بنفش به واسطه اثرات مزمنی که بر موجودات زنده دارد، به عنوان عامل تنش‌زای قوی زیست محیطی شناخته شده است. انواع مختلف پرتوهای ماورا بنفش (ماورا بنفش خلاء با طول موج کمتر از ۲۰۰ نانومتر، ماورا بنفش C با طول موج بین ۲۰۰ و ۲۸۰ نانومتر، ماورا بنفش B با طول موج بین ۲۸۰ و ۳۲۰ نانومتر و ماورا بنفش A با طول موج بین ۳۱۵ و ۴۰۰ نانومتر) بر موجودات زنده اثرات متفاوت دارند. با وجود موانع و محافظ‌های محیطی مانند اکسیژن و ازون استراتوسفری، ماورا بنفش A و ماورا بنفش B به بیوسفر می‌رسند، در حالی که ماورا بنفش C به شدت توسط اکسیژن و ازون استراتوسفری جذب شده و به سطح زمین نمی‌رسد. پرتو ماورا بنفش B در محیط آبی می‌تواند تا عمق ۳۰- ۲۰ متری نفوذ کرده و به عنوان یکی از عوامل خطر ساز در محیط‌های آبی معرفی شده است (Dahms and Hellio 2010).

روش عملکرد انواع پرتوهای ماورا بنفش متفاوت بوده و قرار گرفتن موجودات در معرض پرتوهایی با طول موج کوتاه‌تر، باعث سطوح بالاتر تنش اکسیداتیو و آسیب بیشتر DNA می‌شود (Lesser and Barry 2006). به همین دلیل تمرکز بیشتر مطالعات بر اثرات مخرب پرتوماورا بنفش B و ماورا بنفش C می‌باشد. با توجه به این که پرتو ماورا بنفش C کاملا جذب شده و به سطح زمین نمی‌رسد، بیشتر مطالعات بر روی تاثیر پرتو ماورا بنفش B می‌باشد (Adams and Shick 2001).

تعامل فیزیکی و شیمیایی پرتو با DNA سلولی باعث تولید انواع ضایعات اولیه از قبیل ایجاد شکستگی در تک رشته (SSB) یا دو-رشته (DSB)، شکست پیوندهای پروتئینی DNA و آسیب به پایگاه پورین و پریمیدین و ایجاد دایمر می‌شود (Browman et al. 2003). همچنین شکستگی دو رشته DNA منجر به از دست دادن اطلاعات ژنتیکی شده و ممکن است کشنده باشد (Kumari et al. 2008).

حساسیت به پرتو ماورا بنفش معمولا در مراحل اولیه رشد بیشتر از سایر مراحل تکاملی است. پرتو ماورا بنفش موجب کاهش ضربان قلب و اختلال در تنفس لارو ماهی (Freitag et al. 1998)، کاهش موفقیت تفریخ (Bass and Sistrun 1997)، تأخیر در رشد و بروز ناهنجاری در لارو و در نهایت باعث افزایش مرگ و میر در تخم، جنین و لارو ماهی می‌شود (Kouwenberg et al. 1999).

روش‌های مختلفی از قبیل (Polymerase Chain Reaction (PCR)، Halo assay، TUNEL assay، Fluorescence in situ hybridization (FISH)، Immunological assay، Electrochemical methods، Flowcytometry (FCM) و Comet assay در ارزیابی آسیب DNA گزارش شده است (Kumari et al. 2008).

الکتروفورز سلول‌های منفرد به عنوان تکنیکی ساده و سریع برای اندازه‌گیری آسیب DNA مطرح شد. Singh et al. (1988) این روش را در شرایط قلیایی بالا (pH>13) که حساسیت بالاتری به تشخیص سطوح‌های کم آسیب DNA دارد، گزارش کردند Olive (et al. 2002). میزان آسیب اندازه‌گیری شده نمایانگر شکستگی دو رشته یا یک رشته DNA، کراس لینک درون سلولی و آسیب در بازهای DNA می‌باشد (Lemay and Wood 1999). در سنجش الکتروفورز سلول‌های منفرد آسیب DNA به صورت مهاجرت مواد ژنتیکی از هسته مشاهده می‌شود و میزان مهاجرت نشان دهنده میزان تخریب DNA است (Erkekoglu 2012). بعد از اجرای الکتروفورز باید مقدار DNA که از هسته مهاجرت کرده را مشخص کرد. از رنگ‌های مشخصی برای شناسایی DNA استفاده می‌شود. در نهایت تصاویر حاصل با اطلاعاتی از قبیل طول DNA حرکت کرده، درصد DNA در دنباله کامت و یا سایر شاخص‌ها تجزیه می‌شوند (Kumari et al. 2008).

مزایای این روش نسبت به سایر روش‌ها در این است که: ۱- تخریب ژنوتوکسی در سطح هر سلول نمایان می‌شود؛ ۲- به جزیی‌ترین مقادیر تخریب حساس است؛ ۳- بیشتر سلول‌های یوکاریوتی برای این روش مناسب هستند؛ ۴- تنها مقدار کمی سلول از نمونه (یک لارو، یک قطره خون، میزان کم از بافت) کافی است؛ ۵- کم هزینه است؛ ۶- نسبتا زمان مورد نیاز برای کامل شدن آزمایش کم است و ۷- معمولا این روش سریع‌تر و حساستر از سایر روش‌ها بوده و روشی است که اغلب برای ماهی استفاده می‌شود (Tice et al. 2000). از کاربردهای مهم این روش در علوم آبزیان می‌توان به بررسی اثرات ژنوتوکسیک عوامل



[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084439.1394.10.2.5.3 ]

جهش‌زا، ماده‌زایی، تشخیص ماده غذایی پرتو دیده و تشخیص یکپارچگی DNA در اسپرم طی نگه‌داری کوتاه و طولانی مدت اشاره کرد (Moodi et al. 2012).

## مواد و روش‌ها

تهیه ماهی و طراحی آزمایش

در این مطالعه اثرات دوزهای متفاوت پرتو ماورا بنفش در روند تکاملی تخم چشم زده و لارو در حال جذب کیسه زرده ماهی قزل آلای رنگین‌کمان بررسی شد. نمونه‌های مورد نظر از مولدهای تکثیر یافته مزرعه تکثیر و پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان الماس دیمه (واقع در استان چهار محال و بختیاری از توابع شهرستان کوهرنگ) تهیه شد. متوسط طول و وزن لاروها به‌ترتیب ۳۵/۰–۳ میلی‌متر و ۱۵–۱۰ میلی‌گرم و تخم‌ها دارای متوسط قطر ۱/۵ میلی متر و متوسط وزن ۱/۱۴ گرم و سن آنها به‌ترتیب ۳۱ و ۲۶ روزه بود. خصوصیت کیفی آب لارو و تخم به صورت دمای ۱۱–۹ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ppm ۱۰ و سختی کم تا متوسط گزارش شده بود. به واسطه کاهش خطا و جلوگیری از جابجایی لاروها و آسیب‌های احتمالی ناشی از حمل آنها به آزمایشگاه، پرتودهی با انتقال و نصب لامپ ماورا بنفش به محل تکثیر لاروها در کارگاه الماس دیمه انجام شد. لامپ ماورا بنفش B (مدلPhilips-japan-δT۸F) و ماورا بنفش C (Philips-japan) با طول موج‌های به ترتیب (۳۱۰ و ۲۵۴ نانومتر) بر روی محفظه‌ای نصب و اطراف محفظه با نایلون سیاه کاملا پوشانده شد. جهت رسیدن پرتوها به دوز مورد نظر لامپ های مذکور قبل از شروع پرتودهی به مدت ۲۰ دقیقه روشن نگه داشته و سپس به منظور پرتوگیری تخم و لاروها در پلیت حاوی آب قرار گرفته و به مدت ۳۰ و ۶۰ دقیقه در ۴ فاصله ۱۰، ۲۰، ۳۵ و ۶۰ سانتی متری تحت تابش پرتو قرار گرفت (Browman et.al. 2003; Ghanizade and khodabande 2007). پس از اتمام پرتودهی از هر پلیت ۱۰ نمونه تخم و لارو جمع آوری و در محلول حاوی بافر فسفات و DMSO ۱۰ درصد تثبیت شد. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه دانشکده علوم دریایی پردیس نور دانشگاه تربیت مدرس تا زمان انجام آزمایشات در ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگه داری شدند.

