

بررسی و مقایسه وضعیت آلودگی تخم مقاوم (سیست) آرتمیا ارومیا نا به عوامل قارچی در دو گروه انباری و تازه صید شده

* عبدالغفار اونق^۱، قاسم یوسف بیگی^۲ و علیرضا خسروی^۳

^۱مربی گروه پاتوبیولوژی دانشگاه ارومیه، ^۲استادیار گروه پاتوبیولوژی دانشگاه ارومیه، ^۳استاد گروه میکروبی شناسی دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۸۵/۳/۲۷؛ تاریخ پذیرش: ۸۶/۱۱/۱۳

چکیده

آلودگی های قارچی سیست آرتمیا می تواند یکی از دلایل مهم پائین بودن درصد تخم گشایی سیست آرتمیا و در نتیجه از مشکلات عمده در زمینه عمل آوری سیست و پرورش آرتمیا باشد. در این مطالعه آلودگی های قارچی سیست آرتمیا اورمیا نا مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور در طول یک ماه از نیمه تیر لغایت نیمه مرداد ۱۳۸۳ در پنج نوبت نمونه گیری انجام گرفت. در هر نوبت از یک ایستگاه صید سیست (جزیره اسلامی، جزیره آرزو، جزیره اسپیر، جزیره اشک، جزیره تپه شاهی) در دریاچه ارومیه تعداد ۱۰ نمونه و هر نمونه حداقل ۲۰ گرم برداشت گردید و همزمان تعداد ۱۰ نمونه ۲۰ گرمی از سیست های انباری مربوط به همان صیدگاه ها در محل مرکز بهره برداری برداشت گردید. نمونه های سیست اخذ شده به آزمایشگاه قارچ شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه منتقل و در محیط سابورو دکستروز آگار کشت داده شد. از روز دوم تا ده روز قارچ های رشد یافته در سطح آگار بررسی گردید و پرگنه های مجزا برای تشخیص دقیق کشت مجدد شدند. نتایج به دست آمده نشان داد که عمده قارچ های جدا شده عبارت بودند از: گونه های مختلف پنی سیلیوم، اسکوپولاریوپسیس، آلترناریا، ورتیسلیوم، گونه های فوزاریوم، اسپرژیلوس فلاووس، اسپرژیلوس فومیگاتوس، اسپرژیلوس نایجر، هلمیتوسپوریوم و اپی کوکوم. آزمایش کمی شمارش کپک در هر گرم سیست برای ۱۰۰ نمونه انجام شد و نتایج به دست آمده نشان داد که میانگین تعداد کپک در هر گرم سیست انباری برابر $9422 \pm 6554/47$ بوده و میانگین تعداد آن در سیست های تازه صید شده برابر $447 \pm 313/27$ کپک می باشد. بررسی آماری براساس آنالیز واریانس دو گروه سیست انباری و سیست تازه صید شده از نظر تعداد قارچ در هر گرم سیست و درصد آلودگی به قارچ های مختلف نشان داد که اختلاف معنی دار آماری وجود دارد ($P < 0.05$).

واژه های کلیدی: سیست آرتمیا، آلودگی قارچی، اسپرژیلوس ها، رایزوپوس، موکور.

مقدمه

با افزایش روزافزون جمعیت جهان نیاز به منابع غذایی جدیدتر کاملاً احساس می‌شود. توسعه و گسترش آبرزی‌پروری می‌تواند کمک موثری در رفع این کمبود باشد. آرتمیا به‌خاطر دارا بودن مقادیر بالای پروتئین و تمام اسیدهای آمینه ضروری برای آبزیان به‌عنوان بهترین ماده غذایی در صنعت آبرزی‌پروری محسوب می‌شود. کاربرد متنوع و گسترده آرتمیا در صنایع مختلف از جمله پرورش آبزیان، دام، طیور و صنایع غذایی انسانی سبب گردیده تا این محصول تجاری به یک کالای استراتژیک تبدیل شود، به گونه‌ای که رقابتی شدید و تنگاتنگ در بین کشورهای مختلف، جهت سرمایه‌گذاری کلان در زمینه‌های تجاری و تولیدی آرتمیا بوجود آمده است. حتی کشورهایمانند ویتنام و تایلند که فاقد منابع طبیعی آرتمیا هستند با پرورش مصنوعی آن، سعی در کسب سهمی از بازار چندین میلیون دلاری آرتمیا دارند (لاونس و سورگوس، ۱۹۹۶).

