



مقاله پژوهشی

اثرات آب مغناطیده توسط شدت‌های مختلف میدان مغناطیسی ایستا بر سطح پروتئین و سلول‌های خونی تاس‌ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*)

آرزو چرمی^۱، عبدالعلی موحدی‌نیا^{۲*}، محمود بهمنی^۳، نگین سلامات^۴، مهتاب یارمحمدی^۵

تاریخ دریافت: بهمن ۹۷

تاریخ پذیرش: فروردین ۹۸

چکیده

در مطالعه حاضر اثرات آب مغناطیده بر سطوح پروتئین کل، آلومین، گلبول‌های قرمز و سفید، هموگلوبین و هماتوکریت تاس‌ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌برداری از تاس‌ماهیان استرلیاد (۴۰ قطعه با میانگین وزن $100/46 \pm 4/51$ گرم و میانگین طول کل $31/73 \pm 0/80$ سانتی‌متر) که در معرض میدان مغناطیسی با شدت‌های ۵، ۱۵ و ۲۵ میلی‌تسلا قرار گرفتند و همچنین نمونه‌های شاهد، انجام شد. هر تیمار شامل دو تکرار و هر تکرار حاوی ۵ قطعه ماهی بود. خون‌گیری از ماهیان در روزهای ۳۰ و ۶۰ انجام شد. طبق نتایج به دست آمده، تعداد گلبول‌های قرمز و سفید خون، هماتوکریت و هموگلوبین در ماهی‌های تحت تیمار با شدت‌های مختلف میدان مغناطیسی در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری در زمان‌های مورد بررسی نداشت. همچنین سطح پروتئین کل و آلومین تغییر چندانی را در تیمار با شدت‌های مختلف میدان مغناطیسی نسبت به گروه شاهد نشان نداد. با توجه به این که پژوهش حاضر، نخستین مطالعه در زمینه اثرات آب مغناطیس بر تاس‌ماهیان استرلیاد در بازه زمانی نسبتاً طولانی است، می‌تواند زمینه‌ساز مطالعات آتی در این زمینه باشد.

واژگان کلیدی: آب مغناطیده، میدان مغناطیسی ایستا، تاس‌ماهی استرلیاد، *Acipenser ruthenus*.

۱- دکتری زیست‌شناسی دریا، گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران.

۲- دانشیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه مازندران، بابل، ایران.

۳- استاد موسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، رشت، ایران.

۴- دانشیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران.

۵- استادیار موسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، رشت، ایران.

* نویسنده مسئول: amovahedinia@umz.ac.ir

مقدمه

حتی می‌توانند در حضور میدان‌های مغناطیسی خیلی قوی (۱۰ تسلا) از جای خود پرتاب شوند (Ikezoe et al., 1998). بسیاری از ویژگی‌های غیرمعمول مولکول آب و نیز تاثیرپذیری آن از میدان مغناطیسی می‌تواند به پیوندهای هیدروژنی بین مولکول‌های آب نسبت داده شود (McMahon, 2009). امروزه نظر بر این است که در حضور میدان‌های مغناطیسی تعداد قابل توجهی از شبکه‌های ۴ تایی مولکول‌های آب تشکیل می‌شود. به طور کلی بین تعداد پیوندهای هیدروژنی و نیروهای واندروالس در شبکه مولکولی آب تعادل وجود دارد، هر گونه ضعف در برهم‌کنش‌های واندروالس منجر به تقویت پیوندهای هیدروژنی و ایجاد شبکه‌های بزرگ‌تر هیدروژنی می‌شود (Wang et al., 2007). در مطالعه دیگری، با اندازه‌گیری ویسکوزیته، آنتالپی و کشش سطحی آب پیشنهاد شد که تحت القای میدان مغناطیسی تغییراتی در سطح این پیوندها صورت می‌گیرد (Toledo et al., 2008). این تغییرات شامل تضعیف نیروهای واندروالس و تضعیف و افزایش پیوندهای هیدروژنی است. علاوه بر این، بررسی تغییر در انرژی درونی و ظرفیت گرمایی خالص آب تحت تاثیر میدان مغناطیسی نشان داد که

آب فراوان‌ترین جز تشکیل دهنده سلول‌های زنده است و به عنوان بهترین حلال، محیطی را فراهم می‌سازد که مولکول‌ها می‌توانند در بین سلول‌ها و در درون آن‌ها حرکت داشته باشند و تاثیر به سزایی نیز بر ساختمان مولکول‌ها و خصوصیات پروتئین‌ها، غشاهای اسیدهای هسته‌ای و سایر اجزای سلول دارد. آب یک مولکول دیامغناطیس است و به سبب وجود پیوندهای هیدروژنی بین مولکول‌های آن می‌تواند تحت تاثیر میدان‌های الکتریکی، مغناطیسی و الکترومغناطیسی تغییر یابد (Montagnier et al., 2009, 2011). امروزه آزمایش‌های مختلفی در مورد تاثیرات میدان مغناطیسی بر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب انجام شده است که نشان می‌دهند آب در حضور میدان مغناطیسی، مغناطیده شده و برخی ویژگی‌های فیزیکی آن تغییر می‌کند. تغییرات ایجاد شده در آب مغناطیده شامل تغییر در ویژگی‌های اپتیکی، ترمودینامیکی و مکانیکی آب شامل چگالی، نیروی کشش سطحی، نقطه ذوب و انجماد و هدایت الکتریکی است (Higashitani et al., 1996; Bour, 2002; Chang and Weng, 2006). مولکول‌های آب به علت خاصیت دیامغناطیسی

بررسی‌ها نشان می‌دهد که میدان مغناطیسی روی دامنه گسترده‌ای از ویژگی‌های موجودات زنده شامل آرایش سلول‌ها در محیط کشت، رشد سلول‌ها، فعالیت آنزیم‌های مختلف به ویژه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و بیان ژن‌ها به ویژه ژن‌های تنظیمی اثر می‌گذارد. میدان مغناطیسی ویژگی‌های غشای سلول، عملکرد سلول و رشد سلولی را تحت تاثیر قرار می‌دهد. بیش از ۵۰ آنزیم (به ویژه آنزیم‌های دارای هم) که تولید یا از بین بردن رادیکال‌های آزاد را کاتالیز می‌کنند، تحت تاثیر میدان مغناطیسی قرار می‌گیرند (Pan et al., 2010; Glinka et al., 2018).