در مطالعات برای محاسبه دوز پرتومناسب از UV- متر برای منبع ماورا بنفش مورد نظر استفاده می‌شود (Bhise and Khan 2002). دوزهای حاصل از منابع ماورا بنفش B و C در فاصله‌های معین ۱۰، ۲۰، ۳۵، ۶۰ سانتی‌متری توسط UV متر محاسبه شد و دوزهای حاصل از پرتو ماورا بنفش B به ترتیب ۱۵۳، ۸۴، ۴۰، ۱۰ و پرتو ماورا بنفش C به صورت ۱۹۶، ۹۰، ۵۵، ۱۵ $\mu w/cm^2$ محاسبه شد.

تیمارهای مورد مطالعه تحت پرتو ماورا بنفش بر تخم چشم زده و لارو در حال جذب کیسه زرده ماهی قزل آلای رنگین کمان به صورت جدول ۱ تعریف شد.

سنجش الکتروفورز سلول‌های منفرد (Comet assay)

آماده کردن نمونه‌ها برای آنالیز کامت از کل ارگانیسم لارو و جنین بر اساس روش Kosmehl et al. (2008) و سنجش الکتروفورز سلول های منفرد بر اساس پروتکل Dhawan et al. (2003) انجام شد.

تهیه سوسپانسیون سلولی

به منظور انجام آزمون کامت ابتدا از لاروها به صورت منفرد سوسپانسیون سلولی تهیه شد. در این خصوص ابتدا هر لارو در ۲۰۰ میکرولیتر محلول یکنواخت کننده (هموژنایزر) (PBS محتوی ۲۰ mM EDTA و ۱۰% DMSO) قرار گرفت و با قیچی به قطعات ریز خرد شد. سپس قطعات خرد شده ساکن گذاشته تا قطعات بزرگ ته‌نشین شده و مایع رویی توسط پیپت جدا شد. محلول مذکور در $g \times ۲۰۰$ به مدت ۱۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد و پس از تخلیه مایع بالایی (سوپرناتانت) محلول هموژنایزر به رسوبات حاصله اضافه شد و مجدد در $g \times ۱۳۰$ به مدت ۷ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ انجام پذیرفت. پس از تخلیه مجدد سوپرناتانت رسوب حاصله به منظور بارگذاری بر روی لام مورد استفاده قرار گرفت.

آماده‌سازی لام

ابتدا لام‌ها در متانول یا اتانول قرار داده شده تا از هر گونه چربی پاک شوند. سپس لام‌ها در محلول آگارز نرمال ۱/۲ درصد (که



[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1394.10.2.5.3 ]

جدول۱- تیمارهای مورد مطالعه بر روی تخم چشم‌زده و لارو در حال جذب کیسه زرده ماهی قزل آلای رنگین کمان

| تیمار | کنترل | ۱ | ۲ | ۳ | ۴ | ۵ | ۶ | ۷ | ۸ | ۹ | ۱۰ | ۱۱ | ۱۲ | ۱۳ | ۱۴ | ۱۵ | ۱۶ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| فاصله (cm) | - | ۱۰ | ۱۰ | ۲۰ | ۲۰ | ۳۵ | ۳۵ | ۶۰ | ۶۰ | ۱۰ | ۱۰ | ۲۰ | ۲۰ | ۳۵ | ۳۵ | ۶۰ | ۶۰ |
| دوز ($\mu w/cm^2$) | - | ۱۵۳ | ۱۵۳ | ۸۴ | ۸۴ | ۴۰ | ۴۰ | ۱۹ | ۱۹ | ۱۹۶ | ۱۹۶ | ۹۰ | ۹۰ | ۵۵ | ۵۵ | ۱۵ | ۱۵ |
| زمان (min) | - | ۳۰ | ۶۰ | ۳۰ | ۶۰ | ۳۰ | ۶۰ | ۳۰ | ۶۰ | ۳۰ | ۶۰ | ۳۰ | ۶۰ | ۳۰ | ۶۰ | ۳۰ | ۶۰ |
| نوع پرتو ماورا بنفش | - | B | B | B | B | B | B | B | B | C | C | C | C | C | C | C | C |

در ماکروویو ذوب شده است) فرو برده شده و پشت لام با دستمال کاغذی پاک شد. سپس لام‌ها در حرارت ۷۰-۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا کاملا خشک شده و تبدیل به لایه‌ای نازک شوند. بهتر است قبل از این مرحله لام‌ها علامت‌گذاری شده تا سطحی که حاوی ژل است قابل تشخیص باشد.

سنجش الکتروفورز سلول های منفرد

۲۰-۱۰ میکرولیترسوسپانسیون سلولی با ۱۰۰ میکرولیتر آگارز نقطه ذوب پایین ۰/۷۵ درصد مخلوط و بر روی لام‌های آماده شده بارگذاری شد و سپس یک لامل روی آن گذاشته شد و به مدت ۳۰ دقیقه در یخچال (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت تا کاملا سفت شود و پس از آن لامل برداشته شد. لام‌ها در محلول لایزیز (۲/۵ M سدیم کلرید، ۱۰۰ mM EDTA، ۱۰ mM تریس، یک درصد تریتون-۱۰۰، ۱۰ درصد دی متیل سولفیداکساید، pH= ۱۰) در ۴ درجه سانتی‌گراد در تاریکی به مدت یک ساعت قرار داده شدند. برای بازشدن پیچش‌های DNA ۲۰ دقیقه در بافرخنک قلیایی (یک mM EDTA، ۳۰۰ mM هیدروکسید سدیم pH>13) قرار داده شدند. سپس لام‌ها به تانک الکتروفورز حاوی بافر الکتروفورز (مشابه بافر قلیایی) منتقل و به مدت ۲۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد و ۳۰۰ میلی آمپر و ۲۵ ولت الکتروفورز اجرا شد. پس از اتمام الکتروفورز لام‌ها در بافر خنثی (۰/۴ M Tris) شستشو داده شده و سپس با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی شدند. لامها با میکروسوپ اپی فلئورسنس با فیلتر مناسب مجهز به دوربین (Invert- المپیوس- ساخت ژاپن- مجهز به سیستم فازکنتراست و نومارسکی) بررسی شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

