مقاله پژوهشی
مجله علوم و فنون دریایی | صفحات ۶۵ تا ۷۶ | دوره ۱۹، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۹

استفاده از کنجاله بذرچای در کنترل ماهی کاراس(*Carassius carassius*) در سیستم پرورشی شاه میگوی دریای خزر(*Astacus leptodactylus Salines*)

حمید علاف نویریان* و حسینعلی زمانی

گروه شیلات و آبزیان دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۱/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۲/۲۶
شناسه دیجیتال (DOI) : 10.22113/jmst.2018.81781.2001

چکیده

ماهیان هرز در مزارع پرورش شاه میگوی دریای خزر به عنوان رقبای غذایی محسوب می شوند که تولیدات استخر را به شدت کاهش می دهند. از این رو یک آزمایش برای دست یابی به مقدار مناسب پودرکنجاله بذر چای به عنوان یک آفت کش طبیعی ماهیان هرز، انجام شد. در این آزمایش پنج تیمار با مقادیر۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰ میلی گرم در لیتر (ppm) و یک تیمار شاهد و سه تکرار برای هریک ازتیمارها در نظرگرفته شد. تعداد ۳۷۸ قطعه شاه میگوی جوان با میانگین وزنی ۴ گرم به طور کاملاً تصادفی بین ۱۸ مخزن فایبرگلاس حاوی۴۰۰ لیتر آب توزیع شدند. به علاوه تعداد۱۸۰ قطعه ماهی کاراس (*Carassius carassius*) با میانگین وزنی۴/۶ گرم به عنوان رقیب غذایی در کلیه مخازن بطور یکسان توزیع شدند. پودر کنجاله بذر چای ابتدا مطابق حجم هر مخزن(تیمار) اندازه گیری سپس در مخازن طبق مقادیر محاسبه شده توزیع شد. در مدت آزمایش با افزودن عصاره به هر تیمار، با غلظت های مورد نظر، علایم رفتاری ماهی ها مشاهده و میزان تلفات کل آنها در پایان زمان های مختلف پس از مجاورت ماهی با کنجاله بذر چای ثبت شد. به طور کلی تیمار ۴ (۸ میلی گرم/لیتر) با توجه به قیمت پودرکنجاله بذر چای و میزان کشندگی آن عملکرد مناسبی را برای از بین بردن ماهیان هرز در مخازن پرورش شاه میگوی دریای خزرنشان داد.

واژگان کلیدی: آفت کش، کنجاله بذرچای، ساپونین، ماهی هرز، شاه میگوی دریای خزر.

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: navi@guilan.ac.ir

۱. مقدمه

چای بومی گیلان(*Camellia sinensis*) در طی سالیان متمادی به عنوان یک نوشیدنی مورد استفاده قرار می گیرد(Jehad The ministry of Agriculture., 1995). به غیر از برگ چای، از بذر آن فرآوردهای مفید دیگری مانند روغن بذر چای برای مصارف دارویی و آرایشی و ساپونین موجود در پودرکنجاله بذر چای (پس از روغن کشی) به عنوان از بین برنده ماهیان هرز تولید می شود. ساپونین به شدت برای موجودات آبزی به ویژه ماهی ها سمی است و سبب مرگ آن ها می شود، برای همین در گذشته از ساپونین‌ها برای صید ماهی‌ها استفاده می‌کردند(Khalil and El-Adawy, 1994).

پودرکنجاله بذرچای حاوی مقداری ساپونین بوده که دشمنان طبیعی و رقبای غذائی میگوها را (ماهیان هرز، حلزون، قورباغه) در محیط های پرورشی در مقدار معینی از بین می برد، بدون آنکه هیچ گونه آلودگی و سمیت برای میگو داشته باشد (Minsalan and Chiu, 1986). پس از مدت کوتاهی پودرکنجاله بذر چای در استخر پرورش هیدرولیز شده و محتوای غنی از پروتئین، چربی، فیبر، مواد معدنی و مفید آن بطور کامل توسط میگوها جذب می شود (Rah *et al*.,1992) و (Yazicioglu *et al*., 1997). درکشور چین با توجه به فراوانی چای از کنجاله بذر آن به عنوان یک آفت کش طبیعی برای از بین بردن ماهیان هرز درمزارع پرورش میگوها استفاده می شود (Minsalan and Chiu, 1986) در حالی که در بعضی از مناطق جنوبی کشور هند، کنجاله گیاه ماهوا که در مناطق مذکور فراوان است و حاوی مقدار ساپونین نیز می باشد به عنوان آفت کش ماهیان هرز مورد استفاده قرار می گیرد (Misra *et al*., 1986).

