

## (*Salmo trutta caspius*)

### UV-B

\*

-۱

-۲

تأثیر اشعه UV-B بر ساختار پوست و میزان تلفات در لاروهای تازه تفریخ شده ماهی آزاد دریای خزر مورد مطالعه قرار گرفت. ابتدا تخم‌های چشم زده (۲ روز مانده به تفریخ) در سه تیمار ۳۵۰ تایی شامل: گروه کنترل (بدون UV-B) و تیمارهای  $68/75 \mu\text{w}/\text{cm}^2$  و  $94/83 \mu\text{w}/\text{cm}^2$  از UV-B مورد آزمایش قرار گرفتند. در طول دوره تمام تیمارها زیر نایلون سیاه قرار داده شدند تا از نور خورشید به دور باشند. در دو تیمار UV-B، تمام لاروهای هچ شده تا روز نهم تلف شدند. روند تلفات در ابتدا بطی بوده و به طور ناگهانی از روز ۶ افزایش بارزی را نشان داد. در تیمار کنترل تلفات قابل ملاحظه‌ای مشاهده نشد. در بررسی‌های بافت‌شناسی در تیمارهای UV-B تغییر تعداد سلولهای موکوسی روندی سینوسی داشت به طوری که از روز ۱-۵ کاهش، به دنبال آن تا روز هفتم افزایش و مجدداً در روز ۸ و ۹ کاهش مشاهده گردید. به طور کلی تعداد سلولهای موکوسی در روز نهم به طور معناداری کمتر از روز اول بوده و سایزشان نیز کوچکتر بود. روند تغییرات در تیمار شاهد کاهشی بود. تغییرات درصد سلولهای موکوسی ترشح کننده، برعکس روند تغییرات تعداد سلولهای موکوسی بود. قطر اپیدرم نیز تا روز ۷ روندی افزایشی و به دنبال آن در روزهای ۸ و ۹ روندی کاهشی را نشان داد که این روند در تیمار شاهد افزایشی بود. در کل تغییرات ضخامت اپیدرم معنادار نبود. در تمام این موارد تیمار شاهد تفاوت معناداری را با تیمارهای UV-B نشان داد اما بین دو دز به کار رفته از UV-B، تفاوت معناداری مشاهده نشد. در تیمارهای UV-B همچنین ریزش اپیدرم، سلولهای آفتاب سوخته، نکروز و ایجاد شکاف بین اپیدرم و غشاء پایه مشاهده گردید. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که زمان ساخته شدن سلولهای موکوسی در ماهیان مختلف ۴-۶ روز است و در این مطالعه این زمان وجود داشته و افزایش تعداد سلولهای موکوسی نیز در روزهای آخر دیده شد اما، نسبت به روزهای اول به طور معناداری کمتر و کوچکتر بودند. با این حال شدت آسیب‌ها به پوست آنقدر زیاد بود که تلفات ناگهانی در اواخر دوره مشاهده گردید.

: اشعه UV-B، ماهی آزاد دریای خزر، هیستولوژی، پوست، لارو.

که با کاهش طول موج میزان انرژی این اشعه افزایش می‌یابد

[۱]. امروزه به دلیل کاهش لایه ازن استراتوسفر، میزان نفوذ

اشعه UV-B به زمین افزایش یافته است [۲]. مطالعات بسیاری

اشعه UV به سه محدوده طول موج تقسیم می‌شود: (۲۸۰nm)-

UV-C (۱۰۰-۲۸۰nm) و UV-B (۲۸۰-۳۱۵nm) و UV-A (۳۱۵-۴۰۰nm)

را در پوست آزاد ماهیان به دنبال قرارگرفتن در معرض اشعه UV-B مصنوعی گزارش داده‌اند که شامل تغییر در تعداد و مکان سلولهای موکوسی اپیدرم و اسفنجی شدن گسترده و ادم، هایپرپلازی شدید، همچنین زخم و باله‌های تخریب شده می‌باشد [۲۰، ۱۹]. قرارگرفتن در معرض اشعه UV-B مکانیسم ترمیم زخم را در پوست سالمونها، همچنین سیستم ایمنی آنها را تحت تأثیر قرار می‌دهد [۲۱، ۱۸]. افزایش بیماریهای قارچی و مرگ و میر نیز گزارش شده است [۲۲]. مطالعات اولیه با اشعه UV-B مصنوعی شرح داده‌اند که مرگ‌ومیر در تخم سالمون Sockeye متناسب با دز، متفاوت است [۱۴]. برخی دیگر مانند استی قر<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۰۱) شرح دادند که اشعه UV-B باعث مرگ و میر تخم و کاهش شناوری لارو و جوانهای plaice می‌شود [۴]. مطالعات اخیر روی تخم ماهی کد (cod) آتلانتیک و منبع اشعه UV-B مصنوعی شرح داده‌اند که عملکرد محدوده زیستی شبیه حالتی است که برای DNA برهنه رخ می‌دهد و این نشان می‌دهد که آسیب به DNA ممکن است دلیل اولیه و اساسی مرگ‌ومیر ایجاد شده به وسیله اشعه UV-B در تخمهای cod باشد [۲۳].

ماهی آزاد دریای خزر برای تخم‌ریزی به رودخانه‌ها مهاجرت کرده و در حالت طبیعی بعد از تخم‌ریزی، روی تخمها را با دانه‌های ماسه می‌پوشاند. کم آب شدن رودخانه‌ها، تغییر بستر آنها و وجود آلودگیهای گوناگون سبب شده است که این ماهیان با ارزش در رودخانه‌های کم آب مبادرت به تخم‌ریزی کنند و مشاهدات نیز نشان داده که روی تخمها و لاروهای تازه تفریخ شده بخوبی پوشانده نشده است و در معرض تابش UV خورشید می‌باشند. لذا به منظور پی‌بردن به آثار سوء احتمالی این تابش مستقیم به راندمان تولید و مثل این ماهی، آثار UV-B در دو دز متفاوت در شرایط آزمایشگاهی روی تخمهای چشم‌زده و لارو تازه تفریخ شده مورد بررسی قرار گرفت.