آنالیز تصاویر

جهت انجام آزمایش و تجزیه تصاویر برای هر ماهی یک لام و بر روی هر لام دو لامل استفاده شد که در هر کدام حدود ۵۰ سلول در نقاط مختلف به صورت تصادفی انتخاب شدند و از نرم‌افزار COMET SCORE™ برای تجزیه و بررسی تصاویر حاصل استفاده شد. از شاخص‌های مهم که این نرم افزار محاسبه کرد می‌توان به طول کامت، ارتفاع کامت، طول دنباله کامت، %DNA در دنباله کامت و Tail moment اشاره کرد که به صورت زیر تعریف می‌شوند:

طول کامت: تعداد پیکسل‌هایی که در جهت افقی کامت می‌باشد $L_C=Nx$

ارتفاع کامت: تعداد پیکسل‌هایی که در جهت عمودی کامت می‌باشد $H_C=Ny$

طول دنباله کامت: به صورت پیکسل‌های حاصل از تفریق طول کامت از طول سر کامت (پیکسل های افقی سر کامت) تعریف می‌شود. $T_L=L_C-L_H$

درصد DNA در دنباله کامت: مجموع پیکسل‌های در جهت افقی و عمودی دم کامت بر مجموع پیکسل‌های در جهت افقی و عمودی کامت ضرب در ۱۰۰ تعریف شده است.

$٪DNA_T=(\sum i_{t(x,y)})/(\sum i_{c(x,y)})\times 100$

Tail moment: به صورت درصد DNA دنباله کامت ضرب در طول دنباله محاسبه می‌شود. $M_T=\%DNA\times T_L$

پردازش داده‌ها

طرح کلی این تحقیق بر اساس طرح بلوک کاملا تصادفی تعریف شد. برای این کار قبل از تجزیه و تحلیل، از نظر نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگرف- اسمیرنوف اطمینان حاصل شد. با توجه به نرمال بودن داده‌ها، برای مقایسه تاثیر زمان و میزان



[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084439.1394.10.2.5.3 ]

جدول۲- مقایسه شاخص‌های کامت در تیمارهای مختلف پرتو ماورا بنفش B در تخم چشم زده و لارو در حال جذب کیسه زرده

| شاخص | مرحله تکاملی | تیمارها | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | **کنترل** | ۱۵۳ $\mu w/cm^2$ در ۳۰ دقیقه | ۱۵۳ $\mu w/cm^2$ در ۶۰ دقیقه | ۸۴ $\mu w/cm^2$ در ۳۰ دقیقه | ۸۴ $\mu w/cm^2$ در ۶۰ دقیقه | ۴۰ $\mu w/cm^2$ در ۳۰ دقیقه | ۴۰ $\mu w/cm^2$ در ۶۰ دقیقه | ۱۹ $\mu w/cm^2$ در ۳۰ دقیقه | ۱۹ $\mu w/cm^2$ در ۶۰ دقیقه |
| طول کامت | تخم چشم زده | ۷۵/۴۲±۴/۹۵$^{c}$ | ۱۰۱±۲۴/۷۸$^{ab}$ | ۱۰۴/۳۲±۱۱/۵۳$^{ab}$ | ۱۱۴/۰۷±۴/۹۱$^{a}$ | ۱۱۹/۲۸±۵/۷۸$^{a}$ | ۹۷/۰۸±۳/۱۵$^{abc}$ | ۸۹/۶۸±۴/۲۵$^{bc}$ | ۹۷/۴۵±۳/۲۷$^{abc}$ | ۸۳/۶۸±۳/۴۷$^{bc}$ |
| | لارو در حال جذب کیسه زرده | ۲۵۸±۲۱/۳۴$^{cde}$ | ۳۴۴/۳۳±۱۳/۲۸$^{ab}$ | ۳۳۶/۶۰±۱۶/۵۵$^{abc}$ | ۳۱۴/۰۴±۲۳/۷۶$^{abcd}$ | ۲۴۳/۱۱±۱۴/۹۹$^{de}$ | ۱۹۶/۷۸±۷/۶۴$^{e}$ | ۳۶۸/۳۸±۴۰/۱۵$^{a}$ | ۲۲۱/۲۹±۲۶/۵۱$^{e}$ | ۲۶۷/۰۹±۱۸/۶۹$^{bcde}$ |
| ارتفاع کامت | تخم چشم زده | ۵۸/۳۷±۴/۰۴$^{b}$ | ۷۵/۶۰±۱۷/۹۳$^{a}$ | ۶۱/۴۷±۴/۸۰$^{ab}$ | ۷۵/۶۷±۳/۵۷$^{a}$ | ۶۷/۸۰±۳/۴۶$^{ab}$ | ۶۱/۱۹±۱/۹۱$^{ab}$ | ۶۱/۵۷±۳/۱۲$^{ab}$ | ۶۶/۷۲±۲/۱۰$^{ab}$ | ۵۵/۱۳±۲/۷۴$^{a}$ |
| | لارو در حال جذب کیسه زرده | ۱۹۹/۵±۱۷/۳۱$^{a}$ | ۲۱۱/۶۷±۲۶/۲۴$^{a}$ | ۱۴۶/۸±۱۰/۸۸$^{c}$ | ۱۵۴/۴۴±۱۰/۶۲$^{bc}$ | ۱۱۹±۶/۶۵$^{cd}$ | ۸۸/۴۰±۲/۹۸$^{d}$ | ۱۹۱/۹۴±۲۲/۲۱$^{ab}$ | ۱۲۹/۲۹±۱۱/۷۱$^{cd}$ | ۱۲۱/۹۸±۷/۸۴$^{cd}$ |
| طول دنباله کامت | تخم چشم زده | ۱۷/۶۸±۳/۱۲$^{c}$ | ۴۶/۶۰±۷/۰۹$^{a}$ | ۴۷/۱۶±۶/۷۹$^{a}$ | ۴۱/۵۰±۵/۳۸$^{ab}$ | ۳۲/۲۹±۳/۵۹$^{abc}$ | ۲۴/۰۲±۳/۲۰$^{c}$ | ۲۶/۷۳±۳/۱۷$^{b}$ | ۱۸/۹۱±۲/۵۰$^{c}$ | ۲۰/۰۸±۲/۹۹$^{c}$ |
| | لارو در حال جذب کیسه زرده | ۱۳/۲۹±۷/۷۶$^{d}$ | ۱۷۳/۳۳±۱۸/۶۸$^{ab}$ | ۱۹۱/۴±۱۱/۷۸$^{a}$ | ۱۵۱/۱۶±۲۷/۹۴$^{ab}$ | ۱۵۵/۳۳±۱۶/۹۳$^{ab}$ | ۱۰۳/۲۸±۷/۰۹$^{bc}$ | ۱۳۰/۱۹±۲۸/۳۹$^{abc}$ | ۶۳/۵۷±۳۴/۱۴$^{cd}$ | ۹۶/۷۵±۲۳/۱۲$^{bc}$ |
| DNA دنباله کامت | تخم چشم زده | ۰/۸۸±۰/۲۲$^{c}$ | ۳۵/۰۹±۵/۲۶$^{ab}$ | ۴۴/۰۷±۴/۱۰$^{a}$ | ۲۹/۸۰±۳/۵۶$^{b}$ | ۳۳/۸۱±۲/۵۴$^{ab}$ | ۲۵/۲±۳/۲۰$^{b}$ | ۲۶/۵۴±۳/۳۴$^{b}$ | ۷/۷۸±۱/۶۴$^{c}$ | ۱۲/۰۲±۲/۱۱$^{c}$ |
| | لارو در حال جذب کیسه زرده | ۵/۴۰±۳/۰۶$^{e}$ | ۴۲/۷۴±۷/۳۳$^{abc}$ | ۵۷/۰۳±۲/۶۳$^{a}$ | ۳۵/۵۷±۵/۸۲$^{bcd}$ | ۵۳/۹۴±۵/۵۶$^{ab}$ | ۳۴/۰۴±۲/۳۲$^{bcd}$ | ۲۶/۸۶±۶/۸۰$^{cd}$ | ۲۰/۷۹±۱۲/۵۱$^{de}$ | ۲۵/۰۷±۴/۰۹$^{cd}$ |
| Tail Moment | تخم چشم زده | ۰/۲۲±۰/۰۸$^{d}$ | ۲۰/۸۷±۶/۰۲$^{a}$ | ۲۱/۴۲±۴/۰۴$^{a}$ | ۱۶/۶۷±۲/۳۲$^{ab}$ | ۱۸/۴۹±۲/۰۲$^{ab}$ | ۹/۹۶±۱/۹۷$^{bc}$ | ۱۰/۴۹±۱/۹۳$^{bc}$ | ۲/۳۲±۰/۶۴$^{cd}$ | ۴/۲۸±۱/۲۲$^{cd}$ |