تاکنون رخدادهای زیستی میدان‌های مغناطیسی از دیدگاه‌های متفاوتی مورد بررسی قرار گرفته‌اند. اما هنوز هیچ مدرک علمی قانع کننده‌ای برای اثرات ضد و نقیض میدان‌های مغناطیسی بر روی سلول‌ها و موجودات زنده ارائه نشده است. چرا که بیشتر بررسی‌های انجام شده بر روی اثرات زیستی میدان مغناطیسی به صورت *in vitro* بوده است. به عنوان مثال Bersani و همکاران (۱۹۹۷) به بررسی میزان توزیع پروتئین‌های درون غشایی (IMP) در سلول‌های کشت شده‌ای که تحت تاثیر میدان‌های مغناطیسی ۵۰ هرتز قرار گرفته

این تغییرات نیز به تضعیف نیروهای واندروالسی بین مولکول‌ها و تقویت و افزایش پیوندهای هیدروژنی مرتبط هستند (Zhou et al., 2000). برخی معتقد هستند که سهم عمده تکنیک مغناطیده شدن، حاصل بر هم کنش میدان مغناطیسی با بارهای الکتریکی متحرک است. در واقع یکی دیگر از تغییراتی که در آب مغناطیسی ایجاد می‌شود نحوه آرایش بارهای الکتریکی مولکول‌های آب است. از آنجا که به طور طبیعی بین نیروهای خالص مولکول‌های آب اختلاف کمی وجود دارد، این مولکول‌ها به صورت کاملاً تصادفی و نامنظم قرار دارند. به هنگام عبور آب از میدان مغناطیسی نیرویی بر هر یون وارد می‌شود که جهت این نیرو برای یون‌هایی با بار مخالف عکس هم است. در این حالت مولکول‌های آب که به صورت کاملاً تصادفی حضور داشتند از حالت بی‌نظمی خارج می‌شوند و نوع پیوند اکسیژن-هیدروژن از حالت مثلثی به شکل یک خط تغییر می‌کند. به این ترتیب ضمن تشکیل دستجات مولکولی کوچک‌تر از آب باعث افزایش تعداد مولکول‌های آب در واحد حجم می‌شود و قدرت حلالیت آب نیز افزایش می‌یابد (McMahon, 2009; Zhou et al., 2000).

بهمنی و همکاران در سال ۱۳۹۳ به بررسی اثرات آب مغناطیسی بر فیزیولوژی و زیست‌شناسی ماهی طلائی (*Carassius auratus*) پرداختند و نتایج آن‌ها نشان دهنده شاخص‌های اساسی کیفیت آب و بازماندگی بالاتر و تاخیر در روند رسیدگی جنسی در تیمارهای تحت تاثیر آب مغناطیسی پس از ۴۲ روز نسبت به ماهیان شاهد بود. Hussein Kamel و همکاران در سال ۲۰۱۶ بیان کردند که آب مغناطیده دارای اثرات زیان باری بر سیستم ایمنی و فیزیولوژی خرگوش‌ها پس از دو هفته است. همچنین، Hassan و Abdul Rahman (۲۰۱۶) دریافتند که آب مغناطیده موجب افزایش سرعت تفریح در *Artemia salina* می‌شود که تاثیر مثبتی بر آبی‌پروری دارد، زیرا نرخ تولید این گونه افزایش می‌یابد. خون یکی از حساس‌ترین بافت‌های بدن نسبت به تغییرات ایجاد شده در موجود زنده است و در مطالعات آبزیان کاربرد وسیعی دارد. بنابراین، دامنه مطلوب شاخص‌های خونی در گونه‌های مختلف را می‌توان به عنوان یک راهنما برای بررسی اثرات عوامل مختلف، مورد استفاده قرار داد (Martinez-Alvarez et al., 2002). با بررسی اثرات آب مغناطیسی بر تاس‌ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) می‌توان

بودند، پرداختند. این مطالعه نشان داد که میدان‌های مغناطیسی موجب افزایش القا و توزیع IMP می‌شود و تمایل این پروتئین‌ها را به خوشه‌ای شدن به شکل معنی‌داری افزایش می‌دهد. میدان‌های مغناطیسی اثر خود را حتی بعد از دو ساعت به شکل واضحی نشان دادند (Bersani et al., 1997). همچنین Ventura و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که میدان مغناطیسی باعث افزایش بیان ژن opioid بعد از یک هفته در میوسیت‌های بالغ می‌شود.

Zhou و همکاران نیز در سال ۲۰۰۰ بیان کردند که میدان‌های مغناطیسی با شدت‌های ۰/۸ تا ۰/۱ میلی‌تسلا باعث افزایش بیان ژن‌های TNFRp75 و IL-6Ra در سلول‌های هلا می‌شود و همچنین میدان مغناطیسی بیان ژن c-fos را در سلول‌های هلا ۶۰ برابر افزایش می‌دهد.

طی سال‌های اخیر، برخی مطالعات به بررسی اثرات زیستی آب مغناطیسی بر جانوران مختلف پرداختند، اما هیچ پیوستگی و ارتباطی بین قرار گرفتن مستمر موجود زنده در برابر میدان‌های مغناطیسی با شدت‌های مختلف و تغییر سیستم زیستی، سلول‌های خونی و شاخص‌های بیوشیمیایی خون در جانوران حاصل نشد (Loghmannia et al., 2015).