شرح داده‌اند که افزایش اشعه UV-B ممکن است تهدیدی برای ارگانیسما و خصوصاً اکوسیستمهای آبی باشد [۳]. تحقیقات نشان داده که UV-B می‌تواند برای مراحل اولیه زندگی گونه‌های ماهی کشنده باشد [۷-۴]. علاوه بر این اشعه UV-B می‌تواند تأثیرات مضر غیرمستقیمی مانند افزایش سمیت آلودگیهای محیطی نیز داشته باشد [۸]. بالقوه بودن آثار این اشعه برای واکنش همسان با دیگر عوامل (pH، دما، سمیت، مواد آلی) و پاتوژنها تأیید شده است [۹]. هر دو مطالعات آزمایشگاهی و صحرایی روی ماهیان تلتوست، انواعی از آسیبهای ایجاد شده در اثر قرارگرفتن در معرض اشعه UV-B را شرح داده‌اند که شامل سلولهای آفتاب سوخته، آسیب نسبی پوست [۱۰، ۳]، کاتاراکت چشم [۱۱]، کاهش ایمنی [۱۲، ۱۳] و مرگ و میر لارو و نقص در تفریخ می‌شود [۱۴، ۱۵].

تأثیر اشعه UV-B روی پوست ماهیان آب شیرین به دلیل پاسخهایی که به دنبال دارد، جالب است. اپیدرم ماهی در مراحل اولیه زندگی برهنه است و اپیتلیوم کراتینه شده و محافظ خارجی در برابر اشعه ندارد. پوست ماهی تولیدات محافظت کننده نوری دارد اما این گرانولهای اپیدرم بلافاصله زیر غشای پایه قرار می‌گیرند، بنابراین پوست ماهی در مقایسه با پستانداران که ملانوزم اپیدرم دارند خیلی حساستر است [۱۶]. علاوه بر این اپیدرم ماهی نقش مهمی در دفاع ایمنی سلولی و مولکولی بازی می‌کند [۱۷]. در مورد پاسخ این مکانیسم به اشعه و چگونگی تأثیرپذیری به وسیله آن اطلاعات کمی قابل دسترس است.

گونه ماهیانی که در آب شفاف زندگی می‌کنند احتمالاً خیلی خوب به اشعه محیطی سازگار شده‌اند. آزاد ماهیان جزء گونه‌های با ارزش اقتصادی‌اند و غالباً در آبهای شفاف زندگی می‌کنند که نسبت به آبهای گل‌آلود و رنگی اجازه نفوذ مقدار زیادی از اشعه UV-B را می‌دهد. این گونه‌ها موضوع مطالعه گسترده‌ای درباره تأثیر اشعه UV-B بر شرایط پرورشی این ماهیان است [۱۸]. چندین مطالعه، تغییرات هیستوپاتولوژیک

توری فلزی قرار گرفتند که با توجه به این عمق کم شدت تابش در آب تغییر بارزی ندارد. طول زمان آزمایش ۹ روز بود و در واقع با مرگومیر تمام لاروها در این زمان، آزمایش به پایان رسید.

برای مطالعات بافت‌شناسی در فواصل زمانی ۴۸ ساعت از هر تیمار به طور تصادفی ۱۰ نمونه انتخاب و در بوئن ثابت شدند. پس از ۲۴ ساعت، برای آگیری و نگهداری در الکل اتانول ۷۰٪ قرار داده شدند. مراحل آگیری با استفاده از الکل‌های ۹۰، ۹۵ و ۱۰۰٪ و نهایتاً با الکل بوتیلیک (۱۲ ساعت) انجام گرفت. مراحل شفاف‌سازی نمونه‌ها با استفاده از تولوئن انجام شد. نمونه‌ها بعد از ۹ ساعت نگهداری در داخل پارافین مایع (داخل اون با دمای ۶۰°C) در داخل پارافین قالب‌گیری شدند. سپس از نمونه‌های آماده شده مقاطع ۴ میکرونی با استفاده از میکروتوم MICRODS ۴۰۵۵ تهیه شد. برشهای تهیه شده با رنگهای هماتوکسیلین و فوشین رنگ‌آمیزی و با استفاده از میکروسکوپ نوری Micros AUSTRIA مطالعه شدند [۲۴، ۲۵].

مرگ و میر با استفاده از درصدگیری و تأثیر اشعه بر تغییرات قطر اپیدرم و تعداد سلولهای موکوسی با استفاده از on-way ANOVA و تست Tukey بررسی شد.

میزان مرگومیر لاروهای قرارگرفته در معرض دو دز متفاوت اشعه UV-B ( $68/75 \mu w/cm^2$  و  $94/83$ ) در ۴ روز اول با لاروهای قرار نگرفته در معرض اشعه UV-B برابر و کمتر از ۵٪ بود. به دنبال آن در روزهای بعد مرگومیر در دو تیمار UV-B شدت گرفت تا اینکه در روز نهم همه لاروها تلف شدند. در تیمار شاهد از روز ۴ تا روز ۹ مرگومیری مشاهده نشد.