دوز پرتو ماورا بنفش B و C بر آسیب DNA در تخم چشم زده و لارو از آزمون t جفتی و به منظور بررسی ماورا بنفش C و B بر DNA تخم چشم‌زده و لارو آزمون t مستقل استفاده شد و برای مقایسه شاخص‌های مختلف کامت در تیمارهای مختلف پرتو ماورا بنفش B و C در لارو و تخم چشم زده آزمون واریانس یک طرفه (ANOVA) و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح معنی‌دار $P\leq$۰/۰۵ استفاده شد. تجزیه داده‌های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS 17 در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام شد.

## نتایج و بحث

در این بررسی تاثیر پرتوهای ماورا بنفش B و C بر روی DNA تخم چشم زده و لارو در حال جذب کیسه زرده ماهی قزل آلای رنگین کمان با روش الکتروفورز سلول‌های منفرد مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که نوع و دوزهای مختلف هر پرتو اثرات متفاوتی بر روی DNA تخم و لارو ماهی قزل آلای رنگین کمان دارد.

بررسی شاخص‌های به دست آمده از سنجش الکتروفورز سلول-های منفرد تخم چشم زده و لارو، تحت‌تاثیر تیمارهای مختلف پرتو ماورا بنفش B نشان داد که طول دنباله، درصد DNA در دنباله و Tail moment با افزایش دوز ارتباط مستقیمی داشته است. بیشترین و کمترین میزان پارامترهای ذکر شده تحت دوز پرتوهای ماورا بنفش B در تخم و لارو به ترتیب در دوزهای ۱۵۳ $\mu w/cm^2$و ۱۹ مشاهده شد (جدول۲).



[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1394.10.2.5.3 ]

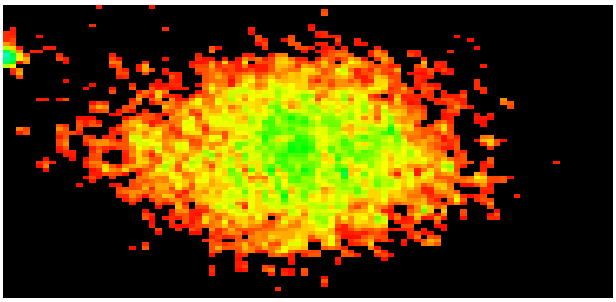
جدول۳- مقایسه شاخص های کامت در تیمارهای پرتو ماورا بنفش C در تخم چشم زده و لارو در حال جذب کیسه زرده