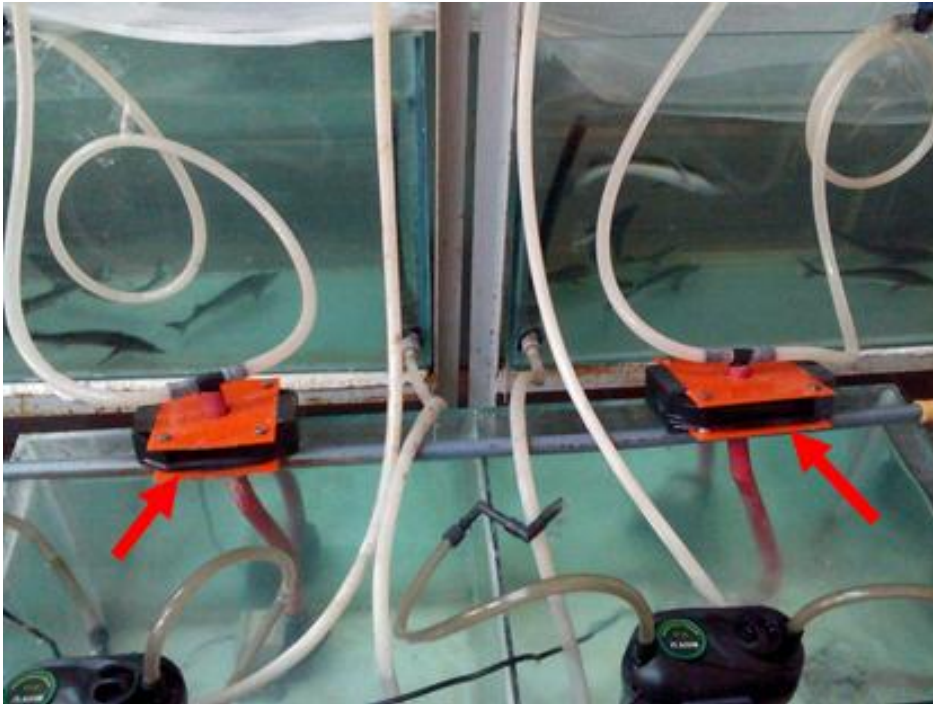
طراحی آزمایش

برای ایجاد میدان مغناطیسی از ۸ عدد مگنت Ferit در سایز $۵۰ \times ۴۰ \times ۲۰$ مدل Y35 و قدرت ۴۱۰۰ گوس در ۴ بسته (۲ عدد برای هر بسته) که قطب‌های N و S آنها روبه‌روی هم قرار داده شده بود، استفاده شد. سنسور حساس تسلامتر (MG-3003SD, ACDC, Lutron, Magnetic Meter، تایوان) در فاصله کانونی هر جفت مگنت، نگه داشته شد تا با تغییر فاصله بین هر جفت، شدت‌های ۵، ۱۵ و ۲۵ میلی‌تسلا در صفحه نمایش تسلامتر نمایان و فاصله مشخص هر جفت مگنت با توجه به شدت مورد نظر به دست آید. سپس هر جفت روی چارچوب‌هایی از جنس پلکسی که به وسیله لیزر با دقت $۰/۱$ میلی‌متر برش داده شده بود، توسط چسب ثابت شد. با عبور لوله آب پلاستیکی $۱/۵$ سانتی‌متری از مرکز چارچوب مگنت و با پمپاژ آب از داخل لوله که توسط واتر پمپ (Hailea, HX 4500، چین) انجام گرفت، طراحی باکس‌ها برای تولید آب مغناطیسی کامل شد. همچنین بر روی هر مخزن مادر نیز یک فیلتر الکتریکی (EF-05 Hang-on, Boyu، چین) متصل شد (شکل ۱).

تأثیر آن را بر شرایط فیزیولوژیک و زیست‌شناختی این ماهی از جمله سلول‌های خونی و پروتئین‌ها تعیین کرد. از آنجایی که کیفیت آب در صنعت شیلات نقش مهمی دارد، بنابراین دستاوردهای این سلسله مطالعات می‌تواند در جهت بهبود صنعت آبزی‌پروری و شیلات مفید باشد. ماهیان خاویاری، ماهیانی اقتصادی، ارزشمند و در معرض انقراض هستند. از این رو، هر گونه مطالعه‌ای که بتواند در راستای افزایش بقای آنها انجام شود، بسیار مهم و ارزشمند است.

مواد و روش‌ها

برای انجام این مطالعه، تاس ماهیان استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) نابالغ (۴۰ قطعه با میانگین وزن بدن $۱۰۰/۴۶ \pm ۴/۵۱$ گرم و میانگین طول کل بدن $۳۱/۷۳ \pm ۰/۸۰$ سانتی‌متر) از بخش آبزی‌پروری موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر به بخش فیزیولوژی و بیوشیمی موسسه منتقل و به مدت ۴۸ ساعت برای سازگاری در آکواریوم‌های ۵۰۰ لیتری که تا حجم ۴۰۰ لیتر آبیگری شده بودند، قرار گرفتند.



شکل ۱: نصب مگنت در مسیر ورودی آب مخزن مادر که انشعاب یافته و وارد آکواریوم‌های حاوی ماهی می‌شود.

آب‌گیری و توسط پمپ هوا، هوادهی شدند و به مخازن مادر با ابعاد $50 \times 50 \times 50$ سانتی‌متر که هر یک به طور جداگانه تحت تشعشع میدان مغناطیسی بودند، متصل شدند. آکواریوم‌ها به صورت سیستم مداربسته با چرخش آب درون سیستم که ورودی آب به وسیله شیر کنترل، تنظیم می‌شد.

همچنین ماهی‌ها در دو آکواریوم بدون تشعشع و تنها با چرخش آب قرار داده شدند که

لازم به ذکر است، با بررسی‌ای که بر مطالعات گذشته صورت گرفت (معصومی جهان‌دیزی و همکاران، ۱۳۹۰؛ بهمنی و همکاران، ۱۳۹۳) میدان‌های مغناطیسی با شدت‌های ۵، ۱۵ و ۲۵ میلی‌تسلا انتخاب و طراحی شدند.

نصب و راه‌اندازی آکواریوم‌ها ۲۴ ساعت قبل از معرفی ماهی‌ها صورت گرفت. به این ترتیب که آکواریوم‌های ۵۰۰ لیتری تا ۴۰۰ لیتر

آزمایشگاه نیز به این شرح بود: میانگین pH ۷/۳، میانگین دمای ۲۵/۵ درجه سانتی‌گراد، میانگین اکسیژن محلول ۶/۶ ppm و سختی کل آب ۴۰۶ mg/L.