ساپونین، نفوذپذیری غشائ سلول های اپیتلیال را نسبت به یون ها و الکترولیت ها افزایش می دهد و سبب خروج کنترل نشده این مواد از بدن ماهی می گردد(Cannon *et al*., 2004) . استفاده از کنجاله بذر چای سبب افزایش نشانگرهای زیستی بافت های کبد و کلیه مانند آنزیم های آلانین آمینوترانسفراز، کراتنین و اوره در سرم خون می گردد. علاوه بر آن تغییرات پاتولوژیک مانند واکوئوله شدن، تخریب، نکروز، همولیز و افزایش بیان ژن های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز نیز در این بافت ها مشاهده می شود(Mosleh *et al*.,2014). تیمار آب توسط ساپونین سبب افزایش ترشح موکوس از آبشش و سطح بدن می شود. ترشح بیش از حد موکوس، مانع انتقال اکسیژن آب به مویرگ های آبششی شده و با ایجاد اختلال تنفسی موجب کشندگی ماهی می شود. به عبارت دیگر موکوس به عنوان سد انتشار عمل کرده و بازده تبادل گازی را کاهش می دهد، این امر سبب هیپوکسی و در نهایت مرگ ماهی می شود (Sinha and Munshi, 2010). در شاه میگوی دریای خزر به علت وجود پوسته سخت و عدم تشکیل موکوس روی سطح خارجی بدن آن بر آنها تاثیری ندارد.

ساپونین ها در برخی جانوران آبزی نظیر خیار دریایی و ستاره ماهی نیز یافت می شوند(Augustin *et al* ., 2011). فرآورده اخیر در مزارع پرورش میگو به عنوان آفت کش ماهیان هرز، مورد استفاده قرارمی گیرد (Sahari *et al*., 2004) و (Terazaki *et al*., 1980). ساپونین ها دارای چهار ویژگی مهم(طعم تلخ- کف کنندگی در محیط آبی- همولیز گلبول های قرمز خون و برای موجودات آبزی، مخصوصاً ماهی ها بسیار سمی بوده و سبب مرگ آن ها می شوند) هستند. این ترکیب

از دو راه خوراکی و تزریقی، هم برای انسان ها و هم اکثر آبزیان سمی و حتی کشنده است. مصرف خوراکی آن ۱۰۰۰-۳ مرتبه کشنده تر از مصرف آن به شکل تزریقی می باشد(Hostettman & Marston, 1995).

علی رغم مطالعات بیولوژیکی وسیعی که در مورد اثرات ساپونین بر رشد، متابولیسم کلسترول، سیستم ایمنی و فعالیت های ضد قارچی برروی پستانداران و ماهیان صورت گرفته است (Kensil, 1996) و (Fracis *et al*., 2002) ، پیشینه مطالعاتی با اثر کنجاله بذرچای (حاوی ساپونین) به عنوان یک آفت کش ماهیان هرز در پرورش شاه میگوی دریای خزر دیده نشد. بیشترین مطالعات انجام شده در زمینه اثر ساپونین بر سیستم ایمنی و رشد میگوی غربی (*Penaeus vannamei*) و میگوی ببری ژاپنی (*Penaeus japonicus*) می باشد (Bachere *et al*., 1995) و (Chen *et al*., 1996) و (Su. and Chen, 2008).

گاهی اوقات در جنوب کشور ایران پرورش دهندگان میگو، پودر کنجاله بذری چای را از کشور چین وارد می کنند که این عمل مقرون به صرفه نمی باشد. درحالی که در مناطق شمالی کشور (استان گیلان) این فرآورده به آسانی قابل تولید و مواد اولیه اش در دسترس بوده و می تواند در افزایش تولیدات میگو، شاه میگو و سایر سخت پوستان نقش موثری در توسعه صنعت آبزی پروری کشور ایفا کند. بنابراین بررسی و مطالعه پودر کنجاله بذر چای بومی گیلان به عنوان یک آفت کش طبیعی ماهیان هرز در مزارع پرورش میگوها با توجه به شرایط اقلیمی ایران در توسعه صنعت آبزی پروری لازم و ضروری به نظر می رسد. در پژوهش حاضر سعی شده است پودر کنجاله بذر چای استان گیلان به عنوان آفت کش ماهیان هرز جهت توسعه پرورش شاه میگو دریای خزر بومی ایران مورد مطالعه قرار گیرد.

۲. مواد و روش ها

طرح آزمایش: در این تحقیق شاه میگو های جوان(*Astacus leptodactylus Salines*) از ایستگاه تحقیقاتی شیلات- سفید رود به سالن پرورش دانشکده منتقل و به مدت ۴۸ ساعت بدون غذا دهی در مخزن ۵ متر مکعبی ذخیره شدند. پس از دوره سازش پذیری تعداد ۳۷۸ قطعه شاه میگوی جوان با میانگین وزنی ۰/۶ ± ۴ گرم و تعداد ۱۸۰ قطعه ماهی کاراس (*Carassius carassius*) با میانگین وزنی ۰/۸۷ ± ۴/۶ در پنج تیمار با مقادیر۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰ میلی گرم در لیتر (ppm) و یک تیمار شاهد و سه تکرار برای هریک ازتیمارها در نظرگرفته شد. هر تکرار با ۲۱ قطعه شاه میگو و۱۰ قطعه ماهی در ۱۸ مخزن فایبر گلاس که هرکدام دارای۴۰۰ لیتر آب تازه بود به صورت تصادفی توزیع شدند.