| شاخص | مرحله تکاملی | تیمارها | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | کنترل | ۱۹۶ µw/cm² در ۳۰ دقیقه | ۱۹۶ µw/cm² در ۶۰ دقیقه | ۹۰ µw/cm² در ۳۰ دقیقه | ۹۰ µw/cm² در ۶۰ دقیقه | ۵۵ µw/cm² در ۳۰ دقیقه | ۵۵ µw/cm² در ۶۰ دقیقه | ۱۵ µw/cm² در ۳۰ دقیقه | ۱۵ µw/cm² در ۶۰ دقیقه |
| طول کامت | تخم چشم زده | ۸۸/۳۲±۴/۵۱$^{cd}$ | ۹۹/۸۹±۳/۲۷$^{abcd}$ | ۱۰۶/۴۶±۳/۶۳$^{ab}$ | ۱۱۶/۱۵±۶/۴۱$^{a}$ | ۱۱۳/۰۹±۹/۵۹$^{a}$ | ۹۵/۱۱±۷/۹۰$^{a}$ | ۱۰۳/۳۴±۴/۱۵$^{bcd}$ | ۷۷/۴۹±۳/۳۹$^{e}$ | ۸۳/۹۴±۳/۲۵$^{de}$ |
| | لارو در حال جذب کیسه زرده | ۲۶۰±۱۷/۹۵$^{bc}$ | ۲۸۸/۲±۱۳/۱۹$^{abc}$ | ۳۴۳/۶۷±۱۰/۱۳$^{a}$ | ۲۸۷/۳۳±۲۰/۷۴$^{abc}$ | ۳۰۳/۰۸±۲۹/۲۸$^{ab}$ | ۱۷۴/۱۴±۱۰/۴۰$^{d}$ | ۲۲۶/۵۳±۲۲/۹۵$^{cd}$ | ۲۷۷/۹±۱۸/۹۰$^{abc}$ | ۲۵۱/۷۷±۲۰/۵۲$^{bc}$ |
| ارتفاع کامت | تخم چشم زده | ۶۰/۰۶±۲/۶۷$^{ab}$ | ۶۷/۵۷±۲/۳۰$^{ab}$ | ۷۰/۶۳±۲/۳۱$^{a}$ | ۶۹/۹۲±۳/۴۹$^{ab}$ | ۶۲/۵۰±۳/۷۰$^{ab}$ | ۶۶/۱۸±۶/۶۱$^{ab}$ | ۶۳/۱۹±۲/۷۷$^{ab}$ | ۶۷/۰۹±۲/۸۵$^{ab}$ | ۵۹/۷۶±۲/۷۳$^{b}$ |
| | لارو در حال جذب کیسه زرده | ۱۸۲/۸۲±۱۴/۸۴$^{ab}$ | ۱۳۷/۸۷±۷/۴۸$^{bcd}$ | ۱۶۴/۸۹±۱۳/۱۱$^{abc}$ | ۱۹۵±۲۰/۳۲$^{a}$ | ۱۵۶/۰۸±۱۶/۷۳$^{abc}$ | ۹۳/۱۹±۵/۳۰$^{d}$ | ۱۲۸/۱۶±۱۷/۲۶$^{cd}$ | ۱۳۳/۱۴±۹/۷۳$^{cd}$ | ۱۳۰±۱۴/۷۳$^{cd}$ |
| طول دنباله کامت | تخم چشم زده | ۲۸/۶۵±۳/۴۲$^{d}$ | ۵۶/۶۶±۳/۲۰$^{a}$ | ۵۸/۹۳±۳/۸۶$^{a}$ | ۴۷/۱۷±۴/۶۳$^{ab}$ | ۵۱/۵۰±۵/۶۸$^{ab}$ | ۴۰/۲۱±۶/۰۲$^{bc}$ | ۴۱/۶۲±۴/۵۰$^{b}$ | ۲۱/۱۱±۲/۷۳$^{d}$ | ۲۴/۰۹±۳/۳۱$^{d}$ |
| | لارو در حال جذب کیسه زرده | ۱۳/۲۹±۷/۴۹$^{e}$ | ۲۰۲/۲۰±۱۲/۸۲$^{ab}$ | ۲۲۰/۵۶±۱۴/۰۷$^{a}$ | ۱۵۳/۵۶±۸/۶۵$^{bc}$ | ۱۸۶/۶۲±۲۲/۰۶$^{ab}$ | ۱۰۳/۵۷±۸/۱۴$^{cd}$ | ۱۲۴/۱۶±۲۳/۵۵$^{cd}$ | ۸۴/۱۷±۱۶/۴۵$^{d}$ | ۹۴/۹۲±۲۴/۹۶$^{d}$ |
| درصد DNA دنباله کامت | تخم چشم زده | ۰/۹۴±۰/۱۷$^{f}$ | ۴۳/۰۴±۲/۳۶$^{ab}$ | ۴۶/۰۹±۳/۴۱$^{a}$ | ۳۵/۱۱±۳/۶۹$^{bc}$ | ۳۸/۷۰±۳/۷۶$^{ab}$ | ۲۴/۶۷±۴/۵۱$^{d}$ | ۳۶/۸۲±۳/۸۳$^{abc}$ | ۱۴/۵۸±۳/۵۲$^{e}$ | ۲۹/۵۹±۳/۸۱$^{cd}$ |
| | لارو در حال جذب کیسه زرده | ۵/۴۰±۲/۹۶$^{c}$ | ۵۶/۳۷±۴/۸۳$^{a}$ | ۶۱/۸۳±۳/۱۴$^{a}$ | ۵۳/۵۳±۶/۲۲$^{a}$ | ۵۶/۰۹±۵/۶۱$^{a}$ | ۵۱/۴۲±۴/۰۷$^{a}$ | ۶۰/۵۸±۴/۲۸$^{a}$ | ۳۱/۶۳±۵/۵۴$^{b}$ | ۳۳/۸۱±۸/۹۹$^{b}$ |
| Tail Moment | تخم چشم زده | ۰/۳۱±۰/۰۷$^{e}$ | ۲۶/۵۲±۲/۳۱$^{ab}$ | ۳۰/۸۱±۳/۳۸$^{a}$ | ۲۱/۸۹±۳/۳۱$^{abc}$ | ۲۴/۶۷±۴/۰۸$^{abc}$ | ۱۵/۵۸±۴/۷۶$^{cd}$ | ۲۰/۵۱±۳/۲۳$^{bc}$ | ۵/۲۶±۱/۶۲$^{e}$ | ۸/۹۲±۱/۹۸$^{ed}$ |
| | لارو در حال جذب کیسه زرده | ۷/۱۰±۴/۵۲$^{d}$ | ۱۱۷/۰۵±۱۴/۱۲$^{ab}$ | ۱۳۹/۳۱±۱۵/۱۳$^{a}$ | ۸۳/۲۵±۱۲/۱۰$^{bc}$ | ۱۰۹/۷۹±۱۲/۰۶$^{ab}$ | ۵۷/۱±۷/۳۸$^{d}$ | ۷۶/۹۴±۲۰/۷۳$^{bc}$ | ۴۹/۵۴±۱۰/۱۰$^{d}$ | ۵۵/۳۷±۱۶/۲۶$^{d}$ |

مشاهده روند عددی شاخص های به دست آمده حاصل از تصاویر به دست آمده از سنجش الکتروفورز سلول‌های منفرد تخم چشم زده و لارو در حال جذب کیسه زرده تحت پرتو ماورا بنفش C نشان دهنده ارتباط افزایشی بین پارامترهای طول دنباله، درصد DNA در دنباله و Tail moment با دوز پرتو می‌باشد. بیشترین و کمترین میزان پارامترهای مذکور در دوزهای ۱۹۶ و ۱۵ µw/cm² مشاهده شد (جدول ۳).

Tail moment تلفیقی از هر دو پارامتر طول دنباله کامت و درصد DNA در دنباله کامت می‌باشد بنابراین در مقایسه تیمارها از این پارامتر استفاده شد. بررسی این پارامتر نشان‌دهنده میزان آسیب DNA می‌باشد.

برای بررسی تاثیر پرتوهای ماورا بنفش B بر DNA لارو و تخم چشم زده از آزمون t مستقل استفاده شد. نتایج حاصل از آزمون با توجه به ناهمگنی واریانس‌ها ($p<$ ۰/۰۵) نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین دو گروه لارو و تخم چشم زده تحت تیمار پرتوهای ماورا بنفش B می‌باشد ($p<$ ۰/۰۵). میانگین گروه‌ها نشان دهنده حساسیت بیشتر لارو (بیشترین میزان آسیب ۱۱/۱۸±۱۱۰/۱) نسبت به تخم چشم زده (بیشترین میزان آسیب ۴/۰۴±۲۱/۴۲) است. این نتایج برای تیمارهای تخم چشم زده و لارو در حال جذب کیسه زرده تحت پرتو ماورا بنفش C نیز صادق بوده است ($p<$ ۰/۰۵) و حساسیت بالاتر لارو (بیشترین میزان آسیب ۱۵/۱۳±۱۳۹/۳۱) نسبت به تخم چشم زده (بیشترین میزان آسیب ۳/۳۸±۳۰/۸۱) مشاهده شد (شکل‌های ۱ تا ۶).