نمونه‌برداری

نمونه‌برداری در روزهای ۳۰ و ۶۰ تیمار انجام شد. در هر نمونه‌برداری از هر یک از آکواریوم‌های تیمارهای آزمایشی و شاهد چهار ماهی و در مجموع ۳۲ ماهی به صورت تصادفی انتخاب و خون‌گیری به وسیله سرنگ هپارینه از ساقه دمی انجام شد (Movahedinia et al., 2018). پس از خون‌گیری جداسازی سرم از نمونه خون توسط دستگاه سانتریفیوژ (S-78532 Tuttlingen, Hettich, آلمان) با دور ۳۵۰۰g صورت گرفت و نمونه‌های سرم به میکروتیوب منتقل شدند. سپس میکروتیوب‌های حاوی نمونه بلافاصله برای سنجش شاخص‌های خونی و سرم به آزمایشگاه انتقال یافتند.

بررسی‌های آزمایشگاهی

شمارش گلبول‌های قرمز و سفید

برای شمارش گلبول‌های سفید (White Blood Cell: WBC) از محلول رقیق‌کننده لوئیس (Lewis) در ۰/۱ گرم بریلیانت کریزل

این آکواریوم‌های شاهد نیز به یک آکواریوم مخزن مادر متصل شد. هر گروه به طور جداگانه تحت شدت میدان‌های مغناطیسی ۵، ۱۵ و ۲۵ میلی‌تسلا قرار گرفت. در هر آکواریوم یک بیوفیلتر ابری قرار داده شد و همچنین در هر مخزن مادر یک فیلتر الکتریکی نیز تعبیه شد. پس از ۲۴ ساعت ماهی‌های استرلیاد به آکواریوم‌های ۲۴۰ لیتری معرفی شدند، در هر آکواریوم ۵ عدد ماهی قرار گرفت و ماهی‌های شاهد هم در آکواریوم‌های بدون تشعشع و تنها با چرخش آب قرار داده شدند. مگنت‌ها هر یک در مسیر جریان آب منبع مخازن مادر قرار گرفته بودند و دو آکواریوم متصل به هر مخزن از این منبع تغذیه می‌شدند. در مجموع، به هر شدت میدان مغناطیسی دو آکواریوم اختصاص داده شد که به هر آکواریوم ۵ عدد ماهی معرفی شد. در واقع هر تیمار شامل ۱۰ عدد ماهی بود. همچنین دو آکواریوم شاهد نیز در این آزمایش در نظر گرفته شد که هر یک شامل ۵ عدد ماهی بودند. در واقع کل تعداد ماهی‌های شاهد ۱۰ عدد بود. ماهی‌ها به مدت ۶۰ روز در این آکواریوم‌ها نگهداری شدند. در طی این مدت غذادهی ماهی‌ها با جیره تجاری (فراذانه، ایران) دو بار در روز انجام شد. همچنین، شرایط فیزیکوشیمیایی آب آکواریوم‌ها در محیط

ΣR_i : مجموعه گلبول‌های قرمز شمارش شده در پنج خانه متوسط (شامل چهار خانه متوسط حاشیه‌ای و یک خانه مرکزی) از خانه بزرگ مرکزی لام نئوبار؛ D: ضریب رقت (۲۰۰ برابر)؛ A: ضریب ارتفاع لامل از لام نئوبار (۱۰).

سنجش هموگلوبین

میزان هموگلوبین (Hb) به روش سیانومت هموگلوبین و با استفاده از معرف درابکین در طول موج ۵۴۰ نانومتر انجام شد. سپس میزان هموگلوبین با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب گرم در دسی‌لیتر محاسبه شد (Moyle and Schreck, 1990).

اندازه‌گیری هماتوکریت

برای تعیین درصد هماتوکریت (Hct) از روش میکروههماتوکریت استفاده شد. به این ترتیب که از لوله‌های موین هپارینه میکروههماتوکریت برای نمونه‌برداری از خون استفاده شد. سپس انتهای لوله با استفاده از خمیر هماتوکریت مسدود شد و لوله‌ها به وسیله میکروسانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه در ۷۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. در نهایت میزان هماتوکریت با استفاده از خط‌کش مخصوص بر حسب درصد اندازه‌گیری شد (Bahmani et al., 2001).

بلو (Brilliant Crystal Blue) استفاده شد و نمونه‌ها قبل از شمارش به نسبت ۱:۲۰ رقیق شدند. سپس خون رقیق شده در شیار لام نئوبار (هموسیتومتر) ریخته شد و تعداد گلبول‌های سفید در چهار خانه بزرگ حاشیه‌ای لام شمارش شد. برای محاسبه تعداد گلبول‌های سفید در هر میلی‌متر مکعب از رابطه ۱ استفاده شد (کازمی و همکاران، ۱۳۸۹؛ Bahmani et al., 2001).

رابطه ۱:

$$WBC (1/mm^3) = (\Sigma W_i/4) \times D \times A$$

ΣW_i : مجموعه گلبول‌های سفید شمارش شده در چهار خانه بزرگ حاشیه‌ای لام نئوبار؛ D: ضریب رقت (۲۰ برابر)؛ A: ضریب ارتفاع لامل از لام نئوبار (۱۰).

برای شمارش گلبول‌های قرمز (Red Blood Cell: RBC) از محلول Reiss به نسبت ۱:۲۰۰ برای رقیق کردن، استفاده شد. تعداد گلبول‌های قرمز در پنج خانه متوسط (شامل چهار خانه متوسط حاشیه‌ای و یک خانه مرکزی) از خانه بزرگ مرکزی لام نئوبار شمرده شد. برای محاسبه تعداد گلبول‌های قرمز در هر میلی‌متر مکعب از رابطه ۲ استفاده شد (کازمی و همکاران، ۱۳۸۹؛ Bahmani et al., 2001).

رابطه ۲:

$$RBC (1/mm^3) = (\Sigma R_i \times 5) \times D \times A$$

سنجش پروتئین کل

نرمال بودن توزیع داده‌ها، به منظور بررسی شاخص‌های خونی از آزمون تحلیل واریانس دوطرفه (Two-way ANOVA) و پس‌آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. در صورت نرمال نبودن داده‌ها از آزمون Mann-Whitney استفاده شد. برای انجام آزمون‌های آماری از نرم‌افزار SPSS 22 استفاده شد.