اندازه گیری ها: در طول دوره آزمایش آب موجود در همه مخازن به وسیله کمپرسور هوادهی و فاکتورهای کیفی آب مانند درجه حرارت، اکسیژن محلول، pH در دو نوبت صبح و عصر اندازه گیری می شد؛ در حالی که اندازه گیری سختی کل و نیتریت هر دو هفته یک بار صورت می گرفت. در طول دوره آزمایش میزان میانگین دمای آب بین ۲۶/۳ تا ۲۸/۷ سانتی گراد، pH در حد ۷/۸-۷/۳، اکسیژن محلول ۶/۲-۵/۶ میلی گرم/لیتر سختی کل۱۴۳- ۱۲۸ میلی گرم/لیتر و نیتریت ۰/۰۰۶ - ۰/۰۰۴ میلی گرم/لیتر در نوسان بود. برای تعیین میزان مواد مغذی موجود درکنجاله بذر چای تهیه شده از باغ های استان گیلان، از روش استاندارد A.O.A.C استفاده شد و میزان کمی ساپونین نیز

به روش اسپکتروفتومتری (Oleszek, 2002) در آزمایشگاه تغذیه دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان محاسبه گردید. (جدول ۱)

جدول ۱- درصد تقریبی مواد مغذی و ساپونین بذر چای استان گیلان بر اساس ماده خشک SD ± میانگین سه تکرار

مواد	پرئتئین خام (٪)	چربی خام (٪)	فیبر خام (٪)	خاکستر کل(٪)	مواد عاری از ازت(٪)	رطوبت(٪)	ساپونین(٪)
مقدار	۱۵ ± ۰/۶۷	۱۸ ±۰/۸۳	۹/۲ ± ۰/۷۲	۵/۸ ± ۰/۴۸	۳۶/۵ ± ۲	۸/۲ ± ۰/۴۲	۶/۷ ± ۰/۶۸

شرح آزمایش: پس از روغن گیری از بذر چای، پودر تقریباً سفیدرنگ به دست آمده را کنجاله بذر چای می‌نامند. این کنجاله خود، حاوی حدود شش درصد روغن، مقدار زیادی سورفکتانت ساپونین و پروتئین است. پس از استخراج ساپونین موجود در کنجاله، از پسماند حاصله به عنوان غذای دام و طیور و یا در تولید آفت‌کش‌ها استفاده می-شود(Shanan, 1982). پس از معلوم شدن مقدار ساپونین موجود در مقدار۱۰۰ گرم کنجاله خشک بذر چای، برای تعیین غلظت نیمه کشنده (LC_{50}) از روش استاندارد Organization Economic Cooperation and Development (OECD) (TRC, 1984) به صورت ساکن استفاده شد. به منظور دستیابی به محدوده کشندگی ساپونین موجود در غلظت های۲، ۴، ۶، ۸ و۱۰ میلی گرم/ لیتر (ppm) کنجاله، به عنوان از بین برنده ماهیان هرز، که به صورت تصاعد هندسی محاسبه شده است؛ ابتدا مقادیر پودر خشک کنجاله بذر چای، برای غلظت های مورد نظر با توجه به حجم آب هر مخزن به صورت جداگانه محاسبه و در مقداری آب حل شد؛ سپس محلول های بدست آمده به طور یکنواخت در تکرار های مخازن هر تیمار پخش شد. (جدول ۲)

جدول ۲- میزان غلظت پودر خشک کنجاله بذر چای و ساپونین موجود در آن

غلظت پودر خشک کنجاله بذر چای بر حسب میلی گرم/لیتر	۲	۴	۶	۸	۱۰
غلظت ساپونین میکرو گرم/لیتر	۱۳۴	۲۶۸	۴۰۲	۵۳۶	۶۷۰

تجزیه و تحلیل داده ها: در طول دوره آزمایش پس از افزودن عصاره به هر تیمار، با هریک از غلظت های مورد نظر، علایم رفتاری ماهی ها مشاهده و میزان تلفات کل آنها در پایان زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ ساعت پس از مجاورت ماهی با کنجاله بذر چای بومی گیلان ثبت شد(جدول ۳). در پایان آزمایش داده های بدست آمده با استفاده از روش آماری Probit Analysis مورد تجزیه و تحلیل قرار