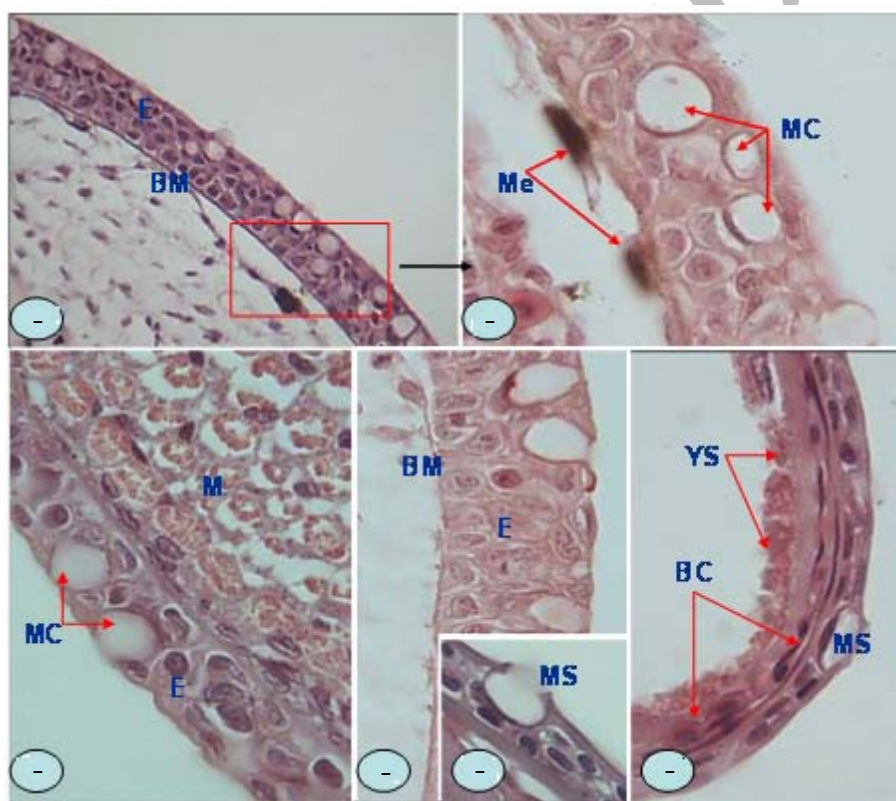
گزارشهای متعددی درباره متفاوت بودن حساسیت گونه‌های مختلف ماهیان به اشعه UV-B منتشر شده است [۲۲]. همچنین گزارش شده گونه‌های سالمونیده Rainbow trout, Apache trout, Lahontan cutthroat trout حساسیتهای متفاوتی به اشعه UV-B دارند و این زمانی گفته شد که پیگمانتاسیون پوست، آفتاب سوختگی و عفونتهای قارچی مشاهده شد [۲۲]. با توجه به افزایش روزافزون تشعشعات UV-B خورشید در زمین و همچنین کم‌آب شدن رودخانه‌های محل تخم‌ریزی، این تحقیق با هدف بررسی تأثیر اشعه UV-B بر ساختار پوست و میزان مرگومیر در لارو ماهی آزاد دریای خزر انجام شد.

تخم ماهی آزاد در فصل زمستان در مرحله چشم‌زده و ۲ روز مانده به تفریح از کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی شهید باهنر کلاردشت واقع در استان مازندران، تهیه شد و به آزمایشگاه آبیان دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس منتقل گردید. نمونه‌ها در مخزنی به طول ۲/۱۰، عرض ۴۵ و ارتفاع ۱۸cm، با سیستم جریان آب گردش قرار داده شدند و روزانه یک پنجم آب مخزن آگیری با حجم ۰/۶۳ متر مکعب، تعویض می‌گردید. در طول دوره، نوسانهای دمایی بین ۸-۱۱°C، pH ۸/۵۱، اکسیژن محلول ۷/۷mg/L و هدایت الکتریکی  $491 \mu s/cm$  اندازه‌گیری شد. در مخزن سه سبد فلزی قرار داد شد و به دلیل نورگریز بودن لارو ماهی آزاد، روی مخزن و فاصله بین سبدها با پلاستیک مشکی ضخیم چند لایه پوشانده شد. تیمار شاهد و تیمارهای UV-B با فاصله‌های ۳۵ و ۴۵cm به ترتیب (دزهای  $68/75 \mu w/cm^2$  و  $94/83$ ) از لامپ UV-B مدل F8T5.UV-B (ساخت ژاپن) با طول موج ۳۰۲nm، به طور جداگانه در سبدها قرار داده شدند. در هر سبد ۳۵۰ تخم قرار داده شد. ماهیها هر روز به مدت ۱۵ دقیقه در فاصله زمانی ساعت‌های ۱۳/۱۵ تا ۱۳/۳۰ در معرض اشعه UV-B قرار می‌گرفتند. نمونه‌ها در عمق ۶cm از سطح آب در این سبدهای

تغییرات اونتوژنیک در فراوانی سلولهای موکوسی در پوست در همه قسمتهای بدن دیده شد. بنابراین از نمونههای تهیه شده از تمام قسمتهای بدن میانگین گرفته شد. تعداد سلولهای موکوسی در تیمار شاهد در طول دوره آزمایش روندی کاهشی را نشان دادند که البته این کاهش در پایان دوره نسبت به روز اول معنادار نبود (نمودار ۱).

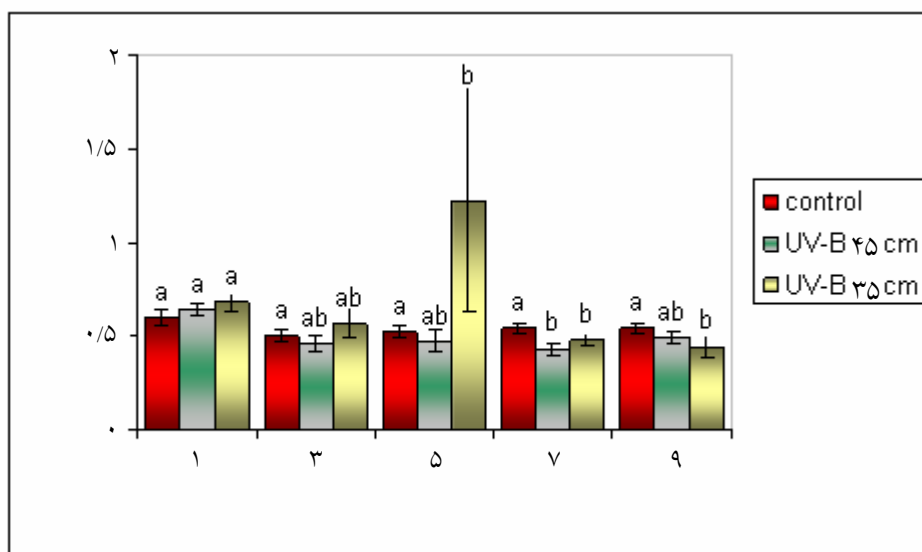
### UV-B

پوست سالم در لارو کیسه‌زرده‌دار ماهی آزاد دریای خزر، متمایز نشده، بدون ناحیه درم مشخص و شامل ۲-۳ لایه سلول کشیده شده روی ملانوفرها و عضلات پشتی بود (شکل ۱-۱، ۲-۱). تعداد زیادی سلولهای موکوسی در اپیدرم سراسر بدن پراکنده شده بودند (شکل ۱-۱، ۴-۱). لاروها در این مرحله رشد فلسی روی پوست نداشتند (شکل ۱-۳).



