



University of Guilan

University of Guilan with collaboration of Iranian
Aquaculture Society

Aquatic Animals Nutrition

Vol. 7, No. 4, 2022, pages: 29-42
DOI: 10.22124/janb.2022.22723.1175



Effects of culture medium and oil enrichment on the production and approximate analysis of the microworm *Panagrellus redivivus*

Zohreh Varzidehranj, Mohammad Amini Chermahini*

Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Behbahan Khatam Alanbia University of Technology, Behbahan, Khuzestan, Iran

Received 20 July 2021

Revised 13 December 2021

Accepted 17 December 2021

KEYWORDS

Live food
Larvae
Aquaculture
Microworm
Enrichment

ABSTRACT

In this study, the effects of culture medium and oil enrichment on the growth and approximate analysis of microworm, *Panagrellus redivivus* were investigated. Three main ingredients (oat, potato, and wheat) and their mix in equal proportion, and two types of vegetable oil (sunflower and sesame) were used as cultivation medium. Therefore, 12 treatments in 6 replications including 4 culture mediums without oil, with sunflower oil, and with sesame oil were used. Oil was used as 3.4% of the total weight of the culture medium. After 12 to 14 days, harvesting was performed. Production and approximate analysis of microworms were recorded. The results showed that the amount of microworm production was the highest in mixed, potato, oat, and wheat treatments, respectively. Also, using oil exhibited a significant effect on the microworm fat and increased the total fat of the worm. The highest amount of oil was observed in the mixed-sunflower treatment, while the lowest in the wheat treatment without oil ($p < 0.05$). On the other hand, by elevating in oil, the protein rate decreased ($p < 0.05$). The type of culture medium displayed a significant effect on all measured amino acids except cysteine. However, the oil added to the culture medium only revealed a significant effect on some amino acids, i.e., arginine and tryptophan ($p < 0.05$). In general, the composition of the culture medium and the addition of oil displayed a significant effect on the production and body composition of microworm exhibited that this nematode has a high enrichment capability.

*Corresponding author: mamini57@yahoo.com, m.amini@bkatu.ac.ir



"مقاله پژوهشی"

اثر محیط کشت و غنی‌سازی روغن روی تولید و آنالیز تقریبی ریزکرم *Panagrellus redivivus*

زهرة ورزیده‌رنج، محمد امینی چرمهینی*

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی خاتم‌الانبیاء بهبهان، بهبهان، خوزستان

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۲۶

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۹/۲۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۲۹

کلمات کلیدی

غذای زنده

نوزاد

آبی‌پروری

ریزکرم

غنی‌سازی

چکیده

در این پژوهش اثر انواع محیط کشت و غنی‌سازی روغن بر رشد و سنجش تقریبی ریزکرم (میکروورم) بررسی شد. برای این منظور از سه ماده اصلی (آرد جوی دو سر، سیب‌زمینی و آرد گندم) و ترکیب آنها به نسبت مساوی و دو نوع روغن گیاهی (آفتاب‌گردان و کنجد) به‌عنوان محیط کشت استفاده شد. بنابراین، ۱۲ تیمار در ۶ تکرار شامل ۴ محیط کشت و هر محیط کشت بدون روغن، با روغن آفتاب‌گردان و با روغن کنجد در نظر گرفته شد. روغن به میزان ۳/۴٪ وزن کل محیط کشت استفاده شد. بعد از ۱۲ تا ۱۴ روز برداشت انجام شد. تولید و سنجش تقریبی ریزکرم‌ها ثبت شد. نتایج حاصل نشان داد که میزان تولید ریزکرم به‌ترتیب در تیمارهای مخلوط، سیب‌زمینی، جوی دو سر و گندم بیشترین مقدار بوده است. همچنین استفاده از روغن تأثیر معنی‌داری بر میزان چربی ریزکرم داشت و باعث افزایش چربی کل بدن کرم شد. بیشترین میزان روغن در تیمار مخلوط آفتابگردان و کمترین در تیمار گندم بدون روغن مشاهده شد ($p < 0.05$). از طرف دیگر، با افزایش روغن، درصد پروتئین کاهش یافت ($p < 0.05$). تغییر محیط کشت بر میزان همه اسیدهای آمینه اندازه‌گیری شده بجز سیستئین تأثیر معنی‌دار داشت، ولی اضافه کردن روغن به محیط کشت فقط روی برخی اسیدهای آمینه یعنی آرژینین و تریپتوفان تأثیر معنی‌دار داشت ($p < 0.05$). در مجموع، نوع محیط کشت و افزودن روغن اثر معنی‌داری روی میزان تولید و ترکیب بدن ریزکرم دارد و نشان می‌دهد این نماد قابلیت غنی‌سازی بسیار خوبی دارد.

مقدمه

بسیاری از ماهی‌ها و سخت‌پوستان دریایی برای مراحل اولیه رشد خود به غذای زنده نیاز دارند (Rouse et al. 1992). تحقیقات نشان داده است که نوزادان ماهی‌ها در هفته‌های اول به غذای زنده‌ای نیاز دارند که مناسب اندازه دهان آنها باشد (Rottmann, 1988). از طرفی اگر مواد معدنی، ویتامین و اسیدآمین‌ها برای نوزاد تأمین نشود، موجود آبی ضعیف می‌شود و احتمال ابتلا به بیماری در آنها افزایش می‌یابد. از آنجا که دستگاه گوارش نوزاد آبیاز تکامل نیافته است، قادر به هضم بهینه همه مواد غذایی نیستند (غلام‌پور و پیری، ۱۳۹۱). غذاهای مصنوعی برای موجودات زنده مطلوبیت و مطابقت کافی را ندارند. عوامل و عادات تغذیه‌ای در گونه‌ها متفاوت است، اما اغلب آبیاز برای رشد و بقا بیشتر نیاز به غذای غنی از پروتئین دارند (Mandal et al. 2009). غذاهای زنده حاوی تمامی مواد مغذی مانند پروتئین‌های اساسی، لیپیدها، کربوهیدرات‌ها، ویتامین‌ها، مواد معدنی، اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب هستند (New, 1999) و معمولاً به عنوان "کپسول‌های زنده مواد مغذی" شناخته می‌شوند. از این رو، تهیه غذاهای صناعی مناسب برای مراحل اولیه رشد بسیاری از آبیاز مشکل بوده و نیاز به غذای زنده کاملاً محسوس است. غذاهای زنده می‌توانند با شنا در ستون آب به طور مداوم در دسترس نوزادان قرار بگیرند. حرکت غذا زنده در ستون آب باعث تحریک نوزادان به مصرف آن می‌شود (David, 2003). نوزادان بیشتر ماهی‌ها، سخت‌پوستان و صدف‌ها در طبیعت از موجودات کوچک پلانکتون گیاهی و جانوری تغذیه می‌کنند. در یک بوم‌سازگان آبی، این موجودات زنده ارزشمندترین منبع آبی‌پروری را تشکیل می‌دهند. موفقیت در تفریخگاه ماهیان انگشت‌قد نیز تا حد زیاد به وجود غذای مناسب بستگی دارد (Lim et al. 2003).