در این میان، ایران به علت بهره‌مندی از دریاچه‌ی ارومیه با وسعتی حدود ۵۰۰۰ کیلومترمربع به‌عنوان بزرگترین زیستگاه طبیعی گونه آرتمیا ارومیا یکی از هفت گونه معروف آرتمیای دوجنسی جهان و توانایی بهره‌برداری از سایر مناطق دارای آرتمیا در کشور، می‌تواند در میدان رقابت تولید و عرضه این کالا جایگاهی شایسته و در خور توجه داشته باشد. کاربردهای فراوان این میگوی آب شور از جمله استفاده از آن به‌عنوان خوراک پروتئینی مغذی برای انسان، دام و طیور و همچنین تولید نمک خالص از آب دریاها و دریاچه‌ها و مهمتر از همه، کاربرد آرتمیا در پرورش آبزیان (انواع ماهی‌ها و میگوها)، آن را به‌عنوان موجودی قابل توجه و بسیار با ارزش در می‌آورد. اگرچه آرتمیا موجودی است که در آب‌های بسیار شور زندگی می‌کند و تحمل شوری بالایی دارد (نوری، ۱۹۹۶) ولی میکروارگانیسم‌هایی هم یافت می‌شوند که با آلوده کردن بیوماس و سیستم آرتمیا موجب پائین آمدن کیفیت آنها می‌شوند کما اینکه تحقیقات

فراوانی در زمینه باکتری‌های فلور طبیعی و باکتری‌هایی که بیماریزای آبزیان و به‌دنبال آن مصرف‌کننده نهایی یعنی انسان است در بررسی توده زنده آرتمیا و نیز سیستم آرتمیا صورت گرفته است (ورشویر و همکاران، ۱۹۹۹؛ استراب و دیکسون، ۱۹۹۵)

آلودگی‌های قارچی سیستم آرتمیا می‌تواند یکی از دلایل مهم پائین‌بودن درصد تخم‌گشایی سیستم آرتمیا و در نتیجه از مشکلات عمده در زمینه عمل‌آوری سیستم و پرورش آرتمیا باشد (لاونس و سورگوس، ۱۹۹۶). اونق و همکاران (۲۰۰۲) تاثیر مواد ضد قارچی فرمالین کریستال و یوله و مالاشیت گرین بر میزان تخم‌گشایی سیستم آرتمیا ارومیا را بررسی کردند که نتایج حاصل از آن نشان داد سیستم‌هایی که با فرمالین بصورت غوطه‌وری تیمار شده بودند بطور معنی‌داری با گروه شاهد که بطور استاندارد با هیپوکلریت سدیم تیمار شده بودند در میزان تخم‌گشایی اختلاف دارند (اونق و همکاران، ۲۰۰۲). این نتیجه‌گیری باعث شد تا نویسندگان در صدد تعیین نوع آلودگی قارچی برآیند و تاثیر قارچ‌ها را در کیفیت سیستم و نیز در بهداشت آبزیان مد نظر قرار دهند. در ارتباط با آلودگی قارچی سیستم آرتمیا در بررسی مجلات معتبر و مرتبط با این موجود ارزشمند حتی مقاله‌ای پیدا نشد.

مواد و روش‌ها

مواد، محیط‌ها و محلول‌ها: شامل: ۱- محلول لاکتوفنل + کاتن بلو ۲- سرم فیزیولوژی و آب مقطر استریل ۳- پپتون قارچ‌شناسی - چسب انتلان - محیط سابورودکستروز آگار (S.D.A)^۱

روش کار برای آزمایش کیفی و تشخیص انواع قارچ‌های موجود در تخم مقاوم آرتمیا.