بررسی بافت‌شناسی پوست تیمار شاهد در لارو ماهی آزاد دریای خزر، رنگ‌آمیزی شده با هماتوکسیلین و فوشین

- ساختار کلی پوست در لاروهای تیمار شاهد با بزرگنمایی ۴۰۰، شامل اپیدرم دو یا سه لایه سلولی بدون ناحیه درم مشخص، سلولهای موکوسی در سراسر اپیدرم پراکنده‌اند.
- MC: سلولهای موکوسی، BM: غشای پایه، MS: سلولهای موکوسی در حال ترشح، E: اپیدرم، M: سلولهای ماهیچه‌ای، YS: کیسه زرده، BC: سلولهای خونی، Me: ملانین. سایر شکلها، ساختار قسمتهای مختلف پوست را با بزرگنمایی ۱۰۰۰ نشان می‌دهد.



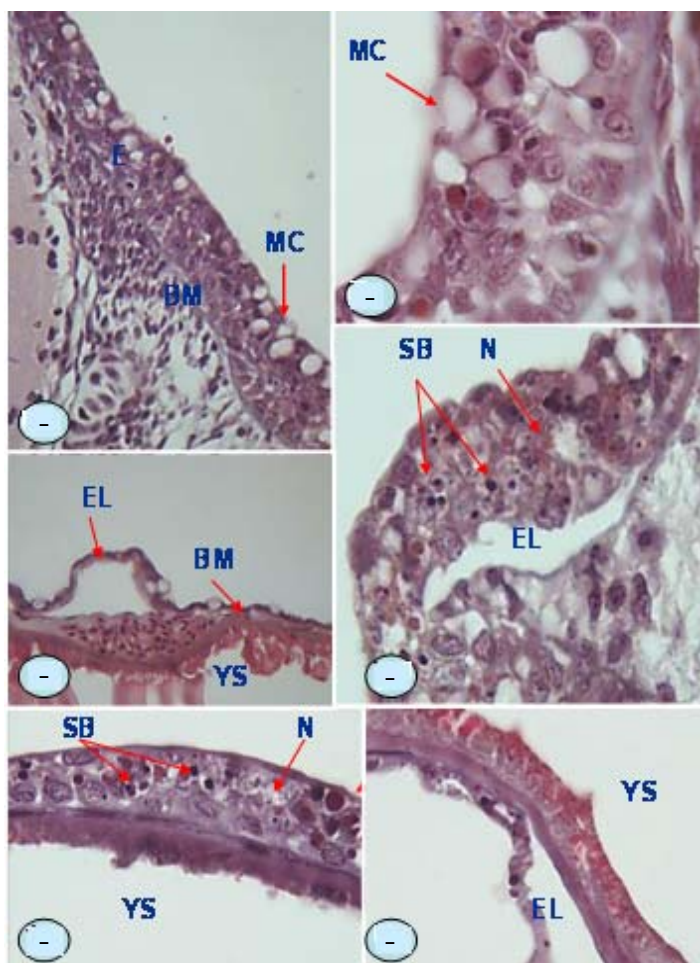
تعداد سلولهای موکوسی (میانگین  $\pm$ SD) در  $10000 \mu m^2$  سطح پشتی آوین ماهی آزاد دریای خزر در تیمارهای UV-B و تیمار کنترل طی دوره آزمایش حروف متفاوت نشان دهنده معنادار بودن تفاوت است (آزمون Tukey  $P < 0.01$ ).

این آسیبها از روز ۵ شروع شدند و با ادامه یافتن روند اشعه دیدن، افزایش یافتند. آسیبها در تمام قسمتهای بدن شامل بخش پشتی، شکمی و کیسه زرده دیده شدند اما شدت آسیبها در سطح پشتی بیشتر بود.

در لاروهای قرارگرفته در معرض اشعه UV-B در فاصله ۳۵cm روند تغییرات تعداد سلولهای موکوسی (نمودار ۱)، درصد سلولهای موکوسی ترشح کننده، تغییرات ضخامت اپیدرم و آسیبهای وارده به پوست شامل جدا شدن اپیدرم از غشای پایه (شکلهای ۱-۳، ۳-۳، ۴-۳، ۷-۳) و سلولهای آفتاب سوخته (شکلهای ۳-۵، ۳-۹)، با آنچه در لاروهای قرارگرفته در معرض اشعه UV-B در فاصله ۴۵ cm مشاهده گردید، مشابه بود. با این تفاوت که شدت تغییرات و آسیبها در فاصله ۴۵cm کمتر از فاصله ۳۵cm بود. همچنین در لاروهای قرارگرفته در معرض اشعه UV-B در فاصله ۳۵ cm، ریختن یک لایه از سلولهای اپیدرم مشاهده گردید (شکل ۳-۴) که در تیمار با فاصله ۴۵ cm مشاهده نشد. در کل تفاوت معناداری در میزان آسیبها بین دو تیمار UV-B دیده نشد اما بین تیمارهای UV-B و شاهد تفاوت معناداری مشاهده شد.