به منظور اندازه‌گیری سطح پروتئین کل از دستگاه خوانشگر الایزا (Stat, Elisa Reader, Awareness, Fax-2010، آمریکا) استفاده شد. پس از رقیق‌سازی نمونه سرم با نمک ۰/۸۵ درصد به نسبت ۱:۱۰۰، مقدار کل پروتئین به روش Biuret مشخص شد. به این ترتیب که ۱۰۰ میلی‌لیتر از نمونه سرم به نسبت مساوی با پلی‌اتیلن گلیکول ۱۲ درصد در ظرف ۹۶ خانه میکروتیتری مخلوط شد و بعد از دو ساعت انکوباسیون در دمای اتاق، در ۵۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد و به این ترتیب حجم پروتئین آن به دست آمد (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹).

نتایج

نتایج به دست آمده از سنجش شاخص‌های خونی تاس‌ماهی استرلیاد قرار گرفته در شدت میدان‌های ۵، ۱۵ و ۲۵ میلی‌تسلا و گروه شاهد در نمونه‌برداری‌های اول (روز سی) و دوم (روز شصت) در جدول ۱ آورده شده است.

تعیین میزان آلبومین

تعداد گلبول‌های قرمز
نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که میانگین تعداد گلبول‌های قرمز خون (RBC) در گروه شاهد و شدت‌های ۵، ۱۵ و ۲۵ میلی‌تسلا با وجود افزایشی که در تعداد گلبول‌های قرمز خون در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد داشتند، اما هیچ تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های شاهد و تیمارهای آزمایشی با یکدیگر و نیز بین روزهای ۳۰ و ۶۰ وجود نداشت ($P > 0.05$).

میزان آلبومین سرم با استفاده از کیت (پارس آزمون، ایران) و دستگاه اسپکتروفوتومتر (Jenway, 6505-UV/VIS، انگلستان) بر حسب گرم در دسی‌لیتر محاسبه شد (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹).

تحلیل آماری

برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون Shapiro Wilk استفاده شد. در صورت

جدول ۱: تأثیر شدت‌های مختلف میدان مغناطیسی ایستا بر شاخص‌های خونی تاس‌ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) در روزهای ۳۰ و ۶۰ نمونه‌برداری (میانگین \pm خطای استاندارد)

تیمارها	WBC (mm ³)	RBC (mm ³)	Hb (g/dL)	Hct (%)	پروتئین (g/dL)	آلبومین (g/dL)
روز ۳۰ شاهد	۲۱۵۰ $\pm 58/25$	۸۵۰۰۰۰ $\pm 4562/62$	۵/۹۰ $\pm 1/10$	۲۵/۶۶ $\pm 5/27$	۲/۵۰ $\pm 0/56$	۱/۳۰ $\pm 0/14$
۵mT	۲۷۷۵ $\pm 56/99$	۱۰۰۰۷۵۰ $\pm 50/1333$	۶/۸۷ $\pm 0/50$	۳۰/۲۵ $\pm 4/03$	۲/۳۰ $\pm 0/50$	۱/۱۰ $\pm 0/20$
۱۵mT	۲۴۸۰ $\pm 66/22$	۲۵۰۳۶۰۱ $\pm 360/88$	۱۰/۱۸ $\pm 0/40$	۲۹/۱۲ $\pm 1/00$	۲/۶۰ $\pm 0/28$	۱/۳۰ $\pm 0/14$
۲۵mT	۲۳۰۰ $\pm 83/78$	۸۶۶۲۵۰ $\pm 4456/37$	۶/۰۶ $\pm 0/64$	۲۵/۷۵ $\pm 3/00$	۲/۳۰ $\pm 0/32$	۱/۰۸ $\pm 0/22$
روز ۶۰ شاهد	۲۹۶۶ $\pm 48/56$	۶۵۳۲۳۳ $\pm 7452/75$	۶/۹۰ $\pm 0/26$	۲۸/۶۶ $\pm 2/08$	۲/۵۰ $\pm 0/51$	۱/۱۴ $\pm 0/30$
۵mT	۳۹۰۰ $\pm 81/20$	۹۹۹۳۳۳ $\pm 3642/10$	۷/۲۰ $\pm 0/05$	۳۱/۳۳ $\pm 1/15$	۲/۴۳ $\pm 0/50$	۱/۱۰ $\pm 0/20$
۱۵mT	۳۴۳۳ $\pm 57/20$	۹۱۸۳۳۳ $\pm 2900/83$	۶/۹۰ $\pm 0/79$	۲۸/۳۳ $\pm 4/04$	۲/۱۰ $\pm 0/45$	۱/۰۰ $\pm 0/17$
۲۵mT	۳۱۳۳ $\pm 89/76$	۸۶۶۲۵۰ $\pm 7300/14$	۶/۴۶ $\pm 0/30$	۲۶/۰۰ $\pm 1/00$	۲/۰۶ $\pm 0/35$	۰/۷۷ $\pm 0/22$

تفاوت معنی‌دار آماری بین هیچ یک از تیمارها در هیچ شاخصی مشاهده نشد ($P > 0/05$).

تعداد گلبول‌های سفید

طبق نتایج این مطالعه مشخص شد که در گروه شاهد و شدت‌های ۵، ۱۵ و ۲۵ میلی‌تسلا با افزایش شدت میدان مغناطیسی تعداد گلبول‌های سفید خون (WBC) کاهش یافت. اما هیچ تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های شاهد و تیمارهای آزمایشی با یکدیگر و نیز بین روزهای ۳۰ و ۶۰ وجود نداشت ($P > 0/05$).

میزان هموگلوبین

طبق نتایج به دست آمده در مورد میزان پروتئین هموگلوبین (Hb)، با وجود روند افزایشی که در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد مشاهده شد، هیچ تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های شاهد و تیمارهای آزمایشی با یکدیگر و نیز بین روزهای ۳۰ و ۶۰ وجود نداشت ($P > 0/05$).

میزان هماتوکریت

مختلف میدان مغناطیسی با گروه شاهد دیده نشد.