۱- نمونه‌برداری ۲- کشت نمونه روی محیط‌های کشت قارچی ۳- تشخیص مقدماتی قارچ‌ها

۴- کشت مجدد ۵- مشاهده مستقیم ۶- کشت روی لام یا اسلایدکالچر

نمونه برداری: نمونه برداری از ایستگاه‌های مختلف صید سیست آرتیمیا به‌طور استریل و یا از انبار سیست‌ها واقع در مرکز بهره‌برداری آرتیمیا و در پنج نوبت و به مقدار ۲۰ گرم از هر کدام صورت گرفت و به‌سرعت به یخچال انتقال داده شدند. در هر نوبت ۲۰ نمونه سیست به‌شرح زیر نمونه برداری شد:

نوبت اول: ۱۰ نمونه سیست انباری مربوط به جزیره اسلامی (۱۰-۱) و ۱۰ نمونه از سیست تازه صیدشده از این جزیره (۲۰-۱۱) و به‌همین ترتیب برای هر نوبت تعداد ۲۰ نمونه ۲۰ گرمی بمانند نوبت اول برای محل‌های مختلف نمونه برداری صورت گرفت.

کشت نمونه روی محیط‌های کشت قارچی: جهت کشت نمونه‌های اخذ شده مقداری از نمونه سیست (در حدود ۲ گرم) در ظرف پتری استریل با مقداری آب مقطر استریل و یا سرم فیزیولوژی استریل (در حدود ۱۰ میلی‌لیتر) به‌شکل سوسپانسیون تهیه گردید. از سوسپانسیون بدست آمده مقداری (۲-۱ میلی‌لیتر) به‌داخل لوله آزمایش حاوی ۱۰ میلی‌لیتر پپتون قارچ‌شناسی و یا آبگوشت منتقل کرده و حدود ۲ ساعت در درجه حرارت آزمایشگاه در این محیط باقی مانده سپس از محتویات محیط پپتون با آنس استریل بر روی محیط سابورودکستروز آگار (S.D.A) کشت داده شد و برای هر نمونه سه تکرار در نظر گرفته شد. همه پلیت‌های کشت شده را در داخل انکوباتور ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده تا حداکثر به‌مدت ده روز در این دما باقی ماند تا کپک‌ها رشد کنند (گتنز و همکاران، ۱۹۹۸؛ آکامو و ادوارد، ۱۹۹۴). تشخیص مقدماتی قارچ‌ها، کشت مجدد قارچ‌های جداشده، مشاهده مستقیم برای تشخیص نوع قارچ‌ها و نهایتاً کشت روی لام یا اسلایدکالچر برای مشاهده جزئیات ساختمانی قارچ‌های کپکی انجام شد (الدوری، ۱۹۸۰؛ اوانس و ریچاردسون، ۱۹۸۹؛ شادزی، ۱۹۹۲؛

سالمی، ۱۹۹۹؛ امامی و همکاران، ۱۹۹۲؛ زینی و همکاران، ۱۹۹۹).

آماده‌سازی نمونه‌ها جهت کشت و شمارش کپکی: در این تحقیق آزمایشی که بر روی ۱۰۰ نمونه تخم مقاوم (سیست) آرتیمیا ارومیانا صورت گرفت، ابتدا سیست موردنظر را به مدت ۲ ساعت در حرارت اتاق قرار داده شد و با سرم فیزیولوژی استریل رقت ۱/۱۰ تهیه گردید و سپس با تهیه رقت‌های سریال تا ۱/۱۰۰۰۰۰ تهیه شد (کویزی و همکاران، ۱۹۹۵). برای هر رقت چهار عدد پتری‌دیش که حاوی محیط سابورودکستروز آگار می‌باشد، استفاده گردید و از هر رقت ۱ میلی‌لیتر توسط پپیت استریل به ظرف پتری مورد نظر افزوده شد. پس از طی دوره انکوباسیون ۳ تا ۵ روزه با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، پرگنه‌های ظاهر شده در سطح محیط توسط کلنی کانتر شمارش شدند. جهت گزارش تعداد قارچ در هر گرم ماده غذایی، میانگین تعداد پرگنه‌های شمارش شده در چهار پلیت در عکس رقت بکار رفته ضرب شدند (مرتضوی، ۱۹۹۲؛ نصرافهانی، ۱۹۹۳).

نتایج

پس از انجام آزمایش کیفی نمونه‌ها، قارچ‌های مختلفی جدا گردید که مهمترین آنها عبارتند از: آسپرژیلوس فلاووس، آسپرژیلوس نایجر، آسپرژیلوس فومیگاتوس، رایزوپوس، موکور، تمامی ۵۰ نمونه سیست انباری مورد آزمایش به قارچ آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس نایجر آلوده بودند و آسپرژیلوس فومیگاتوس در ۴۹ نمونه مشاهده گردید. در نمونه‌های تازه صید شده آلودگی به آسپرژیلوس فلاووس ۲۷ مورد و آسپرژیلوس نایجر ۱۹ مورد بود. نتایج این بررسی بطور کامل در جدول ۱ آمده است.

در بررسی کمی آلودگی قارچی نمونه‌های سیست انباری و تازه صید شده، تعداد قارچ‌های جداشده در هر گرم سیست برای مکان‌های مختلف نمونه‌گیری مشخص گردید از آنجایی که برای هر محل نمونه‌گیری

تعداد ۱۰ نمونه اخذ شده بود میانگین تعداد قارچ در ۱۰ نمونه در هر گرم سیست معین گردید و انحراف معیار برای هر محل نمونه‌گیری مشخص شد. با بررسی آماری به روش ANOVA در نرم افزار Mini-Tab مشخص گردید که بین تعداد قارچ در هر گرم سیست در گروه

سیست انباری در محل‌های مختلف اختلاف معنی‌دار وجود ندارد ولی با مقایسه گروه تازه صید شده با گروه انباری اختلاف معنی‌دار آماری وجود دارد ($P < 0.05$). نتایج شمارش تعداد قارچ در هر گرم سیست انباری و تازه صید شده در جدول ۲ قید شده است.

جدول ۱ - نوع قارچ و تعداد نمونه‌های آلوده به قارچ در ۵۰ نمونه سیست انباری و ۵۰ نمونه سیست تازه صید شده آرتیمیا طی نمونه‌برداری از ۱۵ تیر لغایت ۱۵ مرداد ۱۳۸۳ از محل‌های مختلف دریاچه ارومیه.

قارچ جدا شده	تعداد نمونه‌های انباری آلوده به	تعداد نمونه‌های تازه صید شده آلوده به	جمع کل
آسپرژیلوس فلاووس	۵۰	۲۷	۷۷
آسپرژیلوس نایجر	۵۰	۱۹	۶۹
آسپرژیلوس فومیگاتوس	۴۹	۲	۵۱
رایزوپوس	۲۶	۱	۲۷
موکور	۱۵	۰	۱۵
پنیسیلیوم	۱۱	۳	۱۴
آبسیدیا	۱۰	۱	۱۱
فوزاریوم	۶	۴	۱۰
اسکاپولاریوپسیس	۷	۲	۹
آلترناریا	۷	۲	۹
اپیکوکوم	۵	۱	۶
ورتیسلیوم	۵	۰	۵
اکرومونیوم	۱	۰	۱
فاقد آلودگی	۰	۰	۰

جدول ۲ - میانگین تعداد پرگنه کپکی در هر گرم سیست به تفکیک محل نمونه‌گیری و نوع سیست اخذ شده.

محل نمونه‌گیری	میانگین تعداد کپک در هر گرم در ۱۰ نمونه سیست انباری	میانگین تعداد کپک در هر گرم در ۱۰ نمونه سیست تازه صید شده
جزیره اسلامی	۷۹۲۰±۶۲۸۶/۲۸	۶۹۵±۵۶۱/۰۵۱
جزیره آرزو	۱۴۸۵۰±۹۲۴۰/۰۶	۳۸۴±۲۳۷/۰۳
جزیره اسپیر	۹۵۶۵±۱۶۱۳۶	۲۸۱±۲۳۱/۱۵
اشنک	۹۷۵۰±۹۲۷۷/۲۱	۲۹۹±۲۴۰/۸۰
تپه شاهی	۴۹۲۶±۲۸۳۳/۵۴	۵۷۸±۳۰۶/۳۳
میانگین کل	۹۴۲۲±۶۵۵۴/۴۷	۴۴۷±۳۱۳/۲۷

بحث و نتیجه‌گیری

از حدود چند دهه پیش روی کاربرد آرتیمیا در تغذیه آبزیان بررسی جدی آغاز شده است. تحقیقات در زمینه آلودگی‌های باکتریایی سیست و بیوماس در مناطق مختلف جهان از جمله در مرکز رفرائنس جهانی آرتیمیا در گنت

بلژیک انجام گرفته است ولی در خصوص بررسی آلودگی‌های قارچی آن کار تحقیقی به چاپ نرسیده است. در این تحقیق تعداد ۱۰۰ نمونه سیست آرتیمیا از مناطق مختلف دریاچه ارومیه نمونه‌برداری شد و جهت آزمایش قارچ‌شناسی به آزمایشگاه منتقل شد. همانطور که نتایج نشان می‌دهد از لحاظ کیفی تقریباً تمامی نمونه‌ها به

انواع کپک‌های ساپروفیت و یا پاتوژن آلوده می‌باشند. نوع قارچ‌هایی که از سیست جدا شده است نیز دارای حائز اهمیت است و می‌تواند از جنبه اقتصادی و یا از جنبه بهداشت آبزبان مورد مطالعه قرار گیرد. اکثر این قارچ‌ها باعث کاهش کیفیت سیست شده و حتی باعث فساد آن می‌شوند و امکان دارد که عامل تولید سم نیز باشند. وجود این حد آلودگی کیفیت بهداشتی بسیار پائین استحصال و انبارکردن سیست را نشان می‌دهد و در نهایت استفاده از سیست‌های آلوده ضررهای اقتصادی نظیر هزینه‌های درمانی استخرهای پرورشی آلوده به قارچ و یا مسمومیت قارچی در آبی‌پروری را بدنبال دارد. منشأ این قارچ‌ها می‌تواند به‌طور ثانویه از هوا و وسایل آلوده باشد. به‌طور کلی بسیاری از میکروارگانیسم‌های بیماریزا ممکن است در هوا موجود باشند (پیت و هوکینگ، ۱۹۹۷؛ لوف و برتون، ۱۹۹۶).

۷۷ درصد اسپرژیلوس فلاووس، ۶۹ درصد اسپرژیلوس نیجر و ۵۱ درصد اسپرژیلوس فومیگاتوس از کل نمونه‌های سیست جدا گردید که از شایع‌ترین قارچ‌های محیطی بودند و اسپوره‌های این قارچ در طبیعت به‌وفور یافت می‌شوند. اسپرژیلوس‌ها به آسانی می‌توانند در آب، خاک، روی نباتات، پوست و مخاط انسان و حیوانات به‌صورت گنده روی رشد کنند. کونیدی‌های (هاگ) آنها به‌علت دارا بودن خاصیت آنتی ژنیک و انتشار وسیع محیطی، می‌توانند بیماری‌های ازدیاد حساسیت را در افراد مستعد ایجاد کنند. در عین حال بعضی از گونه‌های آن بخصوص در بیماران مبتلا به نقص سیستم ایمنی باعث عفونت‌های حاد می‌شود. گونه‌های مختلف این قارچ در ایجاد بیماری‌های ریه، گوش خارجی، ناخن و چشم در انسان و همچنین در تولید انواع آفلاتوکسین‌ها نقش بسیار مهمی دارند (مرتضوی و طباطبایی، ۱۹۹۷؛ آکسو پولوس و میمس، ۱۹۷۹؛ لوف و برتون، ۱۹۹۶).

قارچ‌های موکور، رایزوپوس و آبسیدیا نیز جزء ساپروفیت‌هایی محسوب می‌شوند که علاوه بر فساد مواد غذایی، می‌توانند در انسان باعث بیماری‌های جلدی،

ریوی، مغزی، احشایی و ازدیاد حساسیت و آلرژی شوند. این قارچ‌ها ممکن است در ایجاد فساد در مراحل تکثیر آبزبان نقش داشته باشند (اوانس و ریچاردسون، ۱۹۸۹؛ لوف و برتون، ۱۹۹۶).

قارچ پنی‌سیلیوم که بعضی گونه‌های آن در تولید مواد غذایی نقش بسزایی دارد، می‌تواند عامل بیماری‌زا در ایجاد عفونت‌های گوش خارجی، ریه و دستگاه ادراری باشد (لوف و برتون، ۱۹۹۶؛ هاوکسورت، ۱۹۹۸).

قارچ آلترناریا به‌عنوان آلوده‌کننده مطرح بوده و از جمله قارچ‌های توکسین‌زا به‌حساب می‌آید و می‌تواند در بهداشت عمومی و بهداشت آبزبان نقش داشته باشد (روبرتس، ۱۹۹۰؛ لوف و برتون، ۱۹۹۶).

قارچ فوزاریوم هم از نظر بیماری‌زایی در دام‌ها و نیز از نظر تولید توکسین اهمیت دارد و می‌تواند در کاهش کیفیت سیست موثر باشد (مرتضوی و طباطبایی، ۱۹۹۷؛ لوف و برتون، ۱۹۹۶).

قارچ‌هایی مثل اپیکوکوم، اسکوپولاریوپسیس، ورتیسلیوم و آکرومونوم بیشتر به‌عنوان آلوده‌کننده‌های عمومی مطرح هستند و در بیماری‌زایی و توکسین‌زایی چندان نقشی ایفا نمی‌کنند (اوانس ریچاردسون، ۱۹۸۹؛ لوف و برتون، ۱۹۹۶).

انجام آنالیز واریانس بین نمونه‌های تازه صید شده و نمونه‌های انباری درصد آلودگی بین این دو گروه اختلاف معنی‌دار نشان می‌دهد ($P < 0/05$).

در بحث بررسی کمی آلودگی‌های قارچی سیست‌های مورد آزمایش مشخص گردید که سیست‌های تازه صید شده از دریا میزان آلودگی بسیار پائینی دارند در حالی که سیست‌های انبار شده میزان آلودگی بسیار بالایی را نشان می‌دهند. در بررسی آماری دو گروه سیست انباری و سیست تازه صید شده به‌روش آنالیز واریانس از نظر تعداد پرگنه قارچ در هر گرم سیست نشان داد که بین سیست انباری و سیست تازه صید شده در هر محل اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($P = 0/05$). در مقایسه آماری بین گروه‌های مختلف مکانی از نظر سیست انباری مشخص شد که بین آنها اختلاف معنی‌داری از نظر تعداد پرگنه

انبارکردن و نیز روش‌های نگهداری سیست‌ها قبل از بسته‌بندی اقدامات بهداشتی مناسبی اعمال نمود. متأسفانه تعداد قارچ‌های تولیدکننده سم آفلاتوکسین در این بررسی بسیار بالا بوده و این مسئله می‌تواند در بروز مسمومیت‌های حاد و مزمن در ماهیان پرورشی که از این سیست‌های آلوده مصرف می‌کنند نقش داشته باشد.

قارچی در گرم سیست وجود ندارد و در مقایسه بین سیست‌های تازه صید شده در مکان‌های مختلف نیز اختلاف معنی‌دار آماری وجود نداشت.

با توجه به آلودگی بالای سیست‌های انباری و نوع قارچ‌های آلوده‌کننده پیشنهاد می‌گردد که سیست‌های صید شده در اسرع زمان بسته‌بندی شوند و بایستی در نحوه

منابع

1. Alcamo, P.D., and Edward, I. 1994. Fundamentals of Microbiology, 4th Edn. The Benjamin Cummings Publishing Company, New York Pp: 234, 426.
2. Al-Doory, Y. 1980. Laboratory medical mycology, 1st Edn. Lea and Febiger, Ltd., Philadelphia, Pp: 3.
3. Alexopolus, C.J., and Mims, C.W. 1979. Introductory mycology, 1st Edn. John Wiley and Sons, U.S.A, Pp: 632.
4. Crissey, J.T., Lang, H., and Parish, L.C. 1995. Manual of medical mycology, 1st Edn, Blachwell Science, U.S.A., Pp: 186, 238-243.
5. Emami, M., Kordbacheh, P., Moghaddami, M., and Zayeni, F. 1992. Medical mycology, Tehran university press, Pp: 60-62, 67-70, 77.
6. Ewans, E.G., and Richardson, M.D. 1989. Medical mycology, a Practical Approach, 1st Edn., Oxford University Press, England, Pp: 60, 100-104.
7. Getner, S., Pour karim, H., Nedjatollahi, F. 1998. Mycology for medical students. Koshamehr press, shiraz, Iran, Pp: 20-22, 131.
8. Hawksworth, D.L. 1998. Fungal phylogeny and systematics, In: Medical mycology, L. Ajello and R.J. Hay (Eds), 9th Edn, Oxford University Press, New York, Pp: 44-45.
9. Lavens, P., and Sorgeloos, P. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture, 1st Edn, Laboratory of aquaculture and artemia reference center, Belgium. Pp: 140-150.
10. Leboff, M.J., and Burton, E.P. 1996. A Photographic atlas for the microbiology laboratory, 1st Edn, Publishing Company, MP, Engle Wood, Colorado. Pp: 124.
11. Mortazavi, A., 1992. Atlas of food microbiology, Ferdowsi university press, Mashhad, Iran. Pp: 228-234.
12. Mortazavi, A., Tabatabaee, F. 1997. Mycotic toxins, Ferdowsi University press, Mashhad, Iran. Pp: 80, 128, 198.
13. Nasre esfehani, B. 1993. Yeasts and moulds: their importance in food industry, Esfahan medical university press, Esfahan, Iran. Pp: 2-23, 129-133, 158, 165.
14. Nori, F. 1996. Study on morphology, reproduction and different stages of growth in *Artemia urmiana*, Final report of the project, urmia university scientific reports, urmia, Iran. Pp: 8-17.
15. Ownagh, A.G., Agh, N., Mardani, K. 2002. Study on effect of formaline, green malachite, crystal violet and sodium hypochlorite on hatching of *Artemia urmiana* cyst. Iranian Journal of veterinary Research, University of shiraz, Vol. 3, No.1, Pp: 20-25.
16. Pitt, J.I., and Hocking, A.D. 1997. Fungi and Food Spoilage, 2nd Edu, Blakie Academic and Professional Ltd., London. Pp: 234.
17. Roberts, G.D. 1990. Laboratory methods in basic mycology, In: Diagnostic microbiology, Baron, E.J. and Finegold, S.M. (Eds), 8th Edn, the C.V. Mosby Company, Toronto, Pp: 765-768.
18. Salami, A. 1997. Veterinary mycology and mycotic diseases (Translation), sepehr-nikkhah press, Tehran, Iran. Pp: 35, 71, 77, 146.
19. Shadzi, S. 1991. Medical Mycology and Methods of laboratory diagnosis, golbahar press. Isfahan, Iran. Pp: 359, 379, 385.
20. Strub, G.V., and Dixon, B.A. 1995. Bacteriological flora of the brine shrimp (*Artemia franciscana*) from a hypersaline pond in san Francisco Bay, California. Larvi95- fish & shellfish larviculture symposium. No.24. Pp: 493-498.
21. Verschuere, L., Rombaut, G., Huys, G., Dhont, J., Sorgeloos, P., and Verstrate, W. 1999. Microbial control of the culture of artemia juveniles through permptive colonization by selected bacteria strains. J. Applied and invironmental microbiology, 1999, Pp: 2527-2533.
22. Zayyeni, F., Mahbod, A., and Emami, M. 1999. Comprehensive medical mycology, Tehran university press, Pp: 315-319, 516, 527-536.

Study and comparison of fungal contamination of *Artemia urmiana* cyst in two groups: stored cyst and fresh harvested cyst

*** A.Gh. Ownagh¹, Gh. Yosef Baigy² and A.R. Khosravi³**

¹Lecture, Dept. of Microbiology, Urmia University, Iran, ²Assistant Prof. Dept. of Microbiology, Urmia University, Iran, ³Prof. Dept. of Microbiology, Urmia University of Tehran, Iran

Abstract

Fungal contamination of the cysts of artemia is possibly one of the important reasons for reduced hatchability of the cysts and therefore one of the main problems in cyst processing and culture of artemia. In the present study, fungal contamination of *Artemia urmiana* cysts was investigated. Five series of samples were collected and then were cultured on S.D.A agar, the fungal growth were examined macroscopically and microscopically. Isolated fungi were stained by lactophenol-cotton blue stain followed by slide culture technique. The fungi isolated during this study were: *Aspegillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *mucor*, *Rhizopus*, *Absidia*, *Penicillium*, *scopulariopsis*, *Alternaria*, *fusarium*, *verticillium*, *acromonium* and *epicoccum spp.* Quantitative study of one hundred samples of *Artemia urmiana* cyst were carried out and the Results showed: Average numbers of mould per gram was 9.4×10^3 (SD=6554.47) for stored cyst samples and average numbers of mould per gram was 4.5×10^2 (SD=313.27) for freshly harvested cyst samples. The difference between mean value was greater than that expected by chance; which was found to be statistically highly significant ($P < 0.05$).

Keywords: Artemia cyst; fungal contamination; Aspergilli; Rhizopus; Mucor.