

## "مقاله پژوهشی"

# اثر پودر زردچوبه (*Curcuma longa*) بر شاخص‌های ایمنی و استرس در ماهی ازون‌برون (*Acipenser stellatus* Pallas, 1771)

الهام قلیان<sup>۱</sup>، سید مهدی حسینی فرد<sup>۲\*</sup>، شایان قبادی<sup>۳\*</sup>، رضا چنگیزی<sup>۳</sup>، حامد منوچهری<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی دکتری گروه شیلات، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران

۲- گروه دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران

۳- گروه شیلات، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۹/۱۹

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۶/۲۳

### چکیده

با توجه به توسعه سیستم‌های متراکم پرورش آبزیان و ضرورت استفاده از گیاهان دارویی به عنوان محرک رشد، تحقیق حاضر به منظور تعیین اثر سطوح مختلف زردچوبه در جیره بر شاخص‌های ایمنی، ایمنی موکوسی و برخی از فاکتورهای سرمی در ماهی ازون‌برون (*Acipenser stellatus* Pallas, 1771) به مدت ۶۰ روز انجام گردید. بدین منظور، ۱۲۰ بچه‌ماهی با میانگین وزنی  $45 \pm 0.5$  گرم و طول  $26 \pm 0.5$  سانتی‌متر در ۱۲ حوضچه بتنی توزیع شدند. ماهیان در ۴ گروه با ۴ جیره آزمایشی محتوی سطوح مختلف زردچوبه شامل: ۰، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد فرموله شده تغذیه شدند. تغذیه ماهیان در طی دوره آزمایش ۳ بار در روز و به میزان ۳ درصد وزن بدن صورت گرفت. در پایان دوره شاخص‌های ایمنی و ایمنی موکوسی (ALP و لیزوزیم) ارزیابی شد. افزایش دز ۲ درصد زردچوبه در جیره غذایی باعث افزایش بیان شاخص‌های ایمنی موکوسی (ALP و لیزوزیم) و میزان Nitro blue tetrazolium (NBT)، پروتئین کل (TP)، کمپلمان C3، لیزوزیم و ایمنوگلوبین (IgM) گردید. اما اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ( $p < 0.05$ ). همچنین افزایش دز ۲ درصد زردچوبه در جیره باعث افزایش میزان C4، گلوکز و کاهش کورتیزول شد و اختلاف بین تیمارها معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). بر اساس نتایج این تحقیق، استفاده از پودر زردچوبه در سطح ۲ درصد در جیره غذایی جهت بهبود شاخص‌های ایمنی و ایمنی موکوسی در ماهی ازون‌برون پیشنهاد می‌گردد.

**کلمات کلیدی:** بچه ماهی ازون‌برون (*Acipenser stellatus*)، زردچوبه (*Curcuma longa*)، شاخص‌های ایمنی

## مقدمه

گسترش آبی‌پروری در طی سال‌های گذشته آبریان را به عنوان یک منبع پروتئینی حیوانی مهم در سراسر جهان تبدیل کرده است ( Sánchez-Martínez *et al.*, 2015). صنعت پرورش ماهیان خاویاری در کشور ما صنعتی جوان، اما به سرعت در حال رشد است (پورعلی فشمی و همکاران، ۱۳۶). ماهی ازون‌برون (*Acipenser stellatus* Pallas, 1771) یکی از گونه‌های مهم ماهیان خاویاری است که جمعیت قابل توجهی را در دریای خزر به خود اختصاص داده است. از مزیت‌های این گونه می‌توان به کیفیت بالای گوشت، بازارپسندی فوق‌العاده آن، مدت زمان کم‌تر برای رسیدن به مرحله بلوغ و تولید خاویار نسبت به اکثر گونه‌های ماهیان خاویاری و همچنین میزان بالای خاویار استحصالی نسبت به وزن بدن اشاره کرد. این گونه به دلیل سن پایین رسیدگی جنسی، قابلیت تولید خاویار را در سنین پایین‌تر نسبت به گونه‌هایی نظیر فیل‌ماهی و تاس‌ماهی روسی و ایرانی دارا بوده و برای تولید خاویار در سیستم‌های پرورشی مناسب می‌باشد (Norouzi *et al.*, 2008). استفاده از برخی از مواد افزودنی به جیره غذایی می‌تواند بهبود عملکرد رشد را به همراه داشته باشد (Javed *et al.*, 2009). گیاهان دارویی با داشتن مواد فعال می‌توانند به عنوان محرک تغذیه و رشد به غذای ماهیان اضافه شده و با داشتن مواد معطر و یا به عنوان محرک گوارشی موجب جذب ماهی از طریق تغییر الگوی غذایی، ترشح مایعات گوارشی، صفرا، موکوس و در نهایت مصرف بیشتر غذا می‌شوند. زردچوبه از خانواده زنجبیل با نام علمی *Curcuma longa* (و با نام انگلیسی Turmeric شناخته می‌شود. زردچوبه گیاهی است علفی و پایا که ریزوم

خشک‌شده آن در صنایع غذایی و دارویی استفاده می‌شود. این گیاه بومی نواحی گرم آسیا است (El-Houseiny *et al.*, 2019). زردچوبه دارای ترکیبات شیمیایی متعددی از جمله: کورکومین، روغن فرار، زینجیبیرین، آلفا و بتا تومرین و مواد دیگری از جمله آرابینوز، فروکتوز، گلوکز، نشاسته و همچنین ترکیبات فنولی حاوی اسید فرولیک و اسید پروتوکاتویک است (Yonar *et al.*, 2019). همچنین رنگ زرد زردچوبه مربوط به وجود ترکیباتی مثل: کورکومین، بیس دس متوکسی و دس متوکسی کورکومین می‌باشد (Boon and Wong, 2004). بررسی‌های متعددی اثرات فراوانی برای این گیاه در انسان و سایر موجودات گزارش شده است که از آن جمله می‌توان به فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی (Masuda *et al.*, 2002)، ضد التهابی و ضد سرطان (Duvoix *et al.*, 2005)، ضد میکربی و ضد دیابتی (Banerji and Banerjee, 2016) اشاره کرد. در آبریان نیز بررسی‌های مختلفی در رابطه با اثرات افزودن زردچوبه خوراکی در جیره ماهیان صورت گرفته است که در بسیاری از موارد حاکی از افزایش میزان ایمنی و مقاومت در برابر بیماری‌ها و کاهش آسیب‌های کبدی است (Abdelwahab and El-Bahr, 2012, Mohamed *et al.*, 2020). موکوس پوست ماهیان به عنوان نخستین سد دفاعی، به دلیل ترشح و جایگزینی مداوم مانع از تثبیت انگل‌ها، باکتری‌ها و قارچ‌های بیماری‌زا بر سطوح خارجی بدن ماهی می‌گردد (Ángeles Esteban, 2012). موکوس اپیدرم حاوی چندین ترکیب ترش‌حی از جمله گلایکوپروتئین‌ها، آگلوتین‌ها، لکترین‌ها، پپتیدهای ضد میکروبی، آنزیم‌های پروتئولیتیک، فلاو آنزیم‌ها، ایمونوگلوبین‌ها، لیزین، لیزوزیم، پروتئین فاز

الک شدن مقدار مورد نیاز برای هر یک از اقلام غذایی توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شده و به داخل تشت پلاستیکی اضافه شد. پس از میکس-کردن، مواد وارد دستگاه پلت‌ساز شده و پلت‌های ساخته شده برای خشک‌شدن به مدت ۲۴ ساعت در داخل سالن آزمایش نگهداری شدند. پس از خشک‌شدن، پلت‌ها در پوشش‌های مناسب پلاستیکی بسته‌بندی شده و تا زمان مصرف در دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد در فریزر نگهداری شدند. ساخت غذا در دانشگاه آزاد اسلامی واحد نور صورت گرفت. جیره غذایی به صورت دستی با قطر ۲ میلی‌متر و بر اساس جدول زیر تهیه و آماده‌سازی شد. آنالیز شیمیایی و تعیین درصد اجزاء خوراک فوق در آزمایشگاه تخصصی پژوهشگاه اکولوژی دریای خزر واقع در شهرستان ساری انجام شد.

### غذادهی و زیست‌سنجی

غذادهی به صورت روزانه در ۳ وعده صبح، ظهر و عصر انجام شد. جهت تعیین توده زنده استخرها و محاسبه میزان خوراک دهی، هر ۲ هفته یک بار متوسط وزن بچه ماهیان در هر استخر اندازه‌گیری شد و میزان خوراک مصرفی از روی توده زنده هر استخر با توجه به جداول تغذیه ماهیان تعیین گردید. در طی دوره پرورش میزان خوراک‌دهی بر اساس ۴ درصد از وزن بدن با توجه به درجه حرارت آب صورت گرفت (Chebanov and Galich, 2011).

حاد و آنتی‌بادی‌های طبیعی است که نقش دفاعی مهمی را علیه عوامل بیماری‌زا ایفا می‌کند (Abdel-Shafi *et al.*, 2019). وجود موکوس بر پوست و آبشش ماهی جهت حفاظت از ساختار آبشش و برخی وظایف مهم آن حیاتی است (علیزاده رود پستی و همکاران، ۱۳۹۶). با توجه به نتایج مطالعات گذشته و همچنین خواص زردچوبه از یک سو و اهمیت اقتصادی این گونه پرورشی، در کنار خلاء پاره‌ای از اطلاعات فنی و تخصصی در مورد پرورش آنان از سویی دیگر ایجاب می‌نماید که به تولید اطلاعات کاربردی جهت توسعه پایدار آبی‌پروری گونه‌های مذکور اقدام نمود.

### مواد و روش‌ها

این تحقیق در پاییز و زمستان ۱۳۹۷ در کارگاه تخصصی پرورش ماهی مداربسته آقای اسلامی واقع در حسین‌آباد ساری بر بچه ماهی ازون‌برون با میانگین وزنی  $0.5 \pm 45$  گرم و طول  $0.5 \pm 26$  سانتی‌متر به مدت ۶۰ روز انجام شد. ریزوم زردچوبه به صورت خالص از بازار محلی شهرستان نور خریداری شد. سپس در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شده و بعد از آن با استفاده از آسیاب به صورت پودر درآورده شد. پودر بدست آمده با استفاده از الک با مش‌های سایز ۳۰ الک شده تا پودر با ذرات یکنواخت به دست آید. به منظور تهیه جیره در ابتدا اجزای مورد نیاز جیره از کارخانه قره‌برون چپکرد واقع در شهرستان جویبار تهیه شده و پس از

جدول ۱: اجزای تشکیل‌دهنده جیره‌های غذایی مورد استفاده در دوره پرورش

تیمار	شاهد	جیره حاوی ۰/۵	جیره حاوی ۱	جیره حاوی ۲
اقلام غذایی (%)	درصد زردچوبه	درصد زردچوبه	درصد زردچوبه	درصد زردچوبه
بودر ماهی	۳۲	۳۲	۳۲	۳۲
آرد سویا	۲۱	۲۱	۲۱	۲۱
بودر گوشت	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶
آرد گندم	۲۴/۸	۲۴/۸	۲۴/۸	۲۴/۸
روغن ماهی	۴	۴	۴	۴
مکمل ویتامینه	۰/۰۴۵	۰/۰۴۵	۰/۰۴۵	۰/۰۴۵
سلولز	۲	۱	۱/۵	۰
زردچوبه	۰	۰/۵	۱	۲
کولین	۰/۱۵۵	۰/۱۵۵	۰/۱۵۵	۰/۱۵۵

## خون‌گیری

برای خون‌گیری از بچه‌ماهیان از هر یک از تکرارهای آزمایشی تعداد ۶ بچه ماهی به صورت تصادفی انتخاب و خون‌گیری توسط سرنگ از طریق ساقه دمی صورت گرفت. بعد از اتمام خون‌گیری، نمونه‌های خون جمع‌آوری شده در لوله آزمایش فاقد ماده ضد انعقاد هپارین (۰/۲ میلی‌گرم در هر لیتر خون)، تخلیه و پس از تشکیل لخته، سانتریفوژ شده و نمونه سرم خون در لوله‌های کوچک (میکروتیوب) تخلیه و در کنار یخ در دمای ۳ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه پژوهشکده اکولوژی دریای خزر واقع در شهرستان ساری انتقال و بلافاصله مورد سنجش قرار گرفت (Tacon *et al.*, 2002). ارزیابی شاخص‌های ایمنی شامل: اندازه‌گیری پروتئین کل به روش فتومتریک بر طبق روش (Rifai *et al.*, 2017) Biuret، کمپلمان‌های

C<sub>3</sub> و C<sub>4</sub> به روش ایمونوتوربیدیمتریک (Boshra *et al.*, 2004)، Igm به روش ایمونوتوربیدیمتریک (Mashoof and Criscitiello, 2016) با استفاده از کیت تجاری (شرکت پارس آزمون، ایران)، کورتیزول با استفاده از دستگاه الیزا (Awareness, USA) و با استفاده از کیت ST AIA-PACK CORT (Tosoh Corporation, Japan) لیزوزیم طبق روش Panase (2017) با لیز باکتری *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma, St. Louis, MO, USA) و جهت اندازه‌گیری NBT، ۱ - ۰/۵ میلی‌لیتر از خون هپارینه با محلول هنکس تا ۰/۱ حجم اولیه رقیق گردید. برای انجام این آزمایش از میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای استفاده شد. در هر چاهک میکرو پلیت، ۲۰۰ میکرولیتر خون رقیق شده، ۱۰۰ میکرولیتر محلول لومینول و ۱۰۰ میکرولیتر محلول ردامین ریخته شد. پس از قراردادن

تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یکطرفه (One-way ANOVA) و آزمون مقایسه میانگین تیمارها به وسیله آزمون دانکن (Duncan) استفاده شد. آنالیز آماری در سطح معنی‌داری ( $p < 0/05$ ) صورت گرفت و میانگین داده‌ها به همراه انحراف استاندارد ارائه گردید.

آزمایش نشان داد که با افزایش دز زردچوبه تا میزان دو درصد NBT، TP، IgM، لیزوزیم و  $C_3$  افزایش یافته، بطوریکه بیشترین میزان آن‌ها مربوط به تیمار ۲ می‌باشد و اختلاف بین تیمارها معنی‌دار نبود ( $p > 0/05$ ). همچنین مقایسه میانگین  $C_4$ ، گلوکز و کورتیزول در تیمارهای مختلف آزمایش نشان می‌دهد که با افزایش دز زردچوبه میزان  $C_4$ ، گلوکز و کورتیزول افزایش یافته، به طوری که بیشترین میزان آن‌ها مربوط به تیمار ۲ می‌باشد و اختلاف بین تیمارها معنی‌دار بود ( $p < 0/05$ )، اما تفاوت معنی‌داری در میزان گلوکز بین تیمارها مشاهده نشد ( $p > 0/05$ ).

نمونه‌ها در چاهک میکروپلیت بلافاصله در محل خود در دستگاه Luminoscan Ascent (Thermo, Finland) قرار گرفت (Grayfer et al., 2018).

تجزیه و تحلیل داده‌ها در این بررسی با استفاده از نرم افزار SPSS ورژن ۲۳ صورت گرفت. برای تجزیه و

## نتایج

نتایج آماری داده‌های مربوط به شاخص‌های ایمنی موکوس در بچه ماهیان ازون‌برون تغذیه شده با مقادیر مختلف پودر زردچوبه در جدول ۲ آمده است. تفاوت معنی‌داری از لحاظ شاخص‌های ایمنی موکوس (ALP, lysozyme) در بین تیمارها مشاهده نشد ( $p < 0/05$ ). اما با افزایش میزان دز پودر زردچوبه، میزان شاخص‌های ایمنی موکوسی نسبت به گروه شاهد افزایش یافت. به طوری که بیشترین مقدار آن در تیمار ۲ مشاهده شد.

نتایج آماری داده‌های مربوط به شاخص‌های ایمنی بچه ماهیان ازون‌برون تغذیه شده با مقادیر مختلف پودر زردچوبه در جدول ۳ آمده است. مقایسه میانگین NBT، TP، IgM، لیزوزیم و  $C_3$  در تیمارهای مختلف

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار شاخص‌های ایمنی موکوسی در ازون‌برون جوان تحت تأثیر دزهای مختلف زردچوبه

گروه شاهد	تیمار ۰/۵ درصد زردچوبه	تیمار ۱ درصد زردچوبه	تیمار ۲ درصد زردچوبه
(IU/l) ALP	$0/53 \pm 0/01^c$	$0/55 \pm 0/01^b$	$0/58 \pm 0/01^a$
(U/mg) lysozyme	$0/61 \pm 0/01^c$	$0/64 \pm 0/01^b$	$0/66 \pm 0/01^a$

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ( $p < 0/05$ ).

جدول ۳: میانگین و انحراف معیار شاخص‌های ایمنی و استرس در ازون برون جوان تحت تأثیر دزهای مختلف زردچوبه

شاهد	تیمار ۰/۵ درصد زردچوبه	تیمار ۱ درصد زردچوبه	تیمار ۲ درصد زردچوبه
(mg/ml) NBT	۱۰۰/۴±۲۰/۵۲ <sup>d</sup>	۱۲۲/۱۰±۷۳/۱۵ <sup>c</sup>	۲۵۷/۷±۶۰/۷۲ <sup>a</sup>
(g/dl) TP	۳/۰±۲۳/۰۶ <sup>d</sup>	۳/۰±۴۰/۰۶ <sup>c</sup>	۴/۰±۱۶/۰۵ <sup>a</sup>
(mg/ml) IgM	۴۰/۳±۶۰/۲۷ <sup>c</sup>	۷۱/۱±۲۳/۶۹ <sup>b</sup>	۹۳/۱۱±۳۰/۱۵ <sup>a</sup>
(mg/ml) C <sub>3</sub>	۳۱/۲±۲۰/۹۵ <sup>b</sup>	۳۸/۲±۱۳/۹۲ <sup>b</sup>	۵۰/۵±۴۶/۸۷ <sup>a</sup>
(mg/ml) C <sub>4</sub>	۱۱/۱±۲۶/۱۳ <sup>b</sup>	۱۳/۲±۴۳/۷۰ <sup>ab</sup>	۱۶/۱±۵۱/۴۹ <sup>a</sup>
(mg/ml) Lysozyme	۴/۰±۱۴/۱۹ <sup>d</sup>	۵/۰±۵۴/۲۸ <sup>b</sup>	۶/۰±۸۵/۱۸ <sup>a</sup>
(mg/ml) cortisol	۲۶/۳±۱۶/۷۶ <sup>b</sup>	۱۸/۲±۳۳/۱۷ <sup>ab</sup>	۱۶/۴±۸۷/۵۳ <sup>a</sup>
(mg/dl) Glucose	۸۴/۲۲±۴۶/۴۷ <sup>a</sup>	۷۶/۱۶±۷۰/۷۱ <sup>a</sup>	۶۸/۱۴±۴۳/۱۵ <sup>a</sup>

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ( $p < 0.05$ ).

## بحث

در کشورهای مختلف استفاده از محرک‌های گیاهی به دلیل آثار جانبی کمتر بر موجود زنده و محیط زیست، عدم ایجاد مقاومت دارویی، ارزان و پایدار و در دسترس بودن جهت پیشگیری و کنترل بیماری‌ها ماهی توسعه یافته است (Guardiola et al., 2016). موکوس به عنوان جزئی از مکانیسم ایمنی ذاتی، علاوه بر اینکه با ریختن پوست و بافت مرده و تولید مداوم آن، همیشه وجود دارد، از اتصال پاتوژن‌ها نیز جلوگیری می‌کند (Subramanian et al., 2007). فاکتورهای ضد میکروبی از قبیل: لیزوزیم، آلکالین فسفاتاز، آنزیم‌های پروتئولیتیک و پروتئین‌های کمپلمان از مهم‌ترین عوامل ضد میکروبی موکوس هستند که قدرت ضد باکتریایی موکوس بیشتر به حضور این عوامل نسبت داده شده است (Wei et al., 2010). افزایش شاخص‌های ایمنی موکوسی در بسیاری از گونه‌ها در اثر تغذیه با جیره غذایی حاوی مکمل‌های گیاهی نیز گزارش شده است. لیزوزیم یک آنزیم ضد باکتریایی است که پپتید و گلیکان موجود در دیواره

باکتری‌های مرده را می‌شکند و بدین ترتیب بطور غیر اختصاصی از رشد میکروارگانیسم‌ها جلوگیری می‌کند (Ross et al., 2000). در باکتری‌های گرم منفی لیزوزیم پس از تخریب لایه بیرونی توسط کمپلمان و دیگر آنزیم‌هایی که در معرض لایه پپتید و گلیکان قرار می‌گیرند، فعالیت می‌کند (Subramanian et al., 2007). آنزیم لیزوزیم به طور گسترده در ماکروفاژها، میکروب‌ها، گیاهان، بی‌مهرگان و مهره‌داران وجود دارد و نیز در ترشحات بسیاری از حیوانات مشاهده می‌شود. نتایج مطالعه حاضر با نتایج Hoseinifar و همکاران (۲۰۱۷) حاکی از اثر عصاره خرما بر فعالیت آنزیم لیزوزیم در کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و Dehghanian و همکاران (۲۰۱۴) با بررسی اثر سیاه دانه (*Nigella sativa*) بر فعالیت آنزیم لیزوزیم در جیره غذایی کپور معمولی و Panigrahi و همکاران (۲۰۰۴) با بکارگیری پروبیوتیک *Lactobacillus rhamnosus* در جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مطابقت دارد.

تحریک سیستم ایمنی غیراختصاصی میزبان باشد (Stolen *et al.*, 1990). نتایج مطالعه حاضر با نتایج Sodamola و همکاران (۲۰۱۶) و Yonar و همکاران (۲۰۱۹) مطابقت دارد.

لیزوزیم یکی از اجزای سیستم دفاع غیر اختصاصی بدن است که بر عملکرد دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت تأثیر گذاشته و پیوند ۴-۱ گلیکوزیدی بین پپتید و گلیکان را از بین می‌برد (Hanif *et al.*, 2004). نتایج تحقیق حاضر بیانگر افزایش معنی دار فعالیت لیزوزیم در تیمار ۲ درصد پودر زردچوبه نسبت به گروه شاهد و سایر تیمارها بود. افزایش لیزوزیم سرم نقش پودر زردچوبه در ارتقاء پاسخ ایمنی غیر اختصاصی در ازون برون جوان پرورشی را تأیید می‌نماید. نتایج مطالعه Binai و همکاران (۲۰۱۴) با افزودن سطوح مختلف ۰، ۳، ۶ و ۱۲ درصد گزنه به جیره غذایی فیل ماهیان جوان پرورشی اظهار کردند که بعد از ۴ هفته، تفاوت معنی‌داری در میزان لیزوزیم مشاهده نشد که خود بیانگر این مطلب است که در برخی مواقع مقادیر بالا و مدت زمان طولانی برای اثربخشی محرک‌های ایمنی لازم است. نتایج این تحقیق با نتایج Vahedi و همکاران (۲۰۱۷)، Yonar و همکاران (۲۰۱۹) و Ayoub و همکاران (۲۰۱۹) مطابقت دارد.

فرآیند فاگوسیتوز و فعالیت کشندگی توسط سلول‌های فاگوسیت‌کننده، یکی از مهم‌ترین ساز و کارهای دفاعی در برابر باکتری‌های بیماری‌زا می‌باشد. فاگوسیت‌های ماهی قادر به تولید سوپراکسید ( $O_2$ ) طی فرآیندی تحت عنوان انفجار تنفسی می‌باشند. رادیکال آزاد اکسیژن یکی از فاکتورهای اختصاصی در انفجار تنفسی بوده که توسط برخی از سلول‌های فاگوسیتوزی مثل: نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها تولید می‌شود (Chung

آنزیم فسفاتاز قلیایی به دلیل فعالیت هیدرولیتیکی به عنوان یک عامل ضد باکتریایی ضروری شناخته شده و عملکرد محافظتی در بهبود زخم، عفونت انگلی و استرس‌ها دارد (Ross *et al.*, 2000, Subramanian *et al.*, 2007). اطلاعات محدودی در رابطه با تأثیر محرک‌های ایمنی گیاهی بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی موجود در موکوس ماهیان وجود دارد. نتایج تحقیق حاضر با نتایج Sheikhzadeh و همکاران (۲۰۱۲) بر روی اثر محرک آرگوسان در جیره غذایی فزل‌آلای رنگین‌کمان، تحقیقات Yousefi و همکاران (۲۰۲۱) با بررسی اثر سیاه دانه در جیره غذایی کپور معمولی، نتایج Salmaniyan ghehdarijani (۲۰۱۴) در بررسی اثر مکمل گیاهی سیر در گونه کلمه و Roohi و همکاران (۲۰۱۶) با بررسی اثرات زیره سیاه و شنبلیله در جیره غذایی کپور معمولی مطابقت دارد. نتایج حاضر نشان داد که با بکارگیری مکمل‌های گیاهی در جیره غذایی بچه ماهیان ازون برون بطور معنی‌داری فعالیت ضد باکتریایی موکوس را افزایش می‌دهد.

پروتئین سرم خون سیستم بیوشیمیایی نسبتاً حساسی است که تابع وضعیت سلامت و تغییرات ناشی از عوامل داخلی و خارجی می‌باشد. Shalaby و همکاران (۲۰۰۶) گزارش نمودند که عواملی نظیر جنس، تخم‌ریزی، درجه حرارت، نور، سن و کاهش اکسیژن می‌تواند بر کاهش میزان پروتئین کل سرم خون تأثیر گذار باشد. افزایش سطح پروتئین‌های سرم به عنوان شاخص مناسبی برای تعیین وضعیت دفاع ایمنی ماهی مطرح می‌باشد. پروتئین تام پلاسما شامل پروتئین‌های آلبومین و گلوبولین است. تصور می‌شود که افزایش میزان آلبومین، گلوبولین و پروتئین سرم بیشتر در ارتباط با

نتایج حاصل از مطالعه این تحقیق نشان داد که افزایش میزان دز زردچوبه میزان  $C_3$  و  $C_4$  افزایش یافت. نتایج مطالعه حاضر با نتایج Morgan و همکاران (۲۰۰۵) مطابقت دارد.

افزایش کورتیزول پلازما یک پاسخ اولیه به استرس می‌باشد، در واقع کورتیزول، گلوکوکورتیکوئید اصلی است که توسط بافت‌های کلیه ترشح می‌شود (Haukenes *et al.*, 2008). اگرچه کورتیزول نقش‌های مختلفی در پاسخ به استرس از قبیل تأمین انرژی، تحریک فرآیند تنظیم یون و کمک به تأمین اکسیژن در شرایط کمبود اکسیژن ایفا می‌کند، اما افزایش طولانی مدت کورتیزول می‌تواند موجب کاهش لئوسیت و گلبول سفید و تخریب اندام‌های ایمنی از قبیل کبد و تیموس شود (Carrizo *et al.*, 2021, Carbajal *et al.*, 2019). نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که افزایش میزان پودر زردچوبه به جیره غذایی موجب کاهش میزان کورتیزول شد. Najafipour و همکاران (۲۰۱۲) اثبات کردند که افزودن ۲ و ۵/۰ درصد عصاره ریواس (*Rheum officinale*) به جیره غذایی بچه ماهی سفید دریای خزر موجب کاهش پاسخ کورتیزول به استرس دمایی می‌شود. Ji و همکاران (۲۰۰۷ و ۲۰۰۹) اثر مکمل‌های گیاهی را بر روند تغییرات شاخص‌های استرس در ماهی فلاندر ژاپنی (*Paralichthys olivaceus*) و ماهی سیم دریایی قرمز (*Pagrus major*) بررسی و نتایج نشان داد که میزان کورتیزول پلازما در تیمارهای تغذیه شده با جیره گیاهی به طور معنی‌داری کمتر از گروه تغذیه شده با جیره کنترل بوده و گیاهان دارویی باعث بازگشت سریع کورتیزول و به دنبال آن گلوکز به مقادیر اولیه خود با تغییرات کمتر می‌شود.

(and Secombes, 1988). در مطالعه حاضر میزان NBT با افزایش دز افزایش یافت که با نتایج Yonar و همکاران (۲۰۱۹)، Binaii و همکاران (۲۰۱۴)، Akrami و همکاران (۲۰۱۵) Ayoub و همکاران (۲۰۱۹) مطابقت دارد.

میزان گلوکز با فعالیت‌های تغذیه‌ای، استرس و سایر عوامل ناشناخته ارتباط دارد. از سوی دیگر، غلظت گلوکز سرم به وسیله مکانیسم‌های پیچیده هورمونی نظیر گلوکاکاگون، انسولین و دیگر هورمون‌ها نظیر کورتیکواستروئیدها، اپی‌نفرین و تیروکسین تنظیم می‌شود. لذا در اثر تغذیه با جیره‌های حاوی فیبر و قرار گرفتن در معرض استرس‌های محیطی، سطح گلوکز پلازما می‌تواند به طور معنی‌داری افزایش یابد (Agrahari *et al.*, 2007). در این مطالعه میزان گلوکز خون با افزایش دز کاهش یافت که اختلاف بین تیمارها معنی‌دار بود. در تأیید مطالعه حاضر Fujiwara و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که کورکومین تولیدات گلوکز کبدی را کاهش می‌دهد. آنها بیان کردند کورکومین می‌تواند از گلوکونئوز و گلیکوژنولیز کبدی از طریق سرکوب فعالیت‌های گلوکز ۶- فسفاتاز و فسفو آنول پیرووات کربوکسی کیناز جلوگیری کند. همچنین نتایج مطالعه حاضر با نتایج Sodamola و همکاران (۲۰۱۶) مطابقت دارد.

کمپلمان‌ها در واقع پروتئین‌های فاز حاد سیستم ایمنی محسوب می‌شوند و غلظت آن‌ها معمولاً پس از نکرور سلولی و مرگ بافتی تغییر می‌کند به عبارتی، تغییر سطح کمپلمان‌ها به عنوان یک پاسخ فاز حاد سیستم ایمنی نوعی واکنش سیستمیک تعمیم یافته محسوب می‌شود که می‌توان آن را به التهاب و پاسخ ایمنی ذاتی مربوط دانست (Tohidi *et al.*, 2019).

## منابع

۱. پورعلی فتشمی، ح. ر.، یزدانی ساداتی، م. ع.، عبدالمملکی، ش.، محسنی، م.، پورغلام، ع.، سید حسنی، م.، ۱۳۹۶. مقایسه اقتصادی مزارع ساحلی پرورش ماهیان خاویاری. نشریه توسعه آبرزی پروری، ۱۱(۲)، ۱۱۵-۱۱۱.
۲. عزیز زاده، ل.، ۱۳۹۶. اثر انتروکوکوس فکالیس به عنوان پروبیوتیک بر شاخص‌های خونی و سرمی بچه تاس ماهی ایرانی *Acipenser persicus*. نشریه توسعه آبرزی پروری، ۱۱(۱)، ۸۳-۱۰۳.
3. Abdel-Shafi, S., Osman, A., Al-Mohammadi, A.-R., Enan, G., Kamal, N. Sitohy, M., 2019. Biochemical, biological characteristics and antibacterial activity of glycoprotein extracted from the epidermal mucus of African catfish (*Clarias gariepinus*). International Journal of Biological Macromolecules, 138, 773-780.
4. Abdelwahab, A. M., El-Bahr, S., 2012. Influence of Black cumin seeds (*Nigella sativa*) and Turmeric (*Curcuma longa* Linn.) mixture on performance and serum biochemistry of Asian sea bass, *Lates calcarifer*. World Journal of Fish and Marine Sciences., 4, 496-503.
5. Agrahari, S., Pandey, K. C., Gopal, K., 2007. Biochemical alteration induced by monocrotophos in the blood plasma of fish, *Channa punctatus* (Bloch). Pesticide Biochemistry and Physiology, 88, 268-272.
6. Akrami, R., Gharaei, A., Mansour, M. R., Galeshi, A., 2015. Effects of dietary onion (*Allium cepa*) powder on growth, innate immune response and hemato-biochemical parameters of beluga (*Huso huso* Linnaeus, 1754) juvenile. Fish & Shellfish Immunology, 45, 828-834.
7. Alishahi, M., Soltani, M., Mesbah, M. Zargar, A., 2012. Immunostimulatory and growth stimulation effects of Ergosan, levamisole and herbal extracts in *Cyprinus*

سیستم ایمنی در ماهی‌ها به عنوان خط دفاعی در برابر عوامل بیماری‌زا مطرح می‌باشد (Alishahi *et al.*, 2012). ایمنوگلوبولین‌ها نقش مهمی را در ایمنی همورال ایفا می‌کنند (Pisano *et al.*, 2007). در پستانداران ۵ گروه Ig با وظایف گوناگون وجود دارد که شامل: IgE, IgA, IgG, IgD, IgM می‌باشند. IgG مهمترین ایمنوگلوبولین ضد ویروسی، ضد باکتریایی و ضد سم در حیوانات عالی می‌باشد (Mashoof and Criscitiello, 2016). ایمنوگلوبولین اصلی ماهیان که عمل ضد باکتریایی و ویروسی مشابه حیوانات دارد، IgM می‌باشد. نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که با افزایش میزان پودر زردچوبه به جیره غذایی موجب افزایش میزان IgM شد. نتایج مطالعه حاضر با نتایج Raman و همکاران (۲۰۱۷)، Binaii و همکاران (۲۰۱۴)، Akrami و همکاران (۲۰۱۵)، Ayoub و همکاران (۲۰۱۹) و Vahedi و همکاران (۲۰۱۵) مطابقت دارد.

به‌طور کلی، با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که افزودن پودر زردچوبه به میزان ۲ درصد در جیره غذایی ماهی، سبب بهبود شاخص‌های ایمنی و ایمنی موکوس در بچه‌ماهیان اوزون‌برون گردید. پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آتی در زمینه تأثیر پودر زردچوبه بر مقاومت این گونه در برابر بیماری‌ها نیز پژوهش‌هایی صورت گیرد.

## سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم که از زحمات تمام کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نمایم.

- Veterinary Immunology and Immunopathology, 237, 110240.
16. Chebanov, M., Galich, E., 2011. Sturgeon Hatchery Manual. FAO, 303 P
  17. Chung, S., Secombes, C. J., 1988. Analysis of events occurring within teleost macrophages during the respiratory burst. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry, 89, 539-544.
  18. Dehghanian, S. H., 2014. The dietary effects of black Cumin seed (*Nigella sativa*) powder on some mucosal immunity parameters, growth, survival and resistance against salinity stress in Caspian roach (*Cyprinus carpio*). M.Sc., Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. 152 P.
  19. Duvoix, A., Blasius, R., Delhalle, S., Schneckeburger, M., Morceau, F., Henry, E., Dicato, M., Diederich, M., 2005. Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. Cancer Letters, 223, 181-190.
  20. El-Houseiny, W., Khalil, A. A., Abd-Elhakim, Y. M., Badr, H. A., 2019. The potential role of turmeric and black pepper powder diet supplements in reversing cadmium-induced growth retardation, ATP depletion, hepatorenal damage, and testicular toxicity in *Clarias gariepinus*. Aquaculture, 510, 109-121.
  21. Fujiwara, H., Hosokawa, M., Zhou, X., Fujimoto, S., Fukuda, K., Toyoda, K., Nishi, Y., Fujita, Y., Yamada, K., Yamada, Y., Seino, Y., Inagaki, N., 2008. Curcumin inhibits glucose production in isolated mice hepatocytes. Diabetes Research and Clinical Practice, 80, 185-191.
  22. Grayfer, L., Kerimoglu, B., Yaparla, A., Hodgkinson, J. W., Xie, J., Belosevic, M., 2018. Mechanisms of Fish Macrophage Antimicrobial Immunity. Frontiers in immunology, 9, 1105-1105.
  23. Guardiola, F. A., Porcino, C., Cerezuela, R., Cuesta, A., Faggio, C., Esteban, M. A., 2016. Impact of date palm fruits extracts and probiotic enriched diet on antioxidant status, innate immune response and immune-related gene expression of European seabass (*Dicentrarchus labrax*). Fish & Shellfish Immunology, 52, 298-308.
  - carpio*. Journal Of Veterinary Research, 67, 135-142.
  8. Ángeles Esteban, M., 2012. An Overview of the Immunological Defenses in Fish Skin. ISRN Immunology, 2012, 853470.
  9. Ayoub, H., Tantawy, M., Abdel-Latif, H., 2019. Influence of Moringa (*Moringa oleifera*) and Rosemary (*Rosmarinus officinalis*), and Turmeric (*Curcuma longa*) on Immune parameters and Challenge of Nile tilapia to *Aeromonas hydrophila*. Life Science Journal, 16(4), 7-15.
  10. Banerji, S., Banerjee, S., 2016. A formulation of grape seed, Indian gooseberry, turmeric and fenugreek helps controlling type 2 diabetes mellitus in advanced-stage patients. European Journal of Integrative Medicine, 8, 645-653.
  11. Binaii, M., Ghiasi, M., Farabi, S. M. V., Pourgholam, R., Fazli, H., Safari, R., Alavi, S. E., Taghavi, M. J., Bankehsaz, Z., 2014. Biochemical and hemato-immunological parameters in juvenile beluga (*Huso huso*) following the diet supplemented with nettle (*Urtica dioica*). Fish & Shellfish Immunology, 36, 46-51.
  12. Boon, H., Wong, J., 2004. Botanical medicine and cancer: a review of the safety and efficacy. Expert Opinion on Pharmacotherapy, 5, 2485-2501.
  13. Boshra, H., Gelman, A. E., Sunyer, J. O., 2004. Structural and Functional Characterization of Complement C4 and C1s-Like Molecules in Teleost Fish: Insights into the Evolution of Classical and Alternative Pathways. The Journal of Immunology, 173, 349.
  14. Carbajal, A., Reyes-López, F. E., Tallo-Parra, O., Lopez-Bejar, M., Tort, L., 2019. Comparative assessment of cortisol in plasma, skin mucus and scales as a measure of the hypothalamic-pituitary-interrenal axis activity in fish. Aquaculture, 506, 410-416.
  15. Carrizo, V., Valenzuela, C. A., Zuloaga, R., Aros, C., Altamirano, C., Valdés, J. A. Molina, A., 2021. Effect of cortisol on the immune-like response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) myotubes challenged with *Piscirickettsia salmonis*.

- of CYP450 and GST genes of *Oreochromis niloticus* fish: Role of curcumin supplemented diet. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 188, 109890.
33. Morgan, B. P., Marchbank, K. J., Longhi, M. P., Harris, C. L. Gallimore, A. M., 2005. Complement: central to innate immunity and bridging to adaptive responses. *Immunology Letters*, 97, 171-179.
  34. Najafpour, B., Reza, I. M. Ali, S., 2012. Effects of Rheum rebis extract on the blood parameters and responses of *Rutilus frisii kutum* under heat stress. *Global Veterinaria*, 8, 222-228.
  35. Norouzi, M., Pourkazemi, M., Keyvan, A., Fatemi, S. M. R. Kazemi, B., 2008. Population Genetic Structure of Stellate Sturgeon (*Acipenser stellatus* Pallas, 1771) in the South Caspian Sea Using Microsatellite Markers. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 3, 158-166.
  36. Panase, P., Saenphet, S., Saenphet, K., 2017. Visceral and serum lysozyme activities in some freshwater fish (three catfish and two carps). *Comparative Clinical Pathology*, 26, 169-173.
  37. Panigrahi, A., Kiron, V., Kobayashi, T., Puangkaew, J., Satoh, S. Sugita, H., 2004. Immune responses in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* induced by a potential probiotic bacteria *Lactobacillus rhamnosus* JCM 1136. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 102, 379-388.
  38. Pisano, E., Coscia, M. R., Mazzei, F., Ghigliotti, L., Coutanceau, J. P., Ozouf-Costaz, C. Oreste, U., 2007. Cytogenetic mapping of immunoglobulin heavy chain genes in Antarctic fish. *Genetica*, 130, 9-17.
  39. Rifai, N., Horvath, A. R., Wittwer, C., 2017. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*, Elsevier.
  40. Roohi, Z., Imanpoor, M. R., Hajimoradloo, A. Salmanian Ghahderijani, M., 2016. Effect of herbal supplements of caraway (*Carum carvi*) and fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) on antibacterial activity and soluble protein of mucus in *Cyprinus carpio* fingerlings. *Journal of Aquatic Ecology*, 6, 128-136.
  24. Hanif, A., Bakopoulos, V., Dimitriadis, G. J., 2004. Maternal transfer of humoral specific and non-specific immune parameters to sea bream (*Sparus aurata*) larvae. *Fish & Shellfish Immunology*, 17, 411-435.
  25. Haukenes, A. H., Barton, B. A., Bollig, H., 2008. Cortisol responses of pallid sturgeon and yellow perch following challenge with lipopolysaccharide. *Journal of Fish Biology*, 72, 780-784.
  26. Hoseinifar, S. H., Dadar, M., Khalili, M., Cerezuela, R. Esteban, M. Á., 2017. Effect of dietary supplementation of palm fruit extracts on the transcriptomes of growth, antioxidant enzyme and immune-related genes in common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. *Aquaculture Research*, 48, 3684-3692.
  27. Javed, M. T., Durrani, F.-R., Hafeez, A., Khan, R. Ahmad, I., 2009. Effect of aqueous extract of plant mixture on carcass quality of broiler chicks. *Journal of Agricultural and Biological Science*, 4(1), 37-40.
  28. Ji, S. C., Jeong, G. S., Im, G. S., Lee, S. W., Yoo, J. H. Takii, K., 2007. Dietary medicinal herbs improve growth performance, fatty acid utilization, and stress recovery of Japanese flounder. *Fisheries Science*, 73, 70-76.
  29. Ji, S. C., Takaoka, O., Lee, S. W., Hwang, J. H., Kim, Y. S., Ishimaru, K., Seoka, M., Jeong, G. S. Takii, K., 2009. Effect of dietary medicinal herbs on lipid metabolism and stress recovery in red sea bream *Pagrus major*. *Fisheries Science*, 75, 665-672.
  30. Mashoof, S., Criscitiello, M. F., 2016. Fish Immunoglobulins. *Biology*, 5, 45.
  31. Masuda, T., Toi, Y., Bando, H., Maekawa, T., Takeda, Y., Yamaguchi, H., 2002. Structural Identification of New Curcumin Dimers and Their Contribution to the Antioxidant Mechanism of Curcumin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2524-2530.
  32. Mohamed, A. A. R., El-Houseiny, W., El-Murr, A. E., Ebraheim, L. L. M., Ahmed, A. I. El-Hakim, Y. M. A., 2020. Effect of hexavalent chromium exposure on the liver and kidney tissues related to the expression

48. Subramanian, S., MacKinnon, S. L., Ross, N. W., 2007. A comparative study on innate immune parameters in the epidermal mucus of various fish species. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 148, 256-263.
49. Tacon, A. G. J., Cody, J. J., Conquest, I. D., Divakaran, S., Forster, I. P., Decamp, O. E., 2002. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. *Aquaculture Nutrition*, 8, 121-137.
50. Tohidi, B., Rahimmalek, M., Trindade, H., 2019. Review on essential oil, extracts composition, molecular and phytochemical properties of Thymus species in Iran. *Industrial Crops and Products*, 134, 89-99.
51. Vahedi, A. H., Hasanpour, M., Akrami, R. Chitsaz, H., 2017. Effect of dietary supplementation with ginger (*Zingiber officinale*) extract on growth, biochemical and hemato-immunological parameters in juvenile beluga (*Huso huso*). *Iranian Journal of Aquatic Animal Health*, 3, 26-46.
52. Wei, O. Y., Xavier, R. Marimuthu, K., 2010. Screening of antibacterial activity of mucus extract of snakehead fish, *Channa striatus* (Bloch). *European review for medical and pharmacological sciences*, 14, 675-681.
53. Yonar, M., yonar, S., Ispir, U. Ural, M., 2019. Effects of curcumin on haematological values, immunity, antioxidant status and resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) against *Aeromonas salmonicida* subsp. *achromogenes*. *Fish & Shellfish Immunology*, 89, 83-90.
54. Yousefi, M., Adineh, H., Reverter, M., Hamidi, M. Kh., Vatnikov, Y. A., Evgeny Vladimirovich Kulikov, Hoseinifar, S. H., Doan, H. V., 2021. Protective effects of black seed (*Nigella sativa*) diet supplementation in common carp (*Cyprinus carpio*) against immune depression, oxidative stress and metabolism dysfunction induced by glyphosate. *Fish & Shellfish Immunology*, 109, 12-19.
41. Ross, N., Firth, K., Wang, A. P., Burka, J. Johnson, S., 2000. Changes in hydrolytic enzyme activities of naïve Atlantic salmon *Salmo salar* skin mucus due to infection with the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis* and cortisol implantation. *Diseases of aquatic organisms*, 41, 43-51.
42. Salmaniyan Ghehdarijani, M., 2014. Dietary effects of garlic on mucus parameters, growth and survival in Caspian roach (*Rutilus rutilus caspicus*). M.Sc., Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. 135 P.
43. Sánchez-Martínez, J. G., Pérez-Castañeda, R., Aguirre-Guzmán, G., Vázquez-Sauceda, M. L., Rábago-Castro, J. L. Hernández-Acosta, M., 2015. Short Communication: Effects of the addition of a marigold extract to diets fed to channel catfish (*Ictalurus punctatus*) on growth parameters. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 14, 797-804.
44. Shalaby, A. M., Yassir, E., Rahman, A., 2006. Effects of Garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 12, 23-31.
45. Sheikhzadeh, N., Heidarieh, M., Karimi Pashaki, A., Nofouzi, K., Ahrab Farshbafi, M., Akbari, M., 2012. Hilyses®, fermented *Saccharomyces cerevisiae*, enhances the growth performance and skin non-specific immune parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology*, 32, 1083-1087.
46. Sodamola, M., Jimoh, W., Adejola, Y., Akinbola, D., Olanrewaju, A. Apiakason, E., 2016. Effect of Turmeric (*Curcuma longa*) Root Powder (TRP) on the Growth Performance, Hematology and Serum Biochemistry of African Catfish (*Clarias gariepinus*). *Academia Journal of Agricultural Research*, 4, 593-597.
47. Stolen, J. S., Fletcher, T. C., Anderson, D. P., Roberson, B. S. van Muiswinkel, W. B., 1990. *Techniques in fish immunology*, Fair Haven, NJ, SOS Publications.