بر اساس نتایج حاضر در مورد میزان هماتوکریت (HCT)، با وجود روند افزایشی که در گروه‌های تیمار آزمایشی نسبت به شاهد مشاهده شد، اما هیچ تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های شاهد و تیمارهای آزمایشی با یکدیگر و نیز بین روزهای ۳۰ و ۶۰ وجود نداشت ($P>0/05$).

بحث

میدان مغناطیسی ایستا یک تغییر دهنده شرایط زیستی بدن موجودات است، زیرا سیگنال‌های آن بر روی پاسخ‌های فیزیولوژیک و ایمنی تاثیر می‌گذارد. بنابراین، در سال‌های اخیر مطالعات بی‌شماری نه تنها از جنبه اثرات منفی بلکه از جنبه اثرات مثبت احتمالی میدان‌های مغناطیسی ایستا، انجام شده است (Rosado et al., 2018). این تاثیر مثبت می‌تواند در تیمار آب مغناطیده موثر باشد، زیرا شرایط فیزیولوژیکی ماهی می‌تواند تحت تاثیر عوامل زیست‌محیطی مانند کیفیت آب، درجه حرارت و عوامل متعدد القا کننده استرس قرار گیرد (Magnadottir, 2010). به طور کلی اثرات ناشی از قرار گرفتن در معرض میدان مغناطیسی ایستا به شدت و طول مدت قرارگیری بستگی دارد و علاوه بر این، نوع سلول هدف نیز بر نتیجه اثرگذار است (Rosado et al., 2018).

سطح پروتئین کل

مطابق نتایج این مطالعه، میزان پروتئین کل هیچ تفاوت معنی‌داری را بین گروه‌های شاهد و تیمارهای آزمایشی با یکدیگر و نیز بین روزهای ۳۰ و ۶۰ نشان نداد ($P>0/05$). همچنین تغییرات چندان محسوسی در تیمار با شدت‌های مختلف میدان مغناطیسی با گروه شاهد دیده نشد.

سطح آلبومین

طبق نتایج این مطالعه، میزان آلبومین در گروه شاهد و شدت‌های ۵، ۱۵ و ۲۵ میلی‌تسلا هیچ تفاوت معنی‌داری را بین گروه‌های شاهد و تیمارهای آزمایشی با یکدیگر و نیز بین روزهای ۳۰ و ۶۰ نشان نداد ($P>0/05$). همچنین تغییرات قابل توجهی در تیمار با شدت‌های

میدان‌های مغناطیسی موجب بهبود کیفیت آب مانند حذف مواد و ذرات خطرناک و مضر و همچنین افزایش میزان اکسیژن آب می‌شود. تا به امروز فناوری‌های بسیاری برای تیمار و بهبود

خون در تاس‌ماهی‌های استرلیاد تیمار شده با شدت‌های مختلف میدان مغناطیسی در مقایسه با ماهی‌های شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. در مطالعه‌ای که توسط Amara و همکاران در سال ۲۰۰۶ بر روی رت‌ها انجام شده بود، به بررسی تغییرات شاخص‌های بیوشیمیایی و خونی تحت تاثیر میدان‌های مغناطیسی پرداختند. در این مطالعه رت‌ها یک ساعت در هر روز و در دو تیمار ۵ روزه و ۳۰ روزه به طور مستقیم تحت تاثیر میدان مغناطیسی ۱۲۸ میلی‌تسلا قرار گرفتند. طبق نتایج این مطالعه در هر دو تیمار تعداد گلبول‌های قرمز و سفید خون در مقایسه با نمونه‌های شاهد افزایش یافته بود. پژوهشگران این مطالعه معتقد هستند که دلیل این افزایش، ایجاد شرایط هیپوکسی ناشی از قرار گرفتن در معرض میدان مغناطیسی ایستا است (Amara et al., 2006). اما Djordjevic و همکاران (۲۰۱۲) بیان کردند که سطح گلبول‌های قرمز خون در موش‌هایی که به مدت ۲۸ روز تحت تیمار میدان مغناطیسی ۱۶ میلی‌تسلا قرار گرفته بودند نسبت به گروه شاهد تغییری نشان نداد که این مطابق با نتایج Hashish و همکاران (۲۰۰۸) و Cakir و همکاران (۲۰۰۹) بوده است و این پژوهشگران نتیجه‌گیری کردند که شدت‌های

وضعیت آب مورد استفاده قرار گرفته است مانند بهبود و اصلاح زیستی (Bioaugmentation)، اوزوناسیون (Ozonation) و تابش فرابنفش (UV). اما این فناوری‌ها بسیار گران قیمت هستند. کارایی آب مغناطیده به مدت زمان قرارگیری در برابر میدان مغناطیسی و نوع و میزان شدت آن بستگی دارد (McMahon, 2009). مطابق با مطالعه انجام شده توسط Tyari و همکاران (۲۰۱۴)، میدان‌های مغناطیسی میزان حلالیت مواد معدنی را در آب افزایش می‌دهند، بنابراین انتقال مواد مغذی به بدن موجود زنده را می‌تواند افزایش دهند. میدان مغناطیسی ایستا بر زاویه اتصال بین اتم‌های اکسیژن و هیدروژن در میان هر یک از مولکول‌های آب تاثیر می‌گذارد. بنابراین، این زاویه از ۱۰۴ به ۱۰۳ درجه تقلیل می‌یابد و به همین دلیل مولکول‌های آب از دستجات ۶ تا ۷ تایی به مولکول‌های ۱۰ تا ۱۲ تایی یا بیشتر می‌رسند. به این خاطر جذب آب از سرتاسر دیواره‌های سلول افزایش می‌یابد که نشان می‌دهد میدان مغناطیسی ایستا می‌تواند برای بهبود وضعیت آب استخرهای ماهی استفاده شود (Krzemieniewski et al., 2004).

در این مطالعه، تعداد گلبول‌های قرمز و سفید خون، هماتوکریت و سطح هموگلوبین

و فعالیت‌های آنزیم‌ها به واسطه تاثیر بر سطح رونویسی برخی از آنزیم‌ها صورت می‌گیرد، همچنین میدان‌های مغناطیسی به طور مستقیم با الکترون‌های DNA برهم‌کنش دارند و به این ترتیب بر بیوسنتز پروتئین‌ها تاثیر می‌گذارند (Goodman et al., 1993). در مطالعه حاضر، تغییری در سطح پروتئین کل و آلبومین تاس‌ماهیانی که در معرض میدان مغناطیسی ایستا قرار داشتند نسبت به گروه شاهد، مشاهده نشد که این تفاوت در نتایج به تفاوت گونه‌ها، شدت و مدت زمان قرارگیری در برابر میدان مغناطیسی، نوع میدان، نوع و سن سلول و نیز شرایط متفاوت آزمایش مربوط است.