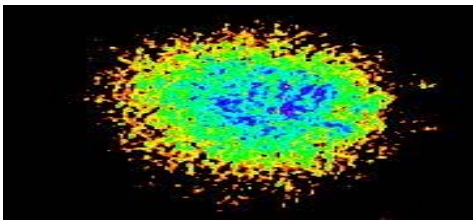


شکل۱- سلول‌های جنینی ماهی قزل آلای رنگین کمان تیمار یافته با آزمون کامت قلیایی(گروه شاهد)

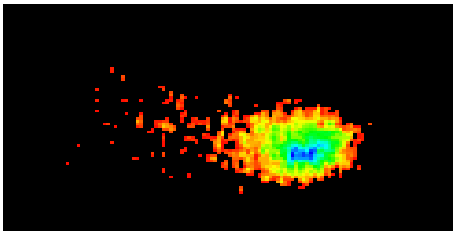


[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20 ]

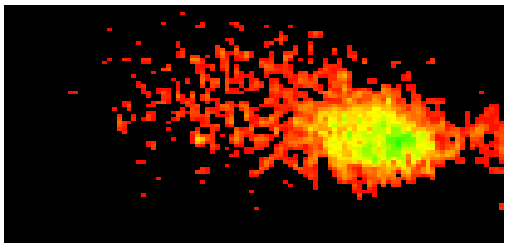
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1394.10.2.5.3 ]



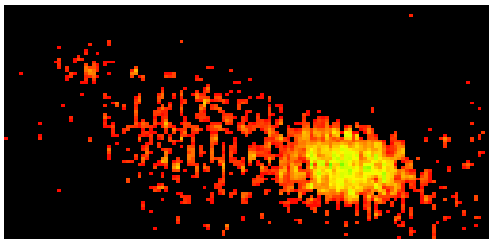
شکل۲- سلول‌های لاروی ماهی قزل آلای رنگین کمان تیمار یافته با آزمون کامت قلیایی (گروه شاهد)



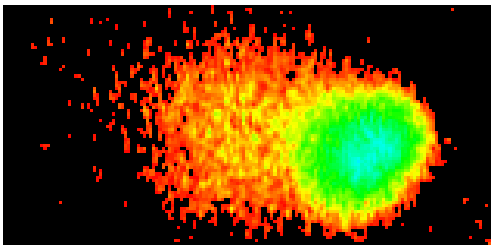
شکل۳- سلول‌های جنینی ماهی قزل آلای رنگین کمان تحت تیمار پرتو ماورا بنفش B در دوز $\mu$ w/cm$^2$ ۱۹ به مدت ۶۰ دقیقه تیمار یافته با آزمون کامت قلیایی



شکل۴- سلول‌های لاروی ماهی قزل آلای رنگین کمان تحت تیمار پرتو ماورا بنفش B در دوز $\mu$w/cm$^2$ ۱۹ به مدت ۳۰ دقیقه تیمار یافته با آزمون کامت قلیایی



شکل ۵- سلول‌های جنینی ماهی قزل آلای رنگین کمان تحت تیمار پرتو ماورا بنفش C در $\mu$w/cm$^2$ ۱۹۶ به مدت ۶۰ دقیقه تیمار یافته با آزمون کامت قلیایی



شکل۶-سلول‌های لاروی ماهی قزل آلای رنگین کمان تحت تیمار پرتو ماورا بنفش C در $\mu$w/cm$^2$ ۱۹۶ به مدت ۶۰ دقیقه تیمار یافته با آزمون کامت قلیایی

نتایج حاصل از آزمون t جفتی برای مقایسه زمان پرتو دهی و دوزهای پرتو ماورا بنفش B و C بر تخم چشم زده اختلاف معنی‌داری بین پرتودهی در ۳۰ و ۶۰ دقیقه نشان نداد ($p$>۰/۰۵) و بیشترین و کمترین آسیب DNA به ترتیب در تیمارهای ماورا بنفش B و C به ترتیب در دوزهای ۱۵۳ (۲۱/۴۲±۴/۰۴)، ۱۹۳ (۳۰/۸۱±۳/۳۸) و ۱۹ (۲/۳۲±۰/۶۴)، ۱۵ (۵/۲۶±۱/۶۲) $\mu$W/cm$^2$ ایجاد شده بود. همچنین نتایج مقایسه زمان و دوز پرتو ماورا بنفش B و C بر لارو در حال جذب کیسه زرده نیز اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p$>۰/۰۵). بیشترین و کمترین آسیب DNA ایجاد شده به ترتیب در پرتو ماورا بنفش B و C به صورت ۱۳۹/۳۱±۱۵/۱۳، ۱۱۰/۱±۱۱/۱۸ و ۴۲/۰۷±۲۷/۷۶، ۴۹/۵۴±۱۰/۱۰ مشاهده شد.

آزمون t جفتی مورد استفاده برای بررسی تاثیر پرتوماورا بنفش C و B بر DNA تخم چشم زده و همچنین لارو در حال جذب کیسه زرده نشان داد که بین دو پرتو ماورا بنفش B و C اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ($p$>۰/۰۵).

نتایج به دست آمده از پردازش تصاویر نشان داد که پارامترهای طول و ارتفاع کامت روند مشخصی نداشته و فقط گویای اندازه-ای از کل کامت (سر و دنباله کامت) هستند. بنابراین بر اساس این دو پارامتر دقیقا نمی‌توان درباره آسیب DNA ناشی از هر دو نوع پرتو ماورا بنفش B و C اظهار نظر کرد. این در حالی است که ۳ پارامتر دیگر یعنی طول دنباله کامت، درصد DNA در دنباله کامت و Tail moment بر اساس افزایش دوز پرتو (عامل تاثیر گذار بر DNA) افزایش معنی‌دار یافته‌اند.

بنابراین می‌توان با تکیه بر این پارامترها با قاطعیت بیشتری درباره آسیب DNA بحث کرد. طول دنباله کامت در واقع تعداد پیکسل-های دنباله کامت سلول می‌باشد و درصد DNA در دنباله کامت مجموع پیکسل‌های دنباله نسبت به پیکسل‌های کل کامت است و خطاهای حاصل از پشت زمینه کامت را کاهش می‌دهد، در مطالعات مختلف این پارامتر را به عنوان پارامتر موثر معرفی کردند. اما Tail moment اولین بار توسط Olive (2002) مطرح شد و حاصل ضرب دو پارامتر مهم ذکر شده یعنی درصد DNA در دنباله کامت و طول دنباله کامت می‌باشد و از آنجا که هر دو پارامتر را شامل می‌شود می‌تواند اهمیت بیشتری نسبت به دو



[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1394.10.2.5.3 ]

پارامتر دیگر در ارزیابی آسیب DNA داشته باشد (Olive 1990). تاثیر پرتو ماورا بنفش B و C بر DNA لارو و تخم چشم زده یکی از اثرات مزمن پرتو ماورا بنفش تاثیر بر DNA است، که باعث آسیب‌های جدی به سلول به خصوص در مراحل اولیه رشد (جنینی و لاروی) می‌شود (Häder and Sinha 2005)، Lesser et al. (2001). با مطالعه تاثیر پرتو ماورا بنفش B بر لارو روغن ماهی اقیانوس اطلس (*Gadus morhua*) به عنوان ماهی که تخم و لارو پلاژیک دارد، نشان داده شد که از مهمترین عوامل مرگ و میر دوران لاروی این ماهی استرس اکسیداسیون و آسیب DNA ایجاد شده در اثر پرتو مورد مطالعه می‌باشد.