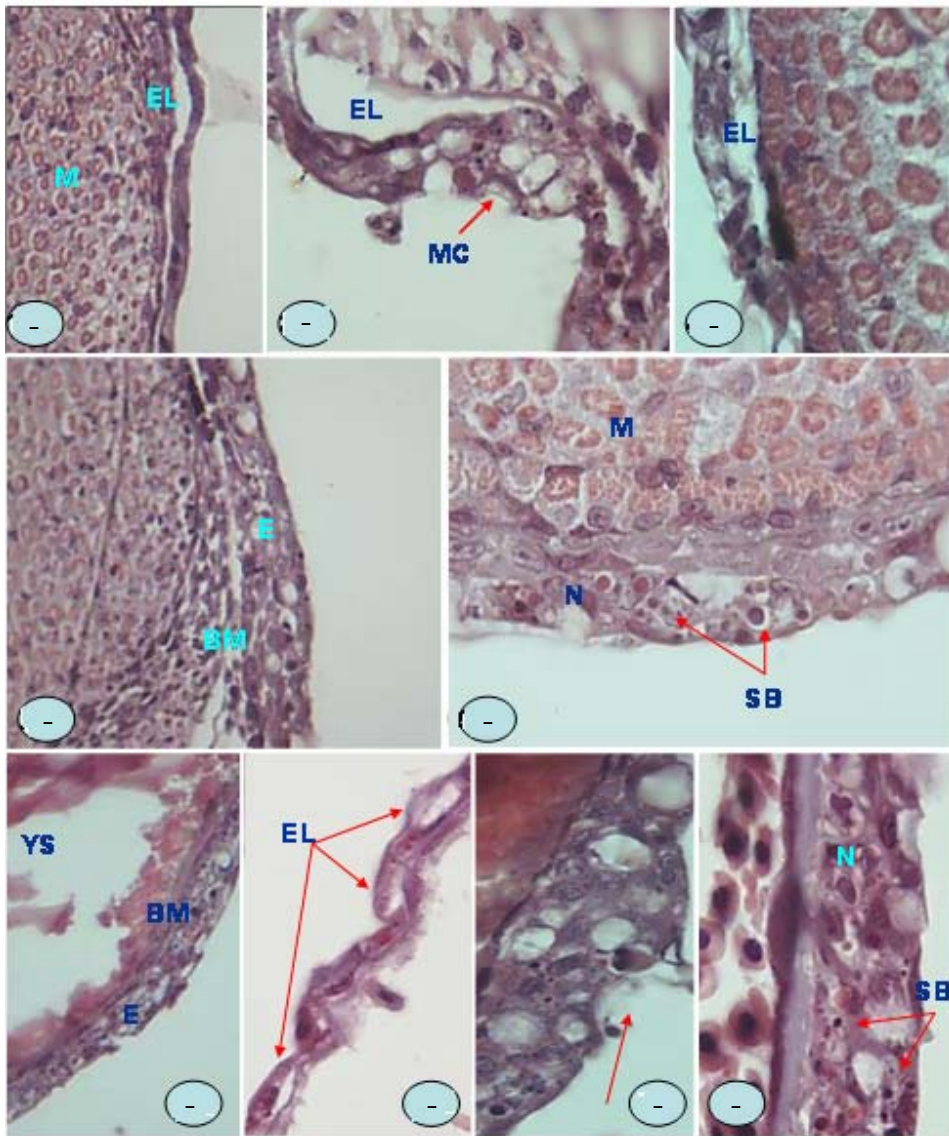
در لاروهای قرارگرفته در معرض اشعه UV-B در فاصله ۴۵cm تغییرات تعداد سلولهای موکوسی و درصد سلولهای موکوسی ترشح کننده روندی سینوسی را نشان دادند؛ به این صورت که در طول دوره آزمایش تعداد سلولهای موکوسی کاهش، افزایش و دوباره کاهش یافتند. کاهش تعداد سلولهای موکوسی در انتهای دوره نسبت به ابتدای دوره معنادار (نمودار ۱) و اندازه سلولهای موکوسی نیز کوچکتر بود (شکل ۲-۲). روند تغییرات درصد سلولهای موکوسی ترشح کننده برعکس روند تغییرات تعداد سلولهای موکوسی بود. تغییرات قطر اپیدرم نیز در طول دوره آزمایش روند سینوسی افزایشی-کاهشی را نشان داد. در حالی که در تیمار شاهد روند افزایشی قطر اپیدرم مشاهده گردید. این تغییرات از نظر آماری معنادار تشخیص داده نشدند.

در پوست لاروهای قرارگرفته در معرض اشعه UV-B در فاصله ۴۵ cm، اپیدرم از غشای پایه جدا شد (شکل ۲-۳، ۲-۴، ۲-۶) و بخش بزرگی از اپیدرم شامل سلولهای نکروزی، هسته‌های چروکیده و با مواد هسته‌ای فشرده بود (شکل ۲-۳، ۲-۵). سلولهای بشدت آسیب پذیرفته با هسته‌های متراکم، توصیفی از پاسخ آفتاب سوختگی بودند.



بافت پوست پوست لارو ماهی آزاد دریای خزر، رنگ‌آمیزی شده با هماتوکسیلین و فوشین

- ، - - : ساختار پوست سطح پشتی بدن در لارو قرارگرفته در معرض اشعه UV-B در فاصله ۴۵ cm؛ ۱-۲: ساختار کلی اپیدرم ۲-۲: سلولهای موکوسی ریز تازه ساخته شده ۲-۳: جدا شدن اپیدرم از غشای پایه، سلولهای آفتاب سوخته و نکروز. سلولهای آفتاب سوخته ۲-۶: جدا شدن اپیدرم از غشای پایه. ساختار پوست کیسه زرده در لاروهای اشعه دیده با فاصله ۴۵ cm؛ ۲-۴: ساختار کلی پوست کیسه زرده ۲-۵: نکروز و سلولهای آفتاب سوخته ۲-۶: جدا شدن اپیدرم از غشای پایه. MC: سلولهای موکوسی، BM: غشای پایه، N: نکروز، EL: جدا شدن اپیدرم از غشای پایه، SB: سلولهای آفتاب سوخته، E: اپیدرم، YS: کیسه زرده. شکل‌های ۱-۲ و ۲-۴ دارای بزرگنمایی ۴۰۰ و بقیه تصاویر دارای بزرگنمایی ۱۰۰۰ می باشند.



بافت‌شناسی پوست لارو ماهی آزاد دریای خزر، رنگ‌آمیزی شده با هماتوکسیلین و فوشین

۱-۳: جدا شدن اپیدرم از غشای پایه ۲-۳: ساختار کلی اپیدرم اشعه دیده ۳-۳: سلولهای موکوسی ریز تازه ساخته شده ۳-۴: جدا شدن اپیدرم از غشای پایه و ریختن یک لایه سلولی ۳-۵: سلولهای آفتاب سوخته و نکروز.

۳-۶: ساختار کلی پوست کیسه زرده ۳-۷: جدا شدن اپیدرم از غشای پایه ۳-۸: پارگی اپیدرم ۳-۹: نکروز و سلولهای آفتاب سوخته.

MC: سلولهای موکوسی، BM: غشای پایه، N: نکروز، EL: جدا شدن اپیدرم از غشای پایه، SB: سلولهای آفتاب سوخته، E: اپیدرم، M: سلولهای ماهیچه‌ای، YS: کیسه زرده.

شکلهای ۱-۳، ۲-۳ و ۳-۶ دارای بزرگنمایی ۴۰۰ و بقیه تصاویر دارای بزرگنمایی ۱۰۰۰ هستند.