طبق نتایج به دست آمده، به نظر می‌رسد که آب مغناطیده شده با میدان‌های مغناطیسی ایستا در شدت‌های ۵، ۱۵ و ۲۵ میلی‌تسلا بر سطح پروتئین‌ها و سلول‌های خونی تاس‌ماهی استرلیاد تغییرات معناداری را به وجود نمی‌آورد. هر چند بررسی مکانیسم‌ها و روند این اثرگذاری نیازمند مطالعات بیشتر و آزمایش‌هایی با مدت زمان طولانی‌تر و شدت‌های بالاتر میدان مغناطیسی در پژوهش‌های آتی است.

مختلف میدان مغناطیسی ایستا و مدت زمان‌های متفاوت آن نمی‌تواند بر تعداد گلبول‌های قرمز خون جانوران مورد آزمایش تاثیرگذار باشد. این امر، احتمالاً به این دلیل است که گلبول‌های قرمز خون بعد از این که در معرض میدان مغناطیسی ایستا قرار گرفتند به سرعت بازیابی می‌شوند (Djordjevic et al., 2012). طبق نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر، میدان‌های مغناطیسی تاثیر معناداری بر سلول‌های خونی، آلبومین و پروتئینی کل نداشتند و ممکن است مطالعه در این زمینه نیاز به زمان طولانی‌تری داشته باشد.

Amara و همکاران (۲۰۰۶) بیان کردند که قرار گرفتن موش‌ها در معرض میدان مغناطیسی ایستا می‌تواند موجب افزایش سطح پروتئین کل شود که نشان دهنده تغییر در متابولیسم پروتئین موش‌های تحت استرس است. اما در مورد کارگران فولاد که در معرض میدان‌های مغناطیسی قرار داشتند، کاهش اندکی در میزان پروتئین سرم مشاهده شد (Boguslaw et al., 1999). به طور کلی مکانیسم عمل میدان مغناطیسی ایستا در سیستم‌های زیستی به واسطه میان‌کنش آن با حرکت و جابه‌جایی بارها

منابع

- کاربردی خون‌شناسی ماهیان. انتشارات شابک. ۱۹۴ص.
- معصومی جهان‌دیزی ر.، عبدالمالکی پ. و مولی ج. ۱۳۹۰. تاثیر میدان مغناطیسی ایستا با شدت ۱۵ و ۳۰ میلی‌تسلا بر روی چرخه سلولی در سلول‌های مزانشیمی مغز استخوان رت القا شده با مواد تمایز دهنده سلول‌های عصبی. مجله مهندسی پزشکی زیستی، ۵(۲): ۱۱۶-۱۰۵.
- Amara S., Abdelmelek H., Salem M. B., Abidi R. and Sakly M. 2006.** Effects of static magnetic field exposure on hematological and biochemical parameters in rats. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 49(6): 889-895.
- Bahmani M., Kazemi R. and Donskaya P. 2001.** A comparative study of some haematological features in young reared sturgeons (*Acipenser persicus* and *Huso huso*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 24(2): 135-140.
- Bersani F., Marinelli F., Ogniben A., Matteucci A., Cecchi S., Santi S., Squarzone S. and Maraldi N.M. 1997.** Intramembrane protein distribution in cell cultures is affected by 50 Hz pulsed magnetic fields. *Bioelectromagnetics*, 18(7): 463-469.
- Boguslaw K., Andrzej S., Rozalia G. and Danuta P. 1999.** Effect of electromagnetic field on serum biochemical parameters in steelworkers. *Journal of Occupational Health*, 41: 177-180.
- Bour P. 2002.** Cluster model of liquid water and its IR spectroscopic response. *Chemical Physics Letters*, 365: 82-88.
- Cakir D.U., Yokus B., Akdag M.Z., Sert C. and Mete N. 2009.** Alterations of hematological variations in rats exposed to extremely low frequency magnetic fields (50Hz). *Archives of Medical Research*, 40(5): 352-356.
- Chang K.T and Weng C.I. 2006.** The effect of an external magnetic field on the structure of liquid water using molecular dynamics simulation. *Journal of Applied Physics*, 100: 43917-43922.
- Djordjevich D.M., De Luka S.R., Milovanovich I.D., Jankovic S.,**
- بهمنی م.، آفا کوچکی م. و تکریمی‌نیا راد م. ۱۳۹۳. کاربرد میدان‌های مغناطیسی ثابت بر شاخص‌های فیزیکی و شیمیایی آب و تاثیر آب مغناطیسی شده بر بیوفیزیولوژی ماهی طلایی *Carassius auratus*. آبزیان زینتی، ۱(۳): ۱-۱۰.
- کاظمی ر.، یوسفی جوردهی ا.، پوردهقانی م.، یارمحمدی م. و نصری تجن م. ۱۳۸۹. فیزیولوژی دستگاه گردش خون آبزیان و فنون