پیشرفت در روش‌های غنی‌سازی مواد غذایی زنده به افزایش اهمیت و پتانسیل موجودات زنده در پرورش نوزادان کمک کرده است. در نتیجه، بدیهی است که تولید غذای زنده به عنوان گام اول در توسعه آبی‌پروری پذیرفته شده است (Das et al. 2012) و همان‌طور که تقاضای مصرف کنندگان برای محصولات آبی‌پروری به‌سرعت در حال

افزایش است، تقاضا برای تغذیه زنده در کشت نوزادان پرورشی نیز در حال افزایش است.

برای برآورده کردن این تقاضای رو به رشد، گام‌های نوآورانه برداشته شده است (Bruggemann, 2012). یکی از گزینه‌های قابل توجه در راستای تنوع بخشی به انواع غذای زنده، ریزکرم *Panagrellus redivivus* است (امینی چرمهینی، ۱۴۰۱). این نماتد با توجه به اندازه، ترکیب مواد مغذی، قابلیت زنده‌ماندن در آب شور و شیرین و سادگی تغذیه و پرورش، یکی از بهترین غذاهای زنده برای تغذیه نوزاد انواع آبیازان است (هاف و اسنل، ۱۳۹۴؛ Walsh, 2012). ریزکرم یک منبع غذایی عالی برای تغذیه نوزادان ماهی و صدف است (Biedenbach et al. 1989) و جایگزین بسیار مناسبی برای آرتمیا است که یک غذای زنده گران‌قیمت محسوب می‌شود، اما عدم وجود روش مناسب برای تولید انبوه، مانع استفاده گسترده آن در صنعت آبی‌پروری شده است (Focken et al. 2006).

البته باید دقت کرد این کرم رژیم غذایی کاملی برای همه گونه‌ها نیست و باید به‌صورت موردی استفاده شود (Ramee et al. 2019). Focken و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که با تغییر محیط کشت ریزکرم از جوی دوسر خالص به نشاسته ذرت-گندم میزان بقای نوزادان میگوی وانامی تغذیه شده با ریزکرم بهبود پیدا کرده است. در مطالعه‌ای دیگر، جلبک اسپیرولینا به محیط کشت ریزکرم اضافه شد و مشاهده شد که افزودن این جلبک به محیط کشت کرم باعث بهبود رشد ریزکرم‌ها و همچنین، حضور اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب آن در میکروورم شده است (de Lara et al. 2007). Sautter و همکاران (۲۰۰۷) در تحقیقی که بر روی غنی‌سازی نماتدهای *Panagrellus redivivus* با SuperSelco[®] داشتند نشان دادند که غنی‌سازی این نماتد باعث افزایش رشد نوزادان گربه ماهی شد. این مطالعات نشان می‌دهند که ریزکرم قابلیت غنی‌سازی داشته و تغییر ترکیب محیط کشت روی ترکیب لاشه آن مؤثر است. در این راستا پژوهش‌های دیگری نیز انجام شده است که تأیید کننده قابلیت غنی‌سازی ریزکرم و تأثیر معنی‌دار افزایش روغن‌های مختلف به محیط کشت روی ترکیب لاشه آن است (Kumlu et al. 1998; Ricci et al. 2003; Jahangard, 2003;

ریزکرم‌ها طبق روش (Buck et al. 2015) در بشرهای ۸۰۰ میلی‌لیتری با استفاده از مخمر نانوائی *Saccharomyces cerevisiae* (به‌صورت تک‌گونه‌ای) پرورش داده شدند. برای فراهم کردن بستر مناسب پرورشی، از سه ماده پایه در محیط کشت (آرد جوی دوسر، سیب زمینی و آرد گندم) به‌صورت انفرادی و ترکیبی از ۳ محیط به نسبت مساوی و ۲ نوع روغن گیاهی (آفتابگردان و کنجد) به میزان ۳/۴ درصد وزنی روغن به منظور غنی‌سازی محیط کشت استفاده شد (Jahangard, 2003). بنابراین، ۱۲ تیمار به شرح زیر و هر تیمار در شش تکرار تشکیل شد (جدول ۱):

Schlechtriem, 2004; Reyes et al. 2011; Honnens (et al. 2014; Affandi et al. 2019).

با توجه به تأثیر ترکیب محیط کشت روی میزان رشد و تولید ریزکرم و قابلیت غنی‌سازی ریزکرم، تحقیق حاضر برای بررسی تأثیر مواد اولیه و روغن‌های گیاهی موجود در بازار ایران به عنوان محیط کشت روی رشد و ترکیب لاشه ریزکرم انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه گروه شیلات دانشگاه صنعتی خاتم-الانبیاء بهبهان انجام شد.

جدول ۱ ترکیب محیط کشت در تیمارهای اجرا شده.

تیمار	محیط کشت پایه	روغن	تیمار	محیط کشت پایه	روغن
۱	جوی دوسر	-	۷	گندم	آفتابگردان
۲	سیب زمینی*	-	۸	ترکیبی	آفتابگردان
۳	گندم	-	۹	جو دوسر	کنجد
۴	ترکیبی**	-	۱۰	سیب زمینی	کنجد
۵	جوی دوسر	آفتابگردان	۱۱	گندم	کنجد
۶	سیب زمینی	آفتابگردان	۱۲	ترکیبی	کنجد

* سیب زمینی تازه آب‌پز شده، ** ترکیبی از آرد جو دوسر، سیب زمینی و آرد گندم به نسبت مساوی