برخی تأثیرات مشاهده شده در پوست اشعه دیده لارو ماهی آزاد دریای خزر، شامل ریزش اپیدرم یا جدا شدن اپیدرم از غشای پایه پاسخهای غیروژهای اند که می‌توانند در دیگر شرایط پاتولوژیک مانند هجوم پارازیتها نیز دیده شوند [۲۸، ۲۹]. در تحقیق حاضر ریزش اپیدرم در انتهای دوره آزمایش مشاهده می‌شود و تعداد سلولهای موکوسی، روند سینوسی کاهش-افزایش-کاهش را نشان می‌دهند. در کار انجام شده روی *Salmo trutta* به وسیله نوکیدا<sup>۲</sup> (۱۹۹۷)، ریزش پوست بلافاصله بعد از اشعه مشاهده شد و سلولهای موکوسی در ۲۴ ساعت اول به طور کامل ناپدید شدند. به دلیل خصوصیت چند وظیفه‌ای لایه موکوس در سطح پوست، یک سد قوی فیزیکی، شیمیایی و ایمنی محافظت کننده ماهی در برابر آسیبها و بیماریهاست. به طوری که شرایط نامطلوب محیطی شامل باران اسیدی، سمهای محلول، استرس دمایی و بیماریها معمولاً باعث ضخیم شدن لایه موکوس می‌شوند. به هر حال نتایج نشان داده که، وقتی ماهی در معرض اشعه UV-B قرار می‌گیرد، تعداد سلولهای موکوسی در محیط در معرض قرارگرفته پوست، به طور بارز و وسیعی وابسته به دز UV-B افزایش می‌یابند [۱۹]. دلیل اختلاف این نتایج با نتایج به دست آمده در این تحقیق می‌تواند دز به کار برده شده در آزمایش نوکیدا ( $380 \mu\text{w}/\text{cm}^2$ ) در مقایسه با دز به کار برده شده در این آزمایش ( $94/83 \mu\text{w}/\text{cm}^2$ ) باشد. به نظر می‌رسد که دز بالاتر تخریب بیشتر اپیدرم را برمی‌انگیزد. به طور مشابهی روند سینوسی کاهش-افزایش-کاهش تعداد سلولهای موکوسی که در طول دوره این آزمایش نسبت به آزمایش نوکیدا رخ می‌دهد به دلیل روند استفاده از ظرفیت ترشحی-دفاعی سلولهای موکوسی و به دنبال آن داشتن زمان لازم برای ساخته شدن و سپس ترشح مجدد و در نتیجه کاهش یافتن سلولهای موکوسی است. همانطور که می‌دانیم ۴-۶ روز برای زمان تشکیل سلولهای موکوسی در گونه ماهیان متفاوت فرض شده است [۱۹] که در آزمایش حاضر

مطالعات قبلی نشان دادند که اشعه UV-B برای ماهیان زیان‌آور است [۱۹، ۲۰، ۲۲]. خصوصاً در مراحل جنینی و لاروی، تأثیرات شدید اشعه UV-B رشد لارو را به تأخیر می‌اندازد و قابلیت زنده ماندن متولد شده‌ها را کاهش می‌دهد [۳]. تفاوت در فراوانی مرگ‌ومیر بین تیمار شاهد و تیمارهای UV-B در این آزمایش نشان می‌دهد که لاروهای *Salmo trutta caspius* به اشعه UV-B حساسند. تمام لاروهای قرارگرفته در معرض اشعه UV-B بعد از ۹ روز در معرض قرارگیری تلف شدند اما در تیمار شاهد مرگ و میر معناداری مشاهده نشد. مطالعات زیادی در مورد تأثیر اشعه UV-B بر زنده‌مانی لارو ماهیان انجام شده و همگی نشان داده‌اند اشعه UV-B تأثیر معناداری بر مرگ‌ومیر لاروها دارد [۴، ۱۴، ۱۵، ۲۶، ۲۷] که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد.

طبق مقایسه، در آزمایش پاسخ هیستوپاتولوژی لارو تازه تفریخ شده ماهی سفید (*Coregonus lavaretus s.l.*) به اشعه UV-B ایجاد کننده سمیت ریتین<sup>۱</sup> نشان داده شد که، اشعه UV-B تأثیری بر میزان مرگ‌ومیر لارو ماهی سفید ندارد. این نتیجه برخلاف نتیجه مطالعه حاضر بوده و مقاومت بودن لارو *Salmo trutta caspius* را نسبت به *Coregonus lavaretus s.l.* در مقابل اشعه UV-B نشان می‌دهد [۳].

بررسی دیگری نشان داد که تفاوتی در مرگ و میر *medaka (Oryzias latipes)* رنگدانه‌دار و بی‌رنگدانه، به دنبال قرارگرفتن در معرض اشعه UV-B مصنوعی وجود ندارد. آنالیز اسپکتوفوتومتر از لایه پوست پشتی بدن قبل از قرارگرفتن در معرض اشعه، نشان داد که هر دو نوع *medaka* رنگدانه‌دار و بدون رنگدانه دارای ذرات رنگدانه‌ای غیر از ملانین هستند که از آنها در برابر اشعه محافظت می‌کند [۱۰]. به دلیل قرارگیری مستقیم در معرض اشعه UV-B، پوست می‌تواند اندام هدف اولیه در لارو ماهیانی باشد که در طول رشد اولیه‌شان از تنفس پوستی استفاده می‌کنند [۳].



ضخامت اپیدرم خصوصاً در دزهای بالا مشاهده می‌شود در حالی که پوست Torbut تأثیری نمی‌پذیرد. مشاهده سلولهای آفتاب سوخته در آزمایش حاضر نتایج این آزمایش را تأیید می‌کند. برخلاف نتیجه این آزمایش، ضخامت اپیدرم در آزمایش حاضر ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت که می‌تواند به دلیل دز و زمان به کار رفته در آزمایش حاضر باشد که در نهایت منجر به ریختن اپیدرم و در نتیجه کاهش ضخامت آن می‌شود. عدم تأثیرپذیری Turbot مقاوم بودن این لارو را نسبت به لارو *Salmo trutta caspius* نسبت به اشعه UV-B نشان می‌دهد [۳۷].