در مطالعه حاضر، از نتایج استنباط می‌شود که DNA لارو و تخم تحت‌تاثیر پرتو ماورا بنفش B و C قرار گرفته است و ارتباط خطی بین آسیب DNA و دوز پرتو وجود دارد. مطالعات مختلفی تاثیر پرتو ماورا بنفش بر DNA تخم و لارو گونه‌های مختلف را گزارش کردند. از جمله این مطالعات می‌توان به Vetter et al. (1999) بر روی ماهی آنچوی (*Engraulis mordax*)، Mekkawy et al. (2010) بر روی گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) اشاره کرد، که نتایج به دست آمده در این مطالعه را تایید می‌کنند.

مقایسه تاثیر پرتو ماورا بنفش B و C بر میزان آسیب DNA ایجاد شده در لارو و تخم چشم زده ماهی قزل آلا رنگین کمان نشان داد که این موجود در مرحله لاروی بسیار حساستر از مرحله تخم می‌باشد. حساسیت کمتر تخم می‌تواند به دلیل لایه کوریونی تخم یا فضای پرویتیلین پر از مایع (یا تاثیر هر دو) باشد و همچنین تکامل و پیشرفت موادی از جمله گادوسول[1] که در واقع نوعی آنتی اکسیدان طبیعی است که در تخمدان و مراحل جنینی و لاروی مهره داران دریایی گزارش شده است و از نفوذ پرتو ماورا بنفش جلوگیری کرده و ماهی را در مرحله جنینی در برابر این پرتو محافظت می‌کنند.

در مطالعه Browman et al. (2003) پرتو ماورا بنفش (۴۰۰-۲۸۰ نانومتر) اثر مستقیم بر DNA تخم و لارو روغن ماهی (*Gadus morhua*) داشته است و دوزهای بالاتر این پرتو بر DNA لارو ماهی تاثیر بیشتری نسبت به مرحله تخم دارد، که با نتایج حاصل از این مطالعه مطابقت داشت. در این مطالعه مشاهده شد که این موجود در طی تکامل لاروی به صورت شناور، به صورتی که سمت حاوی زرده به سمت نور باشد، قرار می‌گیرد، در نتیجه تقسیمات سلولی در حال انجام، توسط گلبول‌های چربی و پروتئین‌های زرده محافظت می شود.

همچنین مطالعه Lesser et al. (2003) بر روی خارپوست دریایی تحت تاثیر پرتو ماورا بنفش نیز نشان داد که میزان آسیب در مرحله اولیه جنینی کمتر از مرحله انتهایی است که می‌تواند به دلیل سرعت بالای ترمیم DNA در مراحل اولیه باشد. موجود در مرحله پایانی نسبت به مرحله اولیه به آسیب DNA مقاوم‌تر است ولی میزان و سرعت ترمیم کاهش می‌یابد. اما باید در نظر داشت که این نتیجه برای تمامی ماهیان صادق نیست، به عنوان مثال نتایج حاصل از این بررسی با مطالعه Vetter (1999) مغایرت داشت و نتایج نشان داد که DNA تخم ماهی آنچووی (*Engraulis mordax*) تحت تاثیر پرتو ماورا بنفش مشابه با مرحله لاروی آسیب دیده است. حضور یا عدم حضور ترکیبات محافظ در ماهی آنچووی در حال بررسی است، بنابراین می‌توان گفت که این ترکیبات یا وجود ندارند یا اینکه برای حفاظت از پرتو موثر نیستند.

عوامل مختلفی برای ایجاد آسیب DNA در اثر پرتو وجود دارد. از جمله این عوامل می‌توان به نسبت سطح به حجم موجود، خصوصیات بافت و حضور ترکیبات محافظ، محل قرارگیری موجود نسبت به پرتو (در ستون آب و یا فاصله از منبع نور خروجی)، مدت زمان در معرض پرتو، قدرت ترمیم موجود و پایداری DNA در هر لایه سلولی اشاره کرد (Malloy et al. 1997). در این مطالعه بعد از پرتودهی نمونه‌ها تثبیت شدند و به موجود اجازه ترمیم سلولی داده نشد. همچنین برای آزمایشات به صورت یکسان از کل لارو و تخم استفاده شد. با توجه به شرایط مشابه در عوامل ذکر شده میتوان دو فاکتور زمان و فاصله قرار گیری از منبع (دوز حاصل) را مقایسه و بحث کرد.

نتایج حاصل نشان داد که بین دو بازه زمانی ۳۰ و ۶۰ دقیقه اختلاف معنی‌داری وجود ندارد، این در حالی است که روند خطی بین میزان آسیب DNA و فاصله از منبع نوری (میزان دوز پرتو) وجود دارد. در نتیجه میزان دوز پرتو بر میزان آسیب DNA

[1] Gadusol



[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084439.1394.10.2.5.3 ]

اثر گذارتر از میزان زمان پرتو است، که نتیجه حاصل با مطالعه Javris and Knowles (2003) مغایرت داشت. در این مطالعه لارو ماهی زبرا فیش (*Danio rerio*) تحت ۴ دوز گاما در دو بازه زمانی یک و ۲۴ ساعت قرار گرفته شد، که با توجه به نتایج بدست آمده، مشخص شد که زمان اثرگذارتر از میزان دوز پرتو بوده است. این مغایرت ممکن است به دلیل نوع پرتو، فاصله زمانی زیاد در مطالعه انجام شده، تفاوت در ساختار و اندازه ماهی زبرا فیش با ماهی قزل آلای و همچنین شرایط مختلف آزمایشگاهی باشد.

پرتو ماورا بنفش B و C دارای ترکیبات فعالی هستند که باعث تغییر در شیمی، ساختار DNA و ایجاد دایمر می‌شود .Lesser et al (2003) و روش الکتروفورز سلول‌های منفرد قلیایی به تنهایی توانایی تشخیص دایمرهای حاصل از پرتو را ندارد، اما با اصلاحاتی مانند اضافه کردن مرحله آنزیمی (مانند T4 اندونوکلئازV) این روش کارآمدتر خواهد شد. استفاده از این آنزیم باعث شکست دایمرهای حاصل از پرتو ماورا بنفش می‌شود (Sastre et al. 2001). با این وجود محدودیت این روش مانع استفاده از آن نمی‌شود، زیرا این روش قادر است شکستگی‌های تک و دو رشته DNA و آسیب‌های دیگر که از تاثیر مستقیم و یا غیر مستقیم پرتو حاصل شده است را شناسایی کند Hudson and Ferrier1996; Lemay and Wood 1999; Dietrich et al. (2005). طبق نتایج حاصل دو گروه پرتو ماورا بنفش B و C اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند. این عدم اختلاف امکان دارد به دلیل حضور دایمرهای تشکیل شده در DNA باشد که توسط روش الکتروفورز سلول‌های منفرد شناسایی نشده است و هر دو پرتو تاثیر تقریبا یکسانی از لحاظ شکستگی رشته‌های DNA و سایر فاکتورهای قابل تشخیص با روش مورد مطالعه دارند. لذا ادامه مطالعات با استفاده از آنزیم فوق الذکر بر روی این ماهی می‌تواند در تفسیر بهتر نتایج موثر باشد.