تعداد کرم مورد نیاز به روش حجمی شمارش شد. به این ترتیب که کرم مورد نیاز از ذخیره اولیه در یک ظرف آب قرار داده شد. سپس با نمونه‌برداری تعداد در واحد حجم تعیین شد. برای تلقیح محیط کشت‌ها، پس از هم زدن آب حاوی کرم، حجم مورد نیاز واجد تعداد مورد نظر کرم با سرنگ برداشت، و روی چند نقطه از سطح محیط کشت پخش شد. پس از آن، سر ظرف را پوشانده و برای تبادل هوا با سوزن چند سوراخ روی درپوش پلاستیکی ایجاد شد. ریزکرم‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد (هاف و اسنل، ۱۳۹۴) و دور از نور مستقیم خورشید نگهداری شدند. محل پرورش کاملاً عایق‌بندی شده و از ورود حشرات جلوگیری شد. همچنین، برای از بین بردن حشرات احتمالی از حشره‌کش برقی استفاده شد. در طول دوره پرورش، روزانه محیط‌های

برای تهیه محیط کشت ابتدا مواد اولیه خشک مانند گندم و جوی دوسر با آسیاب به اندازه مناسب خرد، و سپس با لامپ UV ضدعفونی شد. سیب زمینی مورد نیاز نیز کاملاً آب‌پز و پوره شد. هر کدام از مواد پایه مورد استفاده با مقدار متناسب آب نمک دریا ۸ قسمت در هزار مخلوط شد تا محیط کشت خمیری با قوام مناسب ایجاد شود (۷۰-۶۰٪ ماده اولیه + ۳۰-۴۰٪ آب‌نمک داغ). پس از سرد شدن محیط کشت، در هر بشر ۱۰۰ گرم محیط کشت و سپس مقدار کمی مخمر اضافه شد. در محیط کشت‌های حاوی روغن قبل از اضافه کردن مخمر، روغن به میزان ۳/۴٪ وزن محیط کشت خمیری به آن اضافه شد. در نهایت، تلقیح کشت‌ها به میزان ۳۵۰ عدد کرم به ازای هر گرم محیط کشت انجام شد (Ricci et al. 2003; Buck et al. 2015).

ریزلوله‌ها شماره‌گذاری و در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۵ هزار به مدت سه دقیقه قرار داده شدند. سپس میکروتیوب‌ها خارج شده و برای گرفتن آب اضافه روی نمونه‌های ریزکرم از کاغذ واتمن ۴۲ استفاده شد. نمونه‌ها تا زمان ارسال برای آزمایش‌های بعدی در فریزر با دمای ۲۴- قرار داده شدند. برای سنجش ترکیب لاشه کرم‌ها از دستگاه NIR واقع در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه لرستان استفاده شد و مقدار پروتئین، چربی، خاکستر، رطوبت و برخی از اسیدهای آمینه اندازه‌گیری شدند.

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در قالب فاکتوریل با ۱۲ تیمار انجام شد. ابتدا نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و همگن بودن واریانس‌ها توسط آزمون لَوْن بررسی شد. آزمون ANOVA برای مقایسه مقدار محصول تولید شده کرم پس از دوره پرورش و همچنین، مقایسه ترکیب لاشه آنها استفاده شد. پس از آن، آزمون توکی برای مقایسه میانگین‌ها به کار رفت. سنجش‌های آماری توسط نرم افزار SPSS 22 و GraphPad Prism 8 انجام شد.

نتایج

مقایسه اثر محیط کشت‌های مختلف روی میزان تولید

ریزکرم

ریزکرم‌ها در ۱۲ تیمار و هر تیمار در ۶ تکرار کشت داده شدند. نتایج مربوط به میزان تولید کرم به صورت تعداد کرم به ازای گرم محیط کشت، تعداد کرم به ازای مساحت ظرف کشت (سانتی متر مربع)، و ضریب تکثیر کرم در جدول ۲ و شکل ۱ نشان داده شده است. با توجه به نرمال نبودن پراکنش داده‌های مذکور طبق آزمون کولموگروف-اسمیرنوف، داده‌ها ابتدا توسط لگاریتم طبیعی (Ln) تبدیل شده و پس از نرمال شدن، سنجش‌های مربوط انجام شد.

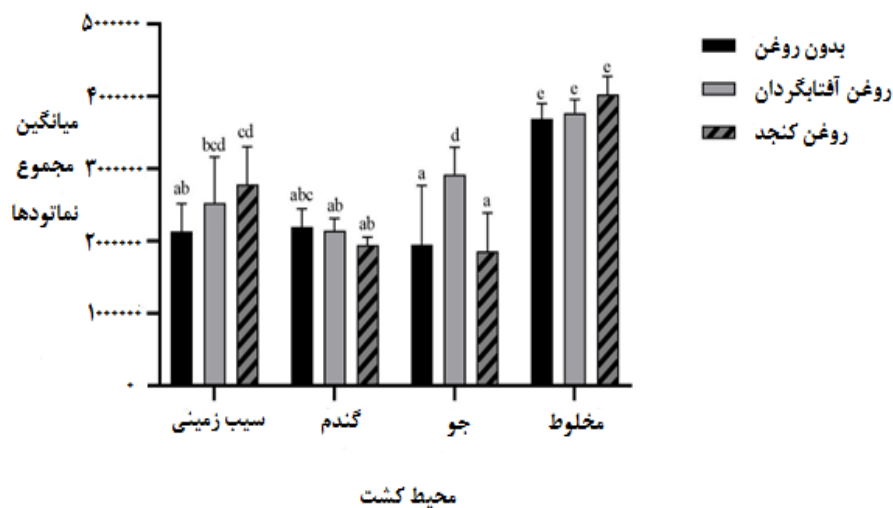
کشت بررسی و در صورت کم شدن رطوبت محیط کشت، روی سطح آن آب افشانه شد.