- Stefanovic S., Veskovic-Moracanin S., Sasa Cirkovic A., Ilic Jasna L., Ristic-Djurovic A. and Trbovich A.M. 2012.** Hematological parameters' changes in mice subchronically exposed to static magnetic fields of different orientations. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 81: 98–105.
- Glinka M., Gawron S., Sieron A., Pawlowska-Goral K., Cieslar G. and Sieron K. 2018.** Impact of static magnetic field on the antioxidant defence system of mice fibroblasts. *BioMed Research International*, 2018: 1–8 (053608).
- Goodman E.M., Greenebaum B. and Marron M.T. 1993.** Altered protein synthesis in a cell-free system exposed to a sinusoidal magnetic field. *Biochimica et Biophysica Acta*, 12 (2): 107–112.
- Hashish A.H., El-Missiry M.A., Abdelkader H.I. and Abou-Saleh R.H. 2008.** Assessment of biological changes of continuous whole body exposure to static magnetic field and extremely low frequency electromagnetic fields in mice. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71(3): 895–902.
- Hassan S.M. and Abdul Rahman R. 2016.** Effects of exposure to magnetic field on water properties and hatchability of *Artemia salina*. *ARPN Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 11(11): 416–423.
- Higashitani K., Oshitani J. and Ohmura N. 1996.** Effects of magnetic field on water investigated with fluorescent probes. *Colloids Surf A: Colloids and surfaces A*, 109: 167–173.
- Hussein Kamel F., Kamel Rashed T., Abdulla Hassan P., and Qader S.S. 2016.** Effect of magnetic water on immune response in rabbit against pathogenic bacteria. *Engineering and Technology Journal*, 34(3): 425–433.
- Ikezoe Y., Hirota N., Nakagawa J. and Kitazawa K. 1998.** Making water levitate. *Nature*, 393: 749–750.
- Krzemieniewski M., Debowski M., Janczukowicz W. and Pesta J. 2004.** Effect of the constant magnetic field on composition of dairy wastewater and domestic sewage. *Polish Journal of Environmental Studies*, 13: 45–53.
- Loghmannia J., Heidari B., Rozati S.A. and Kazemi S. 2015.** The physiological responses of the Caspian kutum (*Rutilus frisii kutum*) fry to the static magnetic field with different intensities during acute and subacute exposures. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 111: 215–219.

- Magnadottir B. 2010.** Immunological control of fish diseases. *Marine Biotechnology*, 12(4): 361–379.
- Martinez-Alvarez R.M., Hidalgo M.C., Domezain A., Morales A.E., GarciaGallego M. and Sanz A. 2002.** Physiological changes of sturgeon *Acipenser naccarii* caused by increasing environmental salinity. *Journal Experimental Biology*, 205: 3699–3706.
- McMahon C. 2009.** Investigation of the quality of water treated by magnetic fields. M.Sc. Thesis, University of Southern Queensland, Australia. 280P.
- Moyle P. and Schreck C. 1990.** *Methods for Fish Biology.* American Fisheries Society Publication, USA. 684P.
- Montagnier L., Aissa J., Ferris S., Montagnier J.L. and Lavallee C. 2009.** Electromagnetic signals are produced by aqueous nanostructures derived from bacterial DNA sequences. *Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences*, 1: 81–90.
- Montagnier L., Aissa J., Del Giudice E., Lavallee C., Tedeschi A. and Vitiello G. 2011.** DNA waves and water. *Journal of Physics: Conference Series*, 306: 1–11 (012007).
- Movahedinia A., Salamat N. and Khradmand P. 2018.** Effects of the environmental endocrine disrupting compound benzo[a]pyrene on thyroidal status of abu mullet (*Liza abu*) during short-term exposure. *Toxicology Reports*, 5: 377–382.
- Pan W., Chen C., Wang X., Ma Q., Jiang W., Lv J., Wu L. and Song T. 2010.** Effects of pulsed magnetic field on the formation of magnetosomes in the *Magnetospirillum* sp. strain AMB-1. *Bioelectric Magnetism*, 31(3): 246–251.
- Rosado M. M., Simko M., Mattsson M.O. and Pioli C. 2018.** Immunomodulating perspectives for low frequency electromagnetic fields in innate immunity. *Frontiers in Public Health*, 6: 1–13 (85).
- Toledo E.J.L., Ramalho T.C. and Magriotis Z.M. 2008.** Influence of magnetic field on physical–chemical properties of the liquid water: Insights from experimental and theoretical models. *Journal of Molecular Structure*, 888: 409–425.
- Tyari E., Jamshidi A. and Neisy N. 2014.** Magnetic water and its benefit in cattle breeding, pisciculture and poultry. *Advances in Environmental Biology*, 8(4): 1031–1037.
- Ventura C., Maioli M., Pinuts G., Gottardi G. and Bersani F. 2000.** Elf- pulsed magnetic fields modulate opioid peptide gene

expression in myocardial cells. *Cardiovascular Research*, 45(4): 1054–1064.

Wang Q., Li L., Chen G. and Yang Y. 2007. Effects of magnetic field on the sol-gel transition of methycellulose in water. *Carbohydrate Polymers*, 70: 345–349.

Zhou K.X., Lu G.W., Zhou Q.C., Song J.H., Jiang S.T. and Xia H.R. 2000. Monte Carlo simulation of liquid water in a magnetic field. *Journal of Applied Physiology*, 88: 1802–1805.



Research Paper

Effects of magnetized water with different intensities of static magnetic field on protein level and blood cells in sterlet (*Acipenser ruthenus*)

Arezoo Charmi¹, Abdolali Movahedinia^{2*}, Mahmoud Bahmani³, Negin Salamat⁴, Mahtab Yarmohammadi⁵

Received: February 2019

Accepted: April 2019

Abstract

In the present study, the effects of magnetized water on total protein, albumin, red blood cells (RBC), white blood cells (WBC), hemoglobin and hematocrit level in sterlet (*Acipenser ruthenus*) were examined. Fish (40 individuals, 100.46±4.51g, 31.73±0.80cm) were exposed to magnetized water with different intensities (5, 15, 25 mT), with a control group. Each treatment consisted of two repeats and each repeat contained 5 individuals. A sampling of exposed and control fishes were done at 30 and 60 days. Based on the results, there were not any significant differences between the control group and treated fishes with different intensities in red and white blood cells, hematocrit, and hemoglobin after 30 and 60 days ($P>0.05$). Also, there were not any significant differences between the control group and treated fishes with different intensities in total protein and albumin levels after 30 and 60 days ($P>0.05$). This study is the first research about the effects of magnetized water on *Acipenser ruthenus* in a relatively long period that could be future studies basis.

Key words: *Magnetized Water, Static Magnetic Field, Sterlet, Acipenser ruthenus.*

1- Ph.D. in Marine Biology, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran.

2- Associate Professor in Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran.

3- Professor in International Sturgeon Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran.

4- Associate Professor in Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran.

5- Assistant Professor in International Sturgeon Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran.

*Corresponding Author: amovahedinia@umz.ac.ir