**نتیجه‌گیری کلی**

در این مطالعه تاثیر پرتو ماورا بنفش بر میزان آسیب DNA در جنین و لارو ماهی قزل آلای رنگین کمان مشخص شد. طبق نتایج حاصل میزان آسیب DNA حاصل از پرتو تابعی از میزان دوز پرتو بوده است. همچنین مشخص شد که تخم آسیب کمتری نسبت به لارو داشته است که احتمالا به دلیل وجود محافظ‌هایی از قبیل لایه کوریونی، چربی و پروتئین‌های زرده و ترکیبات محافظ می‌باشد. همچنین میزان دوز پرتو در مقایسه با زمان پرتودهی، بر میزان آسیب DNA اثر گذارتر می‌باشد و این نکته در هنگام به کارگیری تکنیک‌های مرتبط با استفاده از پرتوها بر آبزیان مثل ایجاد ماهیان ماده زاد، لازم است مدنظر قرار گیرد. در مجموع این مطالعه نشان داد که، روش سنجش الکتروفورز سلول‌های منفرد می‌تواند به خوبی برای شناسایی آسیب‌های DNA در سلول‌هایی که از طریق خرد شدن کل ارگانیسم لارو و تخم چشم زده به دست آمده، استفاده شود و می‌توان در مطالعات ژنوتوکسیکولوژیک در اهداف مختلف مورد استفاده قرار گیرد.

## منابع

Adams N, Shick J (2001) Mycosporine-like amino acids prevent UVB-induced abnormalities during early development of the green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*. Marine Biology138:267-280.

Bass EL, Sistrun SN (1997) Effect of UVA radiation on development and hatching success in *Oryzias latipes*, the Japanese medaka. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 59:537-542.

Bhise MP , Khan T (2002) Androgénesis: the best tool for manipulation of fish genomes. Turkish Journal of Zoology 26:317-326.

Browman H, Vetter RD, Rodrigues CA, Cullen JJ, Davis RF,Lynn E, Pirre J (2003) Ultraviolet (280–400 nm)–induced DNA Damage in the Eggsand Larvae of Calanus finmarchicus G. (*Copepoda*) and Atlantic Cod (*Gadus morhua*). Photochemistry and Photobiology 77: 397-404.

Dahms HU, Leej S (2010) UV radiation in marine ectotherms: Molecular effects and responses. Aquatic Toxicology 97: 3-14.

Dhawana, Bajpayee MM, Pandey AK , Parmar D (2003) Protocol for the single cell gel electrophoresis/comet assay for rapid genotoxicity assessment., Infrastructure Transitions Research Consortium 1077,1.

Dietrich G, Szpyrka A, Wojtczak M, Dobosz S, Goryczko K, Akowski, Ciereszko A (2005) Effects of UV irradiation and hydrogen peroxide on DNA fragmentation, motility and fertilizing ability of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) spermatozoa. Theriogenology 64:1809-1822.

Erkekoglu P (2012) Gel Electrophoresis - Advanced Techniques. 500 pp.

Freitag J, Steegerh O, Storzu, Paul R (1998) Sublethal impairment of respiratory control in plaice (*Pleuronectes platessa*) larvae induced by UV-B radiation, determined using a novel biocybernetical approach. Marine Biology 132: 1-8.



[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1394.10.2.5.3 ]

Ghanizade kazeroni a, khodabande s (2007) Mortality and histology of skin on larvae and Embryo Caspian salmon (*Salmo trutta caspius*) were exposed to UV -B radiation. Olom va Fonon Daryayi 99-102.(In Farsi)

Hader DP, Sinha RP (2005) Solar ultraviolet radiation-induced DNA damage in aquatic organisms: potential environmental impact. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis 571: 221-233.

Hudson C, Ferrier M (2008) Assessing ultraviolet radiation-induced DNA damage and repair in field-collected Aiptasia pallida using the comet assay.Proceedings of the 11th International Coral Reef Symposium, Ft. Lauderdale, Florida 7-11

Jarvis R, Knowles J (2003) DNA damage in zebrafish larvae induced by exposure to low-dose rate γ-radiation: detection by the alkaline comet assay. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis 541:63-69.

Kosmehl T, Hallare AV, Braunbeck T, Hollerth (2008) DNA damage induced by genotoxicants in zebrafish (*Danio rerio*) embryos after contact exposure to freeze-dried sediment and sediment extracts from Laguna Lake (The Philippines) as measured by the comet assay. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis 650:1-14.

Kouwenbergj, Browman H, Cullen J, Davis R, Stpierre, JF, Runge JA (1999) Biological weighting of ultraviolet (280–400 nm) induced mortality in marine zooplankton and fish. I. Atlantic cod (*Gadus morhua*) eggs. Marine Biology 134:269-284.

Kumar S, Rastogi RP ,Singh KL, Singh SP ,Sinha RP (2008) DNA damage: detection strategies. Experimental and Clinical Sciences International online Journal for Advances in Science 7:44-62.

Lemay M, Wood KA (1999) Detection of DNA damage and identification of UV-induced photoproducts using the CometAssay™ kit. BioTechniques 27: 846-851.

Lesser MP, Barry TM (2003) Survivorship, development, and DNA damage in echinoderm embryos and larvae exposed to ultraviolet radiation (290-400 nm). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 292:75-91.

Lesser MP, Barry TM (2006) Biological weighting functions for DNA damage in sea urchin embryos exposed to ultraviolet radiation. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 328:10-21.

Lesserm P, Farrell JH, Walker CW (2001) Oxidative stress, DNA damage and p53 expression in the larvae of Atlantic cod (*Gadus morhua*) exposed to ultraviolet (290-400 nm) radiation. Journal of Experimental Biology 204: 157-164.

Malloyk D, Holman MA, Mitchell D, Detrich HW (1997) Solar UVB-induced DNA damage and photoenzymatic DNA repair in Antarctic zooplankton. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 94:1258-1263.

Moodi S1, Farahmand H, Mirvaghefi A, Eshaghzade H, Kazemi R (2012) The Protective effect of Vitamin E on DNA integrity of frozen-thawed Beluga (Huso huso) sperm Using Alkaline Comet assay. Genetic Novin 7: 272-266 (In Farsi).

Mekkawy IA, Mahmoud UM, Osmana G, Sayedaed H (2010) Effects of ultraviolet A on the activity of two metabolic enzymes, DNA damage and lipid peroxidation during early developmental stages of the African catfish, Clarias gariepinus (Burchell, 1822). Fish Physiology and biochemistry 36:605-626.

Olive PL (2002)The comet assay. In Situ Detection of DNA Damage Methods and Protocols Methods in Molecular Biology 4:103-105.

Sastrem P, Vernet M, Steinert (2001) Single-cell Gel/Comet Assay Applied to the Analysis of UV Radiation–induced DNA Damage in *Rhodomonas sp.(Cryptophyta*). Photochemistry and Photobiology 74: 55-60.

Tice R, Agurell E, Anderson D, Burlinson B, Hartmann A, Kobayashi H, Miyamae Y, Rojas E, Ryu J, Sasaki (2000) Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. Environmental and molecular Mutagenesis 35:206-221.

Vetter RD, Kurtzma N, Mori T (1999) Diel cycles of DNA damage and repair in eggs and larvae of northern anchovy, *Engraulis mordax*, exposed to solar ultraviolet radiation. Photochemistry and Photobiology 69:27-33.



[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084439.1394.10.2.5.3 ]