۱۲ تا ۱۴ روز پس از تلقیح، کشت‌ها به بیشینه تراکم خود رسیدند و به‌طور کامل برداشت شدند (Affandi et al. 2019). تعداد زیادی از کرم‌ها روی دیواره‌های ظرف کشت و بقیه روی سطح محیط کشت خزیدند. در ابتدا، ریزکرم‌ها از روی دیواره ظرف برداشت، و در یک بشر ۱۰۰ میلی‌لیتری دارای آب قرار داده شدند. برای برداشت ریزکرم‌های روی سطح محیط کشت، محتویات هر ظرف در آب تخلیه، و سپس از دو فیلتر به ترتیب ۵۰۰ و ۲۰ میکرومتر عبور داده شد (Buck et al. 2015). محلول صاف شده که حاوی کرم بود، ثابت نگه داشته شد تا کاملاً ته‌نشین شود. سپس آب رویی تخلیه، و آب تمیز به آن اضافه شد. این کار دو بار تکرار، تا آب کاملاً شفاف شد، به طوری که همه محیط کشت و مخمر همراه با آنها کاملاً شسته، و کرم خالص جمع‌آوری شد. سپس کرم‌های جمع‌آوری شده از روی دیواره و سطح محیط کشت جمع‌آوری شده و به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده و پس از آن به خوبی هم زده شد تا محلول یکنواختی از آب و کرم به‌دست آمد. در مرحله بعد از هر تکرار ۵ نمونه برداشته و توسط لام باگاروف زیر لوپ شمارش شد. میانگین نمونه‌های شمارش شده محاسبه شد و تعداد کرم در حجم مشخص به‌دست آمد. سپس تعداد کل کرم‌ها در هر تکرار و تیمار تعیین شد، و طبق آن تعداد کرم به ازای گرم محیط کشت، تعداد کرم به ازای مساحت ظرف کشت (سانتی‌متر مربع)، و ضریب تکثیر (تعداد نماتد برداشت شده تقسیم بر تعداد اولیه تلقیح شده) (Schlechtriem et al. 2004) تخمین زده شد. تعداد کل کرم تولید شده به عنوان میزان تولید در نظر گرفته شد. پس از شمارش و محاسبه کل کرم‌های تولید شده، اجازه داده شد تا کرم‌ها در ته بشر ته‌نشین شوند. آب روی بشر دور ریخته شد و کرم‌های باقی‌مانده ته بشر با سرنگ کشیده و در ریزلوله‌های (میکروتیوب‌های) ۲ میلی‌لیتری تخلیه شدند.

جدول ۲ پارامترهای رشد و تکثیر ریزکرم (میانگین \pm SD).

شماره تیمار	تیمار (محیط کشت- نوع روغن)	تعداد ریزکرم به ازای گرم محیط کشت	تعداد ریزکرم به ازای مساحت ظرف کشت	ضریب تکثیر (تعداد ریزکرم به ازای تعداد تلقیح شده)
۱	سیب زمینی بدون روغن	۱۰۶۸۴/۱ \pm ۱۹۰۶/۸ ^{ab}	۱۳۸۷۵/۵ \pm ۲۴۷۶/۳ ^{ab}	۳۰/۵۳ \pm ۵/۴۵ ^{ab}
۲	سیب زمینی- آفتابگردان	۱۲۶۲۵/۲۲ \pm ۳۲۰۷/۷ ^{bcd}	۱۶۳۹۶/۳۹ \pm ۴۱۶۵/۸۵ ^{bcd}	۳۶/۰۷ \pm ۹/۱۷ ^{bcd}
۳	سیب زمینی- کنجد	۱۳۹۲۲/۲۸ \pm ۲۶۰۵/۶۴ ^{cd}	۱۸۰۸۰/۸۸ \pm ۳۳۸۳/۹۴ ^{Cd}	۳۹/۷۸ \pm ۷/۴۵ ^{cd}
۴	جوی دوسر بدون روغن	۹۷۳۵/۲۲ \pm ۴۱۰۳/۴ ^a	۱۲۶۴۳/۱۵ \pm ۵۳۲۹/۰۹۸ ^a	۲۷/۸۱ \pm ۱۱/۷۲ ^a
۵	جوی دوسر- آفتابگردان	۱۴۶۱۵/۳۳ \pm ۱۸۶۴/۴۹ ^d	۱۸۹۸۰/۹۵ \pm ۲۴۲۱/۴۲ ^d	۴۱/۷۶ \pm ۵/۳۳ ^d
۶	جوی دوسر- کنجد	۹۲۸۱/۲۲ \pm ۲۶۶۴/۹۹ ^a	۱۲۰۵۳/۵۴ \pm ۳۴۶۱/۰۳ ^a	۲۶/۵۲ \pm ۷/۶۱ ^a
۷	گندم بدون روغن	۱۰۹۶۶/۰۶ \pm ۱۲۷۶/۲۴ ^{abc}	۱۴۲۴۱/۶۳ \pm ۱۶۵۷/۴۶ ^{abc}	۳۱/۳۳ \pm ۳/۶۵ ^{abc}
۸	گندم- آفتابگردان	۱۰۶۹۳ \pm ۸۸۱/۰۸ ^{ab}	۱۳۸۸۷/۰۱ \pm ۱۱۴۴/۲۶ ^{ab}	۳۰/۵۵ \pm ۲/۵۲ ^{ab}
۹	گندم- کنجد	۹۷۲۱/۵۶ \pm ۵۶۵/۴۱ ^{ab}	۱۲۶۲۵/۴۰ \pm ۷۳۴/۲۹ ^{ab}	۲۷/۷۸ \pm ۱/۶۲ ^{ab}
۱۰	مخلوط بدون روغن	۱۸۴۷۰/۸۳ \pm ۱۰۳۷/۳۲ ^e	۲۳۹۸۸/۱۰ \pm ۱۳۴۷/۱۶ ^e	۵۲/۷۷ \pm ۲/۹۶ ^e
۱۱	مخلوط- آفتابگردان	۱۸۸۶۶/۴۴ \pm ۹۳۹/۲۰ ^e	۲۴۵۰۱/۸۸ \pm ۱۲۱۹/۷۴ ^e	۵۳/۹ \pm ۲/۶۸ ^e
۱۲	مخلوط- کنجد	۲۰۱۴۴/۷۸ \pm ۱۲۶۸/۲۴ ^e	۲۶۱۶۲/۰۵ \pm ۱۶۴۷/۰۶ ^e	۵۷/۵۶ \pm ۳/۶۲ ^e

حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۰.۰۵٪ است.



شکل ۱ میانگین تعداد ریزکرم در هر تیمار. حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۰.۰۵٪ است.