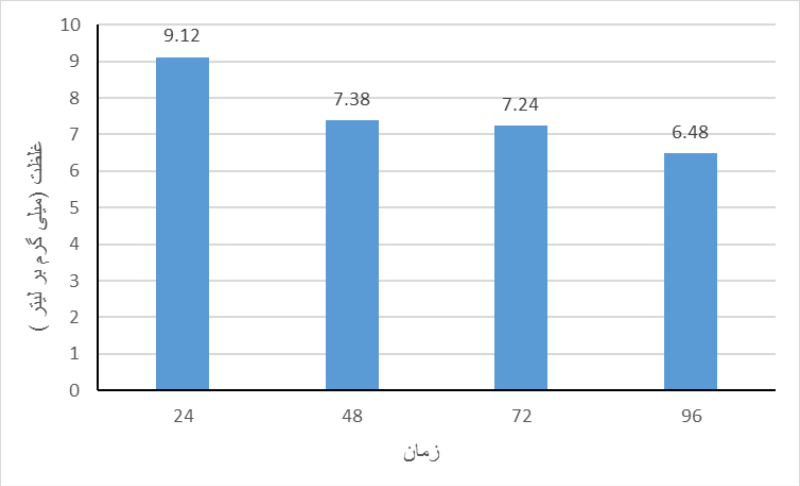
گرفت(Finney, 1971&1978). در این روش آماری با استفاده از معادله خطی ضریب همبستگی، نسبت به محاسبه مقدار X در معادله شیب خط اقدام و با استفاده از محاسبه Antilog X مقادیر غلظت نیمه کشنده (LC_{50}) پودرکنجاله بذرچای در زمان های مختلف برروی ماهی کاراس (*Carassius carassius*) تعیین شد. برای آنالیز لاشه، تمام میگو ابتدا چرخ سپس با دستگاه هموژنایزر همگن شد. از نمونه بدست آمده هر تیمار و تکرار به میزان ۲۰ گرم طبق استاندارد ذکر شده، مواد مغذی اندازه گیری شد.

۳. نتایج

نتایج این تحقیق نشان داد که میزان حداقل و حداکثر غلظت کشندگی برای ماهیان کاراس بین ۲ تا ۱۰ میلی گرم در لیتر بود. در واقع محدوده اثر ساپونین موجود در پودر خشک کنجاله بذر چای در غلظتی که هیچگونه تلفاتی نداشت و در غلظتی که تلفات ۱۰۰ درصدی را برای ماهیان به همراه داشت به عنوان محدوده کشندگی تعیین شد. جدول ۳ تاثیر غلظت های مختلف ساپونین موجود در پودر خشک کنجاله بذر چای را در فاصله های زمانی ۲۴ و ۴۸ و ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از اضافه شدن به محیط تیمارها یا به عبارتی مجاورت با ماهی نشان می دهد. غلظت ppm ۲ ساپونین موجود تا ۹۶ ساعت هیچگونه اثری را نشان نداد و تلفاتی نداشت. غلظت ppm ۴ تا ۴۸ ساعت تلفاتی نداشت ولی تعداد تلفات در ۷۲ و ۹۶ ساعت به ترتیب ۱ و ۳ قطعه ماهی بود. تلفات در غلظت های ۶ و ۸ ۱۰ میلی گرم در لیتر (ppm) از همان ۲۴ ساعت اول ولی با درجات متفاوت بروز نمود. در غلظت ppm ۱۰ تمام ماهی ها در ۲۴ ساعت اول تلف شدند(جدول ۳). غلظت نیمه کشندگی (LC50) در ساعت های مختلف در شکل ۱ نشان داده شده است. در طول اجرای آزمایش تعیین غلظت نیمه کشنده پودرکنجاله بذر چای، بچه ماهیان از لحاظ رفتاری، علائمی از قبیل افزایش ترشح موکوس، تحرک بیشتر نسبت به حالت معمول، تعادل کمتر و پس از مدتی عدم تمایل به مصرف غذا را از خود نشان داند. بیشترین تلفات در تیمار های ۴ و ۵ مشاهده شد. در آزمایش انجام شده میزان اکسیژن محلول در آب قبل و پس از آزمایش با توجه به هوادهی منظم تفاوت قابل ملاحظه ای نداشت. با توجه به تفاوت مقدار کنجاله بذر چای، به عبارتی غلظت ساپونین، در تیمار های مختلف، هر قدر بر میزان غلظت ساپونین افزوده می شد میزان ترشح موکوس در سطح بدن ماهی افزایش نشان می داد که این افزایش با غلظت های ۶ و ۸ و۱۰ آشکارتر بود. ساپونین، با افزایش ترشح موکوس، مانع تبادل گازی بهینه و درنتیجه مرگ ماهی می شود. میزان کنجاله بذر چای مصرفی و زمان مجاورت بچه ماهیان با آن با میزان ترشح موکوس و تلفات رابطه مستقیم نشان داد.

جدول۳- تاثیرمیزان غلظت پودر خشک کنجاله بذر چای و ساپونین موجود در آن بر میزان بازماندگی ماهی کاراس (*Carassiusa crassius*)

تیمار	غلظت پودر خشک حاوی ساپونین میلی گرم/لیتر	۲۴ ساعت		۴۸ ساعت		۷۲ ساعت		۹۶ ساعت		درصد تلفات نسبت به شاهد				لگاریتم غلظت ساپونین
		تعداد ماهی مرده	تعداد ماهی زنده	تعداد ماهی مرده	تعداد ماهی زنده	تعداد ماهی مرده	تعداد ماهی زنده	تعداد ماهی مرده	تعداد ماهی زنده	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت	
شاهد	۰	۰	۳۰	۰	۳۰	۰	۳۰	۰	۳۰	۰	۰	۰	۰	۰
۱	۲	۰	۳۰	۰	۳۰	۰	۳۰	۰	۳۰	۰	۰	۰	۰	۰/۳۰۱۰۳
۲	۴	۰	۳۰	۰	۳۰	۱	۲۹	۳	۲۷	۰	۰	-۳/۳	-۱۰	۰/۶۰۲۰۶
۳	۶	۱	۲۹	۳	۲۷	۴	۲۶	۵	۲۵	-۳/۳	-۱۰	-۱۳/۳۳	-۱۶/۶۶	۰/۷۷۸۱۵
۴	۸	۱۸	۱۲	۲۰	۱۰	۲۲	۸	۲۶	۴	-۶۰	-۶۶/۶۶	-۷۳/۳۳	-۸۶/۶۶	۰/۹۰۳۳۰۹
۵	۱۰	۳۰	۰	۳۰	۰	۳۰	۰	۳۰	۰	-۱۰۰	-۱۰۰	-۱۰۰	-۱۰۰	۱



شکل ۱- غلظت نیمه کشندگی (LC50) پودر خشک کنجاله بذر چای در ساعت های مختلف

جدول۴- ترکیبات تقریبی عضله شاه میگوی دریای خزر(بر اساس وزن تر) پس از استفاده از کنجاله بذر چای استان گیلان
میانگین ۳ تکرار می باشدSD

ترکیبات عضله (٪)	قبل از انجام آزمایش	مقادیر تقریبی مواد عضله شاه میگوی دریای خزر(پس از انجام آزمایش)				
		۲	۴	۶	۸	۱۰
پروتئین خام	۱۵/۸±۰/۸۱	۱۵/۷±۰/۴۲ ^{a}	۱۵/۸±۱۴/۹^{a}	۱۵/۹±۰/۷۱^{a}	۱۶/۳ ± ۰/۶۴^{a}	۱۶/۱ ± ۰/۷۳^{a}
چربی خام	۵/۷± ۰/۴۴	۶/۱±۰/۲۸^{a}	۵/۸ ± ۰/۷۸ ^{a}	۵/۴ ± ۲۹۰^{a}	۶/۳ ± ۰/۴۶^{a}	۶/۲ ± ۰/۵۳^{a}
مواد معدنی	۵/۹ ±۰/۶۲	۶/۹±۰/۴۴^{a}	۷/۳ ± ۰/۴۲^{a}	۷/۳۵±۰/۷۱^{a}	۷/۶ ± ۰/^{a}	۷/۸ ± ۰/۴۷^{a}
فیبر خام	۵/۲ ±۰/۴۴	۴/۳ ± ۰/۷۱^{a}	۴/۴ ± ۰/۶۲^{a}	۴/۵ ± ۲۷۰^{a}	۵/۱ ± ۰/۵۲^{a}	۴/۸ ± ۰/۷۶^{a}
رطوبت	۶۱/۹ ±۱/۵	۶۱/۷ ±۲ ^{a}	۶۰/۸ ±۱/۵^{a}	۶۰/۲ ± ۱^{a}	۵۹/۸ ±۳ ^{a}	۵۹/۶ ±۲^{a}
ساپونین	۰/۰۰	۰/۰۰^{a}	۰/۰۰^{a}	۰/۰۰^{a}	۰/۰۰^{a}	۰/۰۰^{a}

اعداد با حروف یکسان در یک ستون اختلاف معنی داری را نشان نمی دهند($P>0/05$)

ترکیبات مواد مغذی لاشه شاه میگوی دریای خزر پس از استفاده از مقادیر متفاوت پودر کنجاله بذر چای اختلاف معنی داری را نشان ندادند ($P>0/05$) ؛ هم چنین در ترکیب شیمیایی بدن شاه میگو هیچ گونه ساپونینی مشاهده نشد(جدول۴).

۴. بحث و نتیجه گیری

ماهیت طبیعی و تاثیر استفاده از اجزای بعضی گیاهان به عنوان یک آفت کش بیولوژیک سبب شده است تا گرایش به استفاده از آنها از جمله در مزارع پرورش آبزیان مورد توجه قرار گیرد. به علت سازگاری این مواد بیولوژیک با طبیعت و عدم ایجاد آلودگی های زیست محیطی و در نهایت عدم تاثیر سوء بر آبزی مورد پرورش، استفاده از این مواد به عنوان عوامل بیولوژیک برای کنترل و مبارزه با عوامل مزاحم و رقبای غذایی نمونه های مد نظر پرورشی رو به گسترش بوده و با توجه به مشکلات و خطرهای استفاده از مواد شیمیایی لزوم بررسی جایگزین های طبیعی بیش از پیش احساس می شود.

در تحقیق انجام شده توسط Nath و Sen در سال ۱۹۸۷ بر روی بذر چای مطابق با گونه بومی گیلان میزان ساپونین موجود در آن را به مقدار ۷ تا ۸ درصد گزارش نموده اند که تقریبا با آنالیز ما همخوانی دارد.

با بکارگیری پودر کنجاله بذر چای به عنوان یک آفت کش بیولوژیک و طبیعی در مبارزه با ماهی کاراس(*Carassius Carassius*) تعیین عیار آن به عنوان آفت کش در مزارع پرورش شاه میگوی دریای خزر ضروری به نظر می رسد.

طرح آزمایش و تغذیه بر اساس مطالعاتی که قبلاً محققان برروی تعدیه شاه میگوی آب شیرین انجام داده اند، صورت گرفت (Noverian., 2005) و (Zamani Kyasajmahaleh *et al.*, 2007).

درگزارش سال ۲۰۱۵ Ullah و Zorriehzahra آمده است که آفت کش های حاصل از گیاهان اثر منفی بر روی ماهیان داشته و موجب عدم استفاده خوراکی آنها برای انسان می شود؛ اما هم چنان توصیه شده است از ترکیبات گیاهی برای تهیه آفت کش ها استفاده شود، زیرا بعد از مدتی این نوع آفت

کش ها در محیط تجزیه شده و بر روی محیط زیست اثر منفی نخواهند داشت. یافته های مطالعه اخیر با گزارش فوق الذکر مطابقت دارد به عبارت دیگر کنجاله بذر چای پس از مدتی در محیط پرورشی هیدرولیز شده و محتوای غنی آن مورد استفاده شاه میگو قرار می گیرد.

با استفاده پودر کنجاله بذر چای در این آزمایش به میزان ۸ و۱۰ میلی گرم در لیتر ، ماهیان هرز از بین رفتند در نتیجه توان تولید شاه میگو بهبود یافت به عبارت دیگر با ازبین رفتن رقبا درصد بقای شاه میگوی دریای خزر افزایش یافته است و این بیان گر افزایش توان تولید می باشد. نتایج تقریباً مشابهی در مورد کشندگی ماهیان هرز با استفاده از پودر کنجاله بذر چای و تسریع در توان تولید (رشد و بقاء) میگوها توسط سایر محققان گزارش شده است (Minsalan and Chiu, 1986) و (Nagesh *et al*., 1999).

ساپونین پودرکنجاله بذرچای هیچ گونه آلودگی و سمیت جانبی ای ندارد و نهایتاً پس از مدت کوتاهی پودرکنجاله بذر چای در استخر هیدرولیز شده و محتوای غنی از پروتئین، چربی، فیبر و مواد معدنی و مفید آن بطور کامل توسط میگو جذب می شود (Rah *et al*., 1992 و Yazicioglu *et al*., 1997).

آنالیز ترکیبات شیمیایی بدن (لاشه) شاه میگوی دریای خزر در محیط حاوی کنجاله بذر چای، اگر چه اختلاف معنی داری را در این آزمایش نسبت به یکدیگر نشان ندادند ولی به نظر می رسد با اعمال مقادیر بالاتر کنجاله امکان مواد مغذی مانند پروتئین و مواد معدنی وجود دارد. نتایج مشابهی در مورد میگو ها گزارش شده است (Baticados *et al*., 1987) و (Bell and Lightner, 1986) و(Rao, 1987).

Nagesh و همکاران (۱۹۹۹) که روی بقاء و تغییرات بافت شناسی میگوی ببری جوان نسبت به وجود و اثرات ساپونین مطالعه کردند دریافتند که هیچ گونه تاثیر سوء بر روی نسوج وجود نداشته است و مقدار ساپونین در بدن صفر می باشدکه قابل قیاس با نتایج این آزمایش مبنی بر عدم وجود ساپونین بر روی ترکیبات لاشه شاه میگوی آب شیرین است. بذر، ریشه و دانه در بسیاری از گیاهان دارای مقادیری از ساپونین می باشد (Misra *et al*., 1986) که در صورت مطالعه با توجه به فراوانی و وجود آنها در مناطق مختلف کشورمان، بعنوان یک آفت کش طبیعی ماهیان هرز و سایر آبزیان مضر در پرورش میگو می تواند مورد استفاده قرار گیرد. بذر چای که حاوی ۱۷تا ۲۲ درصد ساپونین می باشد، جهت از بین بردن حلزون، انگل های مزارع برنج و آفت های موجود در علف زارها نیز استفاده می شود (Rah *et al*., 1992).

Holmblad و همکاران در سال ۱۹۹۷ میلادی اثبات نمودند که ساپونین نه تنها بر دستگاه گردش خون شاه میگوی بومی اروپای شرقی (*Pacifastacus leniusculus*) اثر سوئی ندارد بلکه باعث افزایش ایمنی و متعاقب آن بقاء و رشد موجود می گردد که با نتایج عملکرد این آزمایش در خصوص بقاء و رشد (کارآئی تولید) شاه میگوی دریای خزر قابل قیاس می باشد.

Terazaki و همکارانش در سال ۱۹۸۰ با استفاده از بذر کنجاله چای بومی تایلند در مقدار ۱۲ میلی گرم / لیتر (ppm) در مزارع پرورش میگوی دریائی تمام دشمنان طبیعی (ماهیان هرز) را از بین بردند که این امر سبب افزایش راندمان تولید در استخر پرورش میگو شد که این مطالعه نیز با نتایج این آزمایش که در آن از کنجاله بذر چای بومی گیلان

به عنوان از بین برنده دشمنان طبیعی در پرورش شاه میگوی دریای خزر در مقادیر ۸ و ۱۰ میلی گرم در لیتر مورد استفاده قرار گرفت مطابقت دارد.

اگر چه ترکیبات مغذی لاشه شاه میگوی دریای خزر در مقادیر مختلف بذر چای بومی گیلان به لحاظ آماری اختلاف معنی داری را نشان ندادند، اما میزان پروتئین خام، چربی خام و مواد معدنی لاشه افزایش محسوسی را نشان داد؛ دو نفر از محققین Chen and Chen, در سال ۱۹۹۶ با استفاده از ساپونین در پرورش میگوی ببری ژاپنی به نتایج تقریبا مشابهی در زمینه افزایش نسبی میزان پروتئین لاشه رسیدند.

Chen و همکاران (۱۹۹۶) همچنین اثر ساپونین بر رشد، بقاء، پوست اندازی و کارآیی تولید میگوی ببری ژاپنی جوان را مورد بررسی قرار دادند و اثبات نمودند که استفاده از ساپونین بر عوامل رشد و تغذیه ای اثر مثبتی می گذارد که با نتایج این آزمایش و اثرات مفید کنجاله بذر چای بومی گیلان بر رشد، بقاء و کارآیی تولید شاه میگوی دریای خزر منطبق است.

نتیجه گیری

نتایج به دست آمده با ادامه نگهداری شاه میگوی جوان دریای خزر حاکی از آن بود که با اعمال پودر کنجاله بذر چای در یک میزان کشنده موثر (۸ میلی گرم/لیتر) بر روی ماهیان هرز، با توجه به عدم وجود رقیب غذایی می توان ادعا نمود که توان تولید شاه میگوی دریای خزر به طور قابل ملاحظه ای بالا می رود که در این آزمایش به اثبات رسید.

در زمینه اثر پودرکنجاله بذر چای بومی استان گیلان به عنوان از بین برنده طبیعی ماهیان هرز در مزارع پرورش شاه میگوی دریای خزر، میگوهای دریایی و غیره وجود ندارد. بنابراین مطالعات حاضر پایه و اساس استفاده از پودر کنجاله بذر چای بومی گیلان به عنوان یک آفت کش طبیعی ماهیان هرز و بدون ضرر بر روی شاه میگوی دریای خزر را فراهم آورده، در مورد آبزی پروری سایر انواع میگو (میگوهای دریایی، شاه میگوی آب شور و...) استفاده از پودر کنجاله بذر چای بومی گیلان و تعیین میزان کشندگی آن بر ماهیان هرز مستلزم مطالعات و تحقیقات بیشتری می باشد.

منابع

A.O.A.C (Association of Official Analytical Chemists). 1990. 15th edition. Washington D.C.USA. 1230p.

Augustin JM, Kuzina V, Andersen SB, Bak S. 2011. Molecular activities, biosynthesis and evolution of triterpenoid saponins, Phytochemistry. 72. Pp 435-457.

Bachere E, Miahle E, Rodriguez J. 1995. Identification of defence effectors in the haemmolymph of crustaceans with particular reference to the shrimp *Penaeus japonicus* (Bate): prospects and application. Fish shellfish Immunol. 5. Pp 597-612.

Baticados MCL, Colo so RM & Duremdez RC. 1987. Histopathology of the chronic soft-shell syndrome in the tiger prawn *Penaeus monodon*. Diseases of Aquatic Organisms. 3. Pp 13-28.

Bell T.A & Lightner DV. 1986. A Hand Book of Normal Penaeid Shrimp Histology. 114 pp. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA.

Cannon JG, Burton RA, Wood SG, Owen NL. 2004. Naturally occurring fish poisons from plants. J Chem Educ. 81. Pp 1457

Chen JC, Chen KW. 1996. Hemolymph oxyhemocyanin, protein levels, acid-base balance, and ammonia and urea excretion of *Penaeus japonicas* exposed to saponin at different salinity levels. Aquatic Toxicology.36. Pp 115-128.

juvenile tiger shrimp exposed to saponin. Pp 159-167.
20.Nath De DK, Sen PRD. 1987. Preliminary studies on tea seedcake as a fish toxicant. Indian Journal of Animal Science. 57. Pp 781–783.
Noverian HA. 2005. A study on different protein levels on growth indices (WG, RGR, FCR, FCE and PER) of *Astacus leptodactylus* (miniature size). Iranian journal of fisheries science. Vol 4. No 2.
Oleszek WA. 2002. Chromatographic determination of plant saponins, Journal of Chromatography A, 967. Pp 147–162.
Rao VP. 1987. "Soft" prawn syndrome and its control. 15 R and D Series for marine fishery resources and management. 6pp. Central Marine Fisheries Research Institute, Ernakulum, Cochin, India.
Rah HH, Baik SO & Han S.B. 1992. Chemical Composition of the Seed of the Korean Green Tea Plant (*Camellia sinensis L.*), J. Kor. Agric. Chem. Soc. 35. Pp 272–275.
Sahari MA, Ataii D & Hamedi M. 2004. Characteristics of Tea Seed Oil in Comparison with Sunflower and Olive Oils and Its Effect as a Natural Antioxidant, JAOCS, Vol. 81, No. 6.
Shanan H, Ying G. 1982. The comprehensive utilization of camellia fruits, Am. Camellia Yearbk, 37. Pp 104–107.
27. Sinha MK, Munshi JD. 2010.Eco-toxicology of biocidal plants: Mittal Publications.
Su BK, Chen JC. 2008. Effect of saponin immersion on enhancement of the immune response of white shrimp *Lito penaeus vannamei* and its resistance against Vibrio alginolytic us. Elsevier, Fish at shellfish Immunology.24. Pp 74-81.
Terazaki M, Tharnbuppa P & Nakayama Y. 1980. Eradication of predatory fishes in shrimp ponds by utilization of Thai tea seed. Aquaculture; 19. Pp 235–242.
The ministry of Jehad Agriculture. The vice ministry of Designing and Planning, Information and Statistic General office 1995.
Chen JC, Chen KW, Chen JM. 1996. Effects of saponin on survival, growth, molting and feeding of *Penaeus japonicus* juveniles. Aquaculture 144. Pp 165-175.
Finney DJ. 1971. Probit Analysis. Cambridge University Press.
Finney DJ. 1978. Statistical method in biological assay. Charles Griffin & Co.
Fracis G, Kreem Z, Makkar HPS, Becker K. 2002. The biological action of saponin in animal's systems; a review. British Journal of Nutrition; 88. Pp 587-605.
Holmblad T, Thornqvist PO, Soderhall K, Johansson MW. 1997. Identification and cloning of an integrin β subunit from hemocytes of the freshwater crayfish *Pacifastacus leniusculus* The Journal of Experimental Zoology; 277. Pp 255-61.
Hostettman K, & Marston A. 1995. Saponins (Chemistry and pharmacology of natural products), University Press, Cambridge.
Kensil, CR., 1996. Saponins as vaccine adjuvant. Critical reviews in therapeutic durg carrier systems; 13. Pp 1-55.
Khalil, A.H., T.A. El-Adawy, 1994. Isolation, identification and toxicity of saponin from different legumes, Food Chemistry, 50. Pp 197–201.
Minsalan CLO & Chiu YN. 1986. Effects of tea seed cake on selective elimination of finfish in shrimp ponds. In: Proceedings of the First Asian Fisheries Forum, J.I. Maclean, C.B. Dizon and L.Y. Hossilos (eds), Pp 79–82.
Misra S, Choudhary S & Hand Banenjee S. 1986. Evaluation of toxicity of mohua oil-cake and tarmarindseedhusk as fish toxicants. Environment and ecology, Pp 388-390.
Mosleh YY, Afifi M. 2014. Molecular, histological and biochemical effects of tea seed cake on hepatic and renal functions of *Oreochromis niloticus*, international conference on biological, chemical and environmental sciences. Pp 21-22.
Nagesh TS, Jayabalan N, Mohan C.V, Annappaswamy T.S & Anil T.M. 1999. Survival and histological alteration in

Picture Identification Card Tea. Pajouhesh & sazandegi journal. No 2.
31. TRC. 1984. Organization Economic Cooperation and Development (OECD) guideline for testing of chimicals. Section 2. Effects on biotic systems. Pp 1-39.
32. Ullah S, Zorriehzahra MJ. 2015. Ecotoxicology: A Review of Pesticides Induced Toxicity in Fish. Advances in Animal and Veterinary Sciences. Vol 3. No 1. Pp 40-57.
33. Yazicioglu T, Karaali A & Goekcen J. 1997. Turkish Tea Oil and Tea Saponin, Fett Seifen Anstrichm. 79. Pp 115–120.
34. ZamaniKyasajmahaleh. HA, Hadavi M, Khoshkholgh MR.2007. Effects of different zeolite levels on growth indexes of juvenile freshwater crayfish (*Astacus leptodactylus*). Iranian journal of fisheries science. Vol 16. No 3. Pp 81-90.

Use of tea-seed cake for control of Carass fish (*Carassius carassius*) in a cray fish (*Astacus leptodactylus salines*) culture system.

Noveirian. H. A*, Zamani. H. A

Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Somehesara.

Abstract

Unwanted fishes in Caspian Sea cray fish pond culture considered as food competitor in which decreased pond yield considerably. Hence an experiment was conducted in order to evaluate the optimum doses native tea-seed cake as natural pesticide for unwanted fishes. In this experiment, five treatments with concenteration of 2,4,6,8 and 10 ppm and with one control in triplicate group for each was considered. Three-hundred and seventy-eight young cray fish with an average weight of 4gr were randomly distributed between 18 fiberglass tanks of 400L capacity. Furthermore, one- hundred and eighty Carass fish (as competitors) with average weight of 4.6 gr were randomly distributed between all tanks. The dried tea-seed cake, first to be measured corresponding with volume of each tank and then were distributed to the required doses between all tanks. After fishes being adjacent to tea-seed cake, fish behavior and mortality were recorded at the end of different periods. Generally, considering price of tea-seed cake and its lethal dose, treatment four(8ppm) was shown reliable performance for eradicating unwanted fishes in Caspian Sea cray fish culture tank.

Keywords*:* Pesticide, tea-seed cake, Saponin, Unwanted fish, Caspian cray fish culture.

*Correspending author, E-mail: navi@guilan.ac.ir