نتیجه نهایی اینکه، اگرچه اپیدرم تلوستها در برابر اشعه UV-B به وسیله رنگدانه محافظت نمی‌شود، بافت گونه‌های زیست کننده در محیط آبهای کم عمق با آبهای شفاف به وسیله سنتز مواد جذب کننده UV-B از آفتاب سوختگی محافظت می‌شود، به هر حال ماهیان مقاوم به UV-B هم از کاهش شدید سلولهای موکوسی که ممکن است دفاع غیرویژه باشند، رنج می‌برند. علاوه بر این درست است که تخم ماهی آزاد در زیر سنگریزه‌ها گذاشته می‌شود و لارو زمانی از آنجا خارج می‌شود که کیسه‌زده جذب شده است اما ممکن است در این میان تخمها و به دنبال آن لاروهایی هم خارج از سنگریزه‌ها بمانند و در معرض اشعه UV-B محیطی قرار بگیرند که با آسیب به پوست و مستعد کردن آن برای عفونتهای قارچی باعث مرگ‌ومیر آنها شود. پوست آسیب دیده محیط مناسبی برای هجوم انگلها و عفونت است که ممکن است در کنار اشعه UV-B عاملی قوی برای مرگ‌ومیر باشد. در این تحقیق در آزمایشی روی لاروهای ۱۸ روزه ماهی آزاد دریای خزر که تقریباً کیسه‌زده آن جذب شده بود و در مرحله‌ای بود که در طبیعت از زیر سنگریزه‌ها خارج می‌شود، نشان داده شد که اشعه UV-B در این مرحله نیز باعث آسیبهای پوستی و مرگ‌ومیر می‌شود.

این زمان وجود داشته است. کاهش سلولهای موکوسی در آزمایش نوکیدا ممکن است نتیجه هر دو، کوتاه شدن نیمه زندگی به دلیل تحریک ترشح و ممانعت از تشکیل سلولهای جدید باشد [۲۰].

نکروز، سلولهای آفتاب‌سوخته و پارگی اپیدرم از جمله عوارض هیستوپاتولوژیک بافت پوست در لارو ماهیان قرارگرفته در معرض اشعه UV-B است که در تحقیقات دیگر نیز گزارش شده است [۶، ۳۰-۳۴]. نتایج حاصل از این تحقیق نیز مؤید این نتایج است.

سلولهای آفتاب‌سوخته اولین بار ۴ روز بعد از اشعه دیدن آشکار می‌شوند و پاسخی اختصاصی در برابر اشعه UV-B هستند. در آزمایش انجام شده روی *Salmo trutta* توسط نوکیدا (۱۹۹۷) نیز این نتیجه به دست آمد. وی بیان کرد که این سلولها ممکن است تأثیر تأخیری و غیرمستقیمی را نشان دهند که به وسیله آسیب سلولهای اپیتلیال توسط اشعه و بعد از گسترش اشکال سلولهای آفتاب سوخته، نشان داده می‌شوند [۲۰].

در سال (۱۹۸۸) بل لوک<sup>۱</sup> ایجاد سلولهای آفتاب سوخته نوع A و B را در ماهی گزارش کرد؛ نوع A دارای هسته‌های piknotic با هاله‌ای اطراف هسته، شبیه سلولهای آفتاب سوخته که در پستانداران گزارش شده است و نوع B دارای یک یا بیشتر هسته piknotic کروی است [۳۵]. به هر حال در این آزمایش شبیه آزمایش نوکیدا تفاوت کیفی در سلولهای آفتاب سوخته دیده نشد.

تحقیقات روی گونه *Razorback suckers (Xyrauchen texanus)* نشان داد که به تحریکات اشعه UV-B مقاوم است و علائمی از آفتاب‌سوختگی نشان نمی‌دهد که احتمالاً به دلیل مواد محافظت کننده نوری در پوستش است [۳۶].

مطالعات بافت‌شناسی روی پوست Sole و Turbot که در معرض ۴ سطح اشعه UV-B قرار گرفته بودند، نشان داد در پوست Sole علائمی از آفتاب سوختگی و افزایش

- [1] Kirk J. T. O.; Optics of UV-B radiation in natural water; Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol; 1994; 43: 1-16.
- [2] Kerr J. B., McElroy C. T.; Evidence for large upward trends of Ultraviolet-B radiation linked to ozone depletion; Science; 1993; 262: 1032-1034.
- [3] Hakkinen J., Vehniainen E., Oikari A.; Histopathological responses of Newly hatched larvae of Witefish (*Coregonus lavaretus*) to UV-B induced Toxicity of Retene; Aquat Toxicol; 2002; 63: 159-171.
- [4] Steeger H. U., Freitag J. F., Michl S., Wiemer M., Paul R.J.; Effects of UV-B radiation on embryonic, larval and juvenile stages of North Sea plaice (*Pleuronectes platessa*) under simulated ozone-hole conditions; Helgol Mar Res; 2001; 55(1): 56-66.
- [5] Hunter R. J., Sandor S. E., Taylor J.H.; Effects of solar and artificial Ultraviolet-B radiation on larval northern anchovy, *Engraulis mordax*; Photochem. Photobiol; 1981; 34: 477-486.
- [6] Blazer V. S., Fabacher D. L., Little E. E., Ewing M.S., Kocan K.M.; «Effects of Ultraviolet-B radiation on fish: histological comparison of a UVB-sensitive and a UVB-tolerant species»; J. Aquat. Anim. Health; 1997; 9: 132-143.
- [7] Beland F., Browman H. I., Rodriguez C. A., Jean-Francois S. T. P.; Effect of Solar Ultraviolet radiation (280-400nm) on the egg and larvae of Atlantic cod (*Gadus morhua*); Can.J.Fish. Aquatic Sci; 1999; 56(6): 1058-1067.
- [8] Kiesecker J. M., Blaustein A. R.; Synergism between UV-B radiation and a pathogen magnifies amphibian embryo mortality in nature; Proc. Natl. Acad. Sci. USA; 1995; 92: 11049- 11052.
- [9] Alemanni M. E., Lozada M., Zagarese H. e.; Assessing sublethal effect of Ultraviolet radiation in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Photochem. Photobiol. Sci; 2003; 2: 867-870.
- [10] Fabacher D. L., Little E. E., Ostrander G. K.; Tolerance of an albino fish to Ultraviolet-B radiation; Environ. Sci. Pollut. Res; 1999; 6: 69-71.
- [11] Cullen A. P., Monteith-McMaster C. A.; Damage to the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) lens following acute dose of UV-B; Curr. Eye Res; 1993; 12: 97.
- [12] Salo H. M., Aaltonen T. M., Markkula S. E., Jokinen E.I.; Ultraviolet B radiation modulates the immune system of fish (*Rutilus rutilus*, Cyprinidae); 1. Phagocytes, Photochem. Photobiol; 1998; 67: 433-437.
- [13] Salo H. M., Jokinen E. I., Markkula S. E., Aaltonen T. M.; Ultraviolet B radiation modulates the immune system of fish (*Rutilus rutilus*, Cyprinidae); 2. Blood, Photochem. Photobiol; 2000; 71: 65-71.
- [14] Hakkinen J., Oikari A.; A field methodology to study effect of UV radiation on fish larvae; Water Res; 2004; 38: 2891-2897.
- [15] Battini M., Rocco V., Lozada M., Tartarotti B.,Zagarese H.E.; effects of ultraviolet radiation on the eggs of landlocked *Galaxias maculatus* (Galaxidae, Pisces) in Northwestern Patagonia; Freshwater Biol; 2000; 44: 547- 552.
- [16] Fabacher D. L., Little E. E.; Skin component may protect fishes from ultraviolet-B radiation; Environ Sci Pollut Res Int; 1995; 2: 30-32.
- [17] Peleteiro M. C., Richards R. H.; Immunocytochemical studies on immunoglobulin-containing cells in the epidermis of rainbow trout *salmo gairdneri* Richardson; J. Fish. Biol; 1988; 32: 845-858.
- [18] Markkula S. E., Salo H. M., Rikalainen A. K., Jokinen E. I.; Different sensitivity of carp (*Cyprinus carpio*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to the immunomodulatory effects of UV-B irradiation; Fish & shellfish Immunology; 2006; 21: 70-79.

- [19] Kawewat K., Hofer R.; Effect of UV-B radiation on goblet cells in the skin of different fish species; J. Photochem. Photobiol. B: Biol; 1997; 41: 222-226.
- [20] Noceda C., Gonzalez-Sierra S., Martinez J. L.; Histopathology of UV-B irradiated brown trout (*Salmo trutta*) skin; Dis Aquat Organ; 1997; 31: 103-108.
- [21] Bullock A. M., Roberts R. J.; The influence of ultraviolet-B radiation on the mechanism of wound repair in the skin of the Atlantic salmon, *Salmo salar* L.; J Fish Dis; 1992; 15: 143- 52.
- [22] Little E. E., Fabacher D. L.; Comparative sensitivity of rainbow trout and two threatened salmonids, Apache trout and Lahontan cutthroat trout, to ultraviolet-B radiation; Arch Hydrobiol; 1994; 43: 217-26.
- [23] Kouwenberg J. H. M., Browman H. I., Cullen J. J., Davis R. F., St-Pierre J. F., Runge J. A.; Biological weighting of ultraviolet-B induced mortality in marine zooplankton and fish. 1. Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) eggs; Marine biology; 1999; 134: 269-284.
- [24] خدابنده ص، تقی زاده ز؛ «مکان یابی آنزیم  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  - ATPase و سلولهای یونوسیت در آبشش گربه ماهی *Silurus glanis* به روش ایمونو هیستوشیمی»؛ مجله یاخته؛ شماره ۱، بهار ۱۳۸۵؛ صص ۴۵-۵۲.
- [25] Khodabandeh S., Charmantier G., Blasco C., Grousset E., Charmantier-Danures M.; Ontogeny of the antennal glands in the crayfish *Astacus leptodactylus* (Crustacea, decapoda), anatomical and cell differentiation; Cell & Tissue Research; 2005a; Vol. 319: 153-165.
- [26] Marco A., Lizana M., Alvarez A., R. Blaustein A.; Egg-wrapping behavior protects newt embryos from UV radiation; Animal Behaviour; 2001; 61: 639-644.
- [27] Hakkinen J., Vehniainen E., Oikari A.; High sensitivity of northern pike larvae to UV-B but no UV-Photoinduced toxicity of retene; Aquat Toxicol; 2004; 66: 393-404.
- [28] Martinez J. L., Fernandez B-de Quiros C., Baschwitz G.G., Munoz C.; Evolucion de las lesiones causadas por Saprolegnia en el tegumento de trucha (*Salmo trutta* L.); Cuad Marisq publ Tec; 1987; 12: 615-620.
- [29] Robertson D. A., Roberts R. J., Bullock A. M.; Pathogenesis and autoradiographic studies of the epidermis of salmonid infested with *Ichtyobodo necator*; J Fish Dis; 1981; 4: 113-125.
- [30] Berghahn R., Bullock A. M., Karakiri M.; Effects of solar radiation on the population dynamics of juvenile flatfish in the shallows of the Wadden Sea; J Fish Biol; 1993; 42: 329-345.
- [31] Bullock A. M., Roberts R. J.; Sunburn lesions in salmonid fry: a clinical and histological report; J Fish Dis; 1981; 4: 271-275.
- [32] Bullock A. M., Roberts R. J., Waddington P., Bookless W.A.D.; Sunburn lesions in koi carp; Vet Rec; 1983; 112, 551
- [33] Dunbar C.; Sunburn in fingerling rainbow trout; Progressive Fish-Culturist; 1959; 21: 74.
- [34] Ramos K. T., Fries L. T., Berkhouse C. S., Fries J. N.; Apparent sunburn of juvenile paddlefish; Progressive Fish-Culturist; 1994; 56: 214-216.
- [35] Bullock A. M., Solar ultraviolet radiation: a potential hazard in the cultivation of farmed finfish. In: Muir J. F., Roberts R.L.; Recent advances in aquaculture, Vole 3, Croom Helm, London, P; 1988;139-224.
- [36] Zagarese H. E., Williamson C. E.; the implications of solar UV radiation exposure for fish and fisheries; Fish & Fisheries; 2001; 2: 250-260.
- [37] McFadzen I., Baynes S., Hallam J., Beesley A., Lowe D.; Histopathology of the skin of UV-B irradiated sole (*Solea solea*) and turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae; Marine Environ Res; 2000; 50: 273-277.