میکروورم شد ($p < 0.05$)، به طوری که محیط کشت بدون روغن کمترین و محیط کشت‌های حاوی روغن آفتابگردان و کنجد به ترتیب ریزکرم بیشتری تولید کردند. در گروه دارای محیط کشت مخلوط، بیشترین تعداد ریزکرم در هر تکرار تولید شد و در نتیجه، بالاترین میزان تعداد ریزکرم به ازای گرم محیط کشت و مساحت ظرف کشت و همچنین ضریب

طبق نتایج آزمون واریانس دوطرفه بین محیط‌های کشت، روغن‌های مختلف و اثر متقابل محیط کشت و روغن اختلاف معنی دار مشاهده شد ($p < 0.05$). طبق نتایج این آزمون محیط کشت‌های مخلوط، سیب زمینی، جوی دوسر و گندم به ترتیب بیشترین تولید را به همراه داشتند. همچنین، افزایش روغن به محیط کشت باعث افزایش معنی دار میزان تولید

دست آمد. آزمون واریانس دوطرفه نشان داد که نوع محیط کشت و روغن تأثیر معنی‌دار روی درصد چربی بدن ریزکرم دارد ($p < 0/05$). طبق نتایج به دست آمده در هر محیط کشت، افزودن روغن باعث افزایش مقدار چربی کل بدن کرم شد و محیط‌های کشت بدون روغن، کمترین مقدار چربی را داشتند. به عنوان نمونه محیط کشت گندم بدون روغن کمترین درصد روغن را به خود اختصاص داد.

میزان خاکستر بر اساس وزن خشک بین ۵/۶ تا ۵/۸۵٪ متغیر، و میانگین آن برای همه تیمارها $0/62 \pm 5/73$ ٪ بود. آزمون واریانس دوطرفه نشان داد که محیط کشت و روغن تأثیر معنی‌دار روی میزان خاکستر ریزکرم‌ها دارند ($p < 0/05$). نمونه‌های کشت شده در محیط کشت‌های سیب زمینی و گندم به طور کلی خاکستر بیشتری دارند، در حالی که در محیط کشت‌های جوی دوسر و مخلوط دارای روغن خاکستر کمتری مشاهده می‌شود.

نوع محیط کشت روی میزان همه اسیدهای آمینه اندازه‌گیری شده به استثنای سیستئین تأثیر معنی‌دار داشت ($p < 0/05$)، ولی روغن اضافه شده به محیط کشت فقط روی مقدار برخی اسیدهای آمینه یعنی آرژینین و تریپتوفان تأثیر معنی‌دار داشت. در شکل ۳، درصد اسیدهای آمینه اندازه‌گیری شده نشان داده شده است.

اسید آمینه آرژینین نسبت به بقیه تیمارها به طور معنی‌دار در تیمار سیب زمینی بیشتر و در تیمار مخلوط کمتر بود ($p < 0/05$). همچنین، نتایج آزمون واریانس دوطرفه نشان داد که تیمارهای روغن کنجد به نسبت روغن آفتابگردان میزان کمتری آرژینین داشتند ($p < 0/05$). آنالیز واریانس دو طرفه نشان داد که نوع محیط کشت و روغن تأثیر معنی‌داری روی میزان اسید آمینه سیستئین در بدن ریزکرم ندارد ($p < 0/05$).

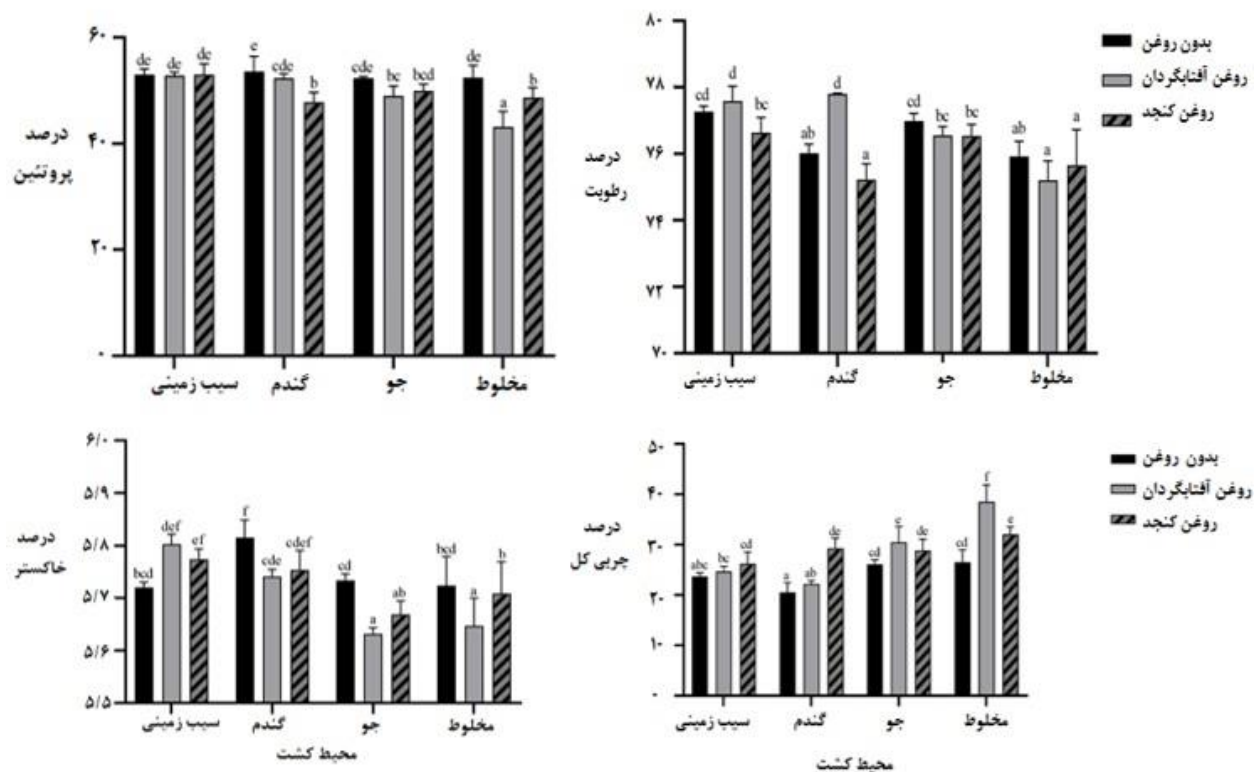
تکثیر مشاهده شد. تیمار جوی دوسر بدون روغن و جوی دوسر-کنجد کمترین میزان تولید ریزکرم را داشتند. در تیمارهای حاوی محیط کشت مخلوط و تیمارهای حاوی گندم، افزودن روغن تأثیر معنی‌داری روی افزایش تولید نداشت، ولی در تیمارهای دارای گندم و سیب زمینی افزودن روغن باعث تغییر میزان تولید شد. در تیمار دارای جوی دوسر، فقط افزودن روغن آفتابگردان باعث افزایش تولید شد، ولی در تیمار حاوی سیب زمینی هردو روغن باعث افزایش تولید ریزکرم شدند.

مقایسه اثر محیط کشت‌های مختلف روی ترکیب بدن ریزکرم

نتایج مربوط به میزان رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر لاشه کرم‌ها در شکل ۲ نشان داده شده است. میزان رطوبت بدن میکروورم ۷۴/۵۷ تا ۷۷/۹۸٪ با میانگین $0/93 \pm 76/45$ ٪ وزن بدن مشاهده شد. طبق نتایج آزمون واریانس دوطرفه، نوع محیط کشت و روغن و اثر متقابل آنها بر میزان رطوبت بدن ریزکرم اثر معنی‌دار داشته است ($p < 0/05$)، به طوری که تیمارهای مخلوط-آفتابگردان و مخلوط-کنجد دارای کمترین مقدار رطوبت و تیمارهای سیب زمینی-آفتابگردان و گندم-آفتابگردان دارای بیشترین مقدار رطوبت بودند.

مقدار پروتئین در تیمارهای مختلف بین ۳۹/۹ تا ۵۵/۶٪ با میانگین $3/37 \pm 50/7$ ٪ وزن خشک بدن متغیر بود. طبق آزمون تجزیه واریانس دوطرفه، نوع محیط کشت و روغن تأثیر معنی‌دار روی درصد پروتئین بدن میکروورم داشت ($p < 0/05$). به طور کلی، تیمارهای با محیط کشت خالص بدون افزودن روغن دارای پروتئین بیشتری نسبت به تیمارهای واجد روغن بودند که بالاترین مقدار پروتئین مربوط به گندم بدون روغن و کمترین مقدار پروتئین مربوط به مخلوط-آفتابگردان بود.

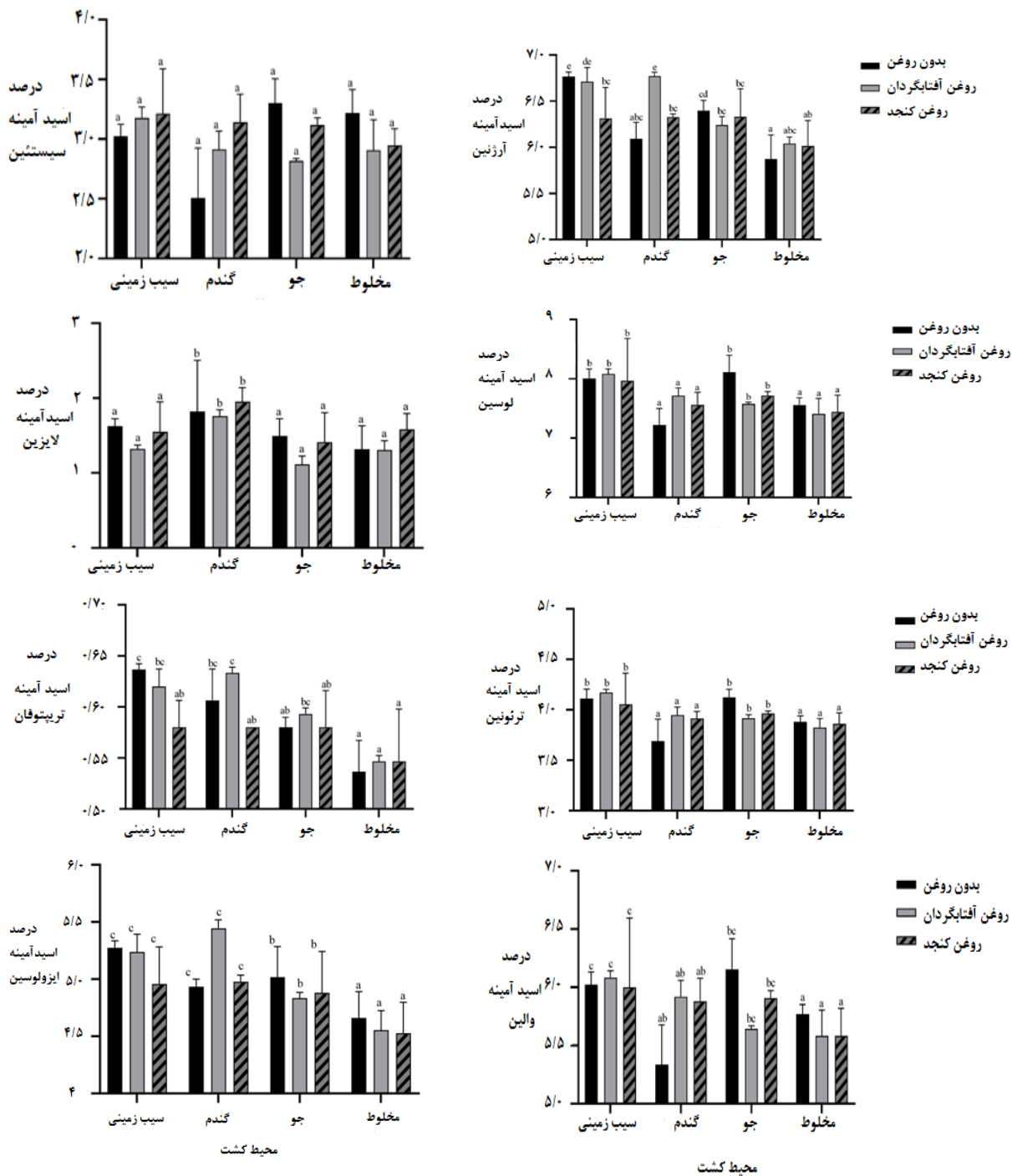
مقدار چربی کل در ۱۲ تیمار انجام شده بین ۱۸/۱۷ تا ۴۲/۳۲٪ وزن خشک بدن متفاوت بود. میانگین درصد چربی کل برای همه تیمارها $5/02 \pm 27/43$ ٪ وزن خشک بدن به



شکل ۲ تجزیه تقریبی بدن ریزکرم. حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰.۰۵٪ است.

محیط کشت و روغن روی میزان اسید آمینه تریپتوفان تأثیر معنی‌دار داشت ($p < 0.05$). تیمار مخلوط کمترین مقدار و تیمار سیب زمینی بدون روغن، سیب زمینی-آفتابگردان، گندم بدون روغن، جو-آفتابگردان و گندم-آفتابگردان بیشترین مقدار این اسید آمینه را داشتند ($p < 0.05$). نتایج آزمون واریانس نشان داد که روغن تأثیر معنی‌دار روی میزان اسید آمینه والین ندارد، ولی نوع محیط کشت به‌طور معنی‌دار سبب کاهش این اسید آمینه در تیمار مخلوط و افزایش آن در تیمار سیب زمینی شد ($p < 0.05$). طبق نتایج آزمون واریانس نوع محیط کشت تأثیر معنی‌دار روی محتوای اسید آمینه ایزولوسین داشت ($p < 0.05$). میزان این اسید آمینه در تیمار سیب زمینی و گندم بیشترین مقدار و در تیمار مخلوط کمترین مقدار بود ($p < 0.05$).

طبق نتایج به‌دست آمده از آزمون واریانس دو طرفه نوع روغن تأثیر معنی‌دار روی میزان اسید آمینه لوسین در بدن میکروورم نداشت، ولی نوع محیط کشت تفاوت معنی‌دار در میزان این اسید آمینه نشان داد ($p < 0.05$). محیط کشت سیب زمینی و جو مقدار این اسید آمینه را افزایش داد، ولی مقدار این اسید آمینه در تیمارهای گندم و مخلوط کمتر بود ($p < 0.05$). مقدار اسید آمینه لایزین در تیمار گندم به‌طور معنی‌دار بیشتر از دیگر تیمارها مشاهده شد، در حالی که روغن تأثیر معنی‌دار روی مقدار این اسید آمینه در بدن ریزکرم نداشت ($p < 0.05$). اسید آمینه ترئونین نیز تحت تأثیر نوع روغن تغییر معنی‌داری نشان نداد و فقط نوع محیط کشت توانست تفاوت معنی‌دار روی مقدار آن در بدن ریزکرم ایجاد کند ($p < 0.05$), به طوری که محیط کشت‌های سیب زمینی و جوی دوسر مقدار بیشتری از این اسید آمینه داشتند. نوع



شکل ۳ درصد برخی از اسیدهای آمینه در بدن ریزکرم. حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰.۰۵٪ است.

رسد نوع نشاسته موجود در محیط کشت‌های مختلف بیشترین تأثیر را روی گسترش مخمر و در نتیجه، رشد و نمو ریزکرم داشته باشد. نماتد *Panagrellus redivivus* به طور اختصاصی از مخمر نانویایی *Saccharomyces*

بحث

میزان تولید ریزکرم به طور معنی‌دار در تیمارهای مختلف تفاوت داشت. تیمار مخلوط و روغن آفتابگردان بیشترین میزان رشد و تکثیر را در ریزکرم ایجاد کردند. به نظر می-

که از نظر روش پرورش و میزان تولید کاملاً قابل مقایسه با مطالعه حاضر است.

از طرف دیگر، در تحقیقات مختلف افزودن روغن به محیط کشت باعث افزایش کارایی تولید ریزکرم شده است (Kumlu et al. 1998; Jahangard, 2003; Ricci et al. 2003; Schlechtriem et al. 2004; Affandi et al. 2019). در برخی از تحقیقات مذکور چندین نوع منبع روغن استفاده شده است و در همه آنها، روغن آفتابگردان بهترین نتیجه را داشته است (Jahangard, 2003; Ricci et al. 2003). Jahangard (et al. 2003) از میان روغن آفتابگردان، پنبه دانه، پالم، ذرت، و ماهی بهترین کارایی را به ترتیب در روغن آفتابگردان و ذرت مشاهده کرد. همچنین، Ricci و همکاران (۲۰۰۳) از میان روغن آفتابگردان، روغن ماهی و روغن کبد ماهی کاد، بهترین میزان تولید نماد را با استفاده از روغن آفتابگردان به دست آوردند. به هر حال با توجه به اثر قابل توجه روغن به عنوان منبع انرژی روی سوخت و ساز و تولید مثل نماد (Jahangard, 2003)، تحقیقات بیشتری نیاز است تا مشخص شود چه خصوصیت و یا اسید چرب مشخصی در روغن آفتابگردان باعث افزایش بازده تولید ریزکرم می‌شود. در پژوهش حاضر نیز روغن آفتابگردان تأثیر مثبت روی تولید داشته است که هم‌سو با تحقیقات قبلی است (Jahangard, 2003; Ricci et al. 2003). در عین حال، در این تحقیق روغن کنجد نسبت به روغن آفتابگردان عملکرد بهتری نشان داده است.

همان‌طور که ذکر شد ریزکرم به صورت اختصاصی از مخمر موجود در محیط کشت تغذیه می‌کند و در واقع، محیط کشت فراهم شده به صورت غیرمستقیم و با واسطه باعث تغییر ترکیب بدن ریزکرم می‌شود. البته این نماد می‌تواند مواد مختلف را از طرق دیگر و نه لزوماً از طریق خوردن مخمر جذب و در خود غنی‌سازی کند، به طوری که Mohney و همکاران (۱۹۹۰) نشان دادند که این کرم می‌تواند با قرار گرفتن در محیط آب شور حاوی یک داروی غیرمحلول در آب (Rommet-30)، ۲/۵ برابر آرتیمیا این دارو را در خود غنی‌سازی کند. بنابراین، ترکیب بدن ریزکرم لزوماً توسط مخمر تعیین نمی‌شود و وجود روغن در محیط ممکن است به صورت

cerevisiae تغذیه می‌کند. در واقع تغییر محیط کشت یا اضافه کردن مواد مختلف از جمله انواع روغن به محیط کشت، باعث تغییر در میزان تولید یا ترکیب بدن مخمر می‌شود. در مطالعه Ricci و همکاران (۲۰۰۳) پرورش ریزکرم روی محیط کشت مصنوعی تشکیل شده از نشاسته ذرت، پپتون گوشت، گلوکز، مخمر و روغن آفتابگردان در مقایسه با محیط کشت تشکیل شده از جوی دوسر افزایش چشمگیر تولید ریزکرم را به همراه داشت. احتمالاً فراهم بودن نشاسته در این محیط کشت، دلیل اصلی افزایش میزان تولید این نماد بوده است. به همین دلیل، به نظر می‌رسد که در پژوهش حاضر نیز نوع نشاسته و ساده یا پیچیده بودن آن در منابع مختلف مثل سیب زمینی، جو و گندم عامل اصلی تنوع در میزان تولید ریزکرم بوده است.

از میان ۳ منبع نشاسته به کار رفته در این پژوهش، سیب زمینی عملکرد مناسب‌تری داشت. نکته قابل توجه اینکه تیمار مخلوط به دلیل فراهم کردن تنوع منابع نشاسته از همه تیمارهای دیگر تولید بالاتری فراهم کرد. Focken و همکاران (۲۰۰۶) نوزاد میگوی پاسبید غربی *Litopenaeus vannamei* را با میکروورم پرورش یافته توسط جوی دوسر و یا آرد گندم و ذرت (۵۰:۵۰) تغذیه کردند. نوزاد میگوی تغذیه شده با ریزکرم پرورش یافته با استفاده از آرد گندم و ذرت نسبت به تیمار دیگر زودتر به مرحله نوزاد پیشرفته رسیدند. در نتیجه می‌توان استنباط کرد که میکروورم تولید شده توسط این منبع غذایی، ترکیب متفاوت داشته است. در مطالعه حاضر بیشترین تعداد ریزکرم تولید شده مربوط به تیمار مخلوط-کنجد با میانگین حدود ۲۰۰۰۰ عدد در گرم محیط کشت به دست آمد که در مقایسه با مقدار میکروورم تولید شده در مطالعه Ricci و همکاران (۲۰۰۳) با میانگین ۲۴۱۰۰۰ بسیار کمتر یعنی حدود ۱۲ برابر است. به نظر می‌رسد دلیل اصلی، روش پرورش کرم است. در مطالعه مذکور از کیسه‌های با ابعاد ۳۵ × ۶۰ سانتی‌متر حاوی ۱۰۰ گرم تکه‌های ۱-۴ سانتی‌متری اسفنج استفاده شد. این روش پرورشی سطح بسیار وسیعی برای ریزکرم فراهم می‌کند. در مطالعه Buck و همکاران (۲۰۱۵) از بشر ۸۰۰ میلی‌لیتری استفاده شد و میزان محصول تولید شده حدود یک دهم مقدار به دست آمده در Ricci و همکاران (۲۰۰۳) ذکر شده است

روغن به کار رفته بود. به منظور درک تأثیر نوع روغن به کار رفته در محیط کشت روی ترکیب چربی‌های بدن ریزکرم به سنجش تکمیلی نیاز است، ولی طبق منابع مذکور می‌توان پیش‌بینی کرد که روغن کنجد و آفتابگردان تأثیر متفاوتی روی ترکیب اسیدهای چرب بدن ریزکرم خواهند داشت. Glencross (۲۰۰۹) ترکیب روغن آفتابگردان و روغن کنجد را گزارش کرده است. طبق این جدول (۳)، روغن آفتابگردان دارای اسید اولئیک کمتر نسبت به روغن کنجد است (۲۳٪ در مقابل ۴۳٪)، در حالی که مقدار اسید لینولئیک آن نسبت به روغن کنجد بیشتر است (۶۴٪ در مقابل ۴۱٪). بر این اساس می‌توان انتظار داشت که ریزکرم‌های پرورش یافته با استفاده از روغن کنجد به نسبت روغن آفتابگردان غنی‌تر از اسید اولئیک و ضعیف‌تر از اسید لینولئیک باشند.

مستقیم جذب و باعث افزایش کارایی تولید میکروورم و همچنین ترکیب بدن نمائند شود.

در نتایج سنجش تقریبی بدن ریزکرم مشاهده شد که افزودن هر نوع روغنی به محیط کشت باعث افزایش مقدار چربی کل بدن ریزکرم می‌شود و اختلاف معنی‌داری بین نوع روغن و میزان چربی کل بدن نمائند وجود ندارد. در تحقیقی که توسط Schlechtriem (۲۰۰۴) انجام شد، اندازه‌گیری میزان چربی کل و انواع اسیدهای چرب غنی شده در بدن ریزکرم نشان داد که غنی‌سازی محیط کشت ریزکرم تأثیر قابل توجهی روی مقدار و ترکیب چربی‌های بدن آن دارد. همچنین Ricci و همکاران (۲۰۰۳) با جایگزین کردن روغن ماهی و روغن کبد کاد به جای روغن آفتابگردان محصول بیشتری به‌دست نیاوردند، ولی ترکیب چربی بدن ریزکرم مطابق نوع

جدول ۳ ترکیب (درصد) اسیدهای چرب روغن آفتابگردان و کنجد (Glencross, 2009).

روغن کنجد	روغن آفتابگردان	اسید چرب
۱۰	۷	16:0
۶	۶	18:0
۴۳	۲۳	18:1n-9
۴۱	۶۴	18:2n-6
۱	-	20:0
۱۳	۱۷	SFA
۲۳	۴۱	MUFA
۶۴	۴۳	PUFA
۰	۰	lcPUFA
۰	۰	n-3 (omega-3)
۶۴	۴۳	n-6 (omega-6)

MUFA: monounsaturated fatty acids, PUFA: polyunsaturated fatty acids, SFA: saturated fatty acids, lcPUFA: long-chain polyunsaturated fatty acids.

می‌توان نتیجه گرفت که ترکیب مواد مغذی ریزکرم تفاوت داشته است. در نتیجه، محیط کشت می‌تواند ترکیب بدن ریزکرم را تعدیل کند. به طور کلی در تیمارهایی که روغن به محیط کشت افزوده شد و محتوای چربی بدن ریزکرم افزایش یافت، میزان پروتئین کاهش پیدا کرد. با توجه به تجمع چربی به دلیل

از طرف دیگر، محیط کشت نیز روی محتوای چربی کل بدن تأثیر داشت، به طوری که محیط کشت مخلوط و پس از آن جوی دوسر باعث تجمع بیشتر چربی در بدن ریزکرم شدند. با توجه به اینکه در پژوهش انجام شده توسط Focken و همکاران (۲۰۰۶) تغییر محیط کشت ریزکرم از جوی دوسر خالص به ذرت-گندم اثر متفاوتی روی نوزاد میگو داشته است.

سازی بسیار خوبی دارد. با توجه به قابلیت زنده ماندن این نماتد در آب شیرین و شور به مدت زیاد و تحرک دائمی در آب، جذابیت زیادی برای انواع آبزیان دارد. قابلیت غنی سازی بالا و جذابیت برای نوزاد آبزیان این نماتد را به گزینه مطلوبی برای پرورش نوزاد انواع آبزیان آب شیرین، آب شور و آبزیان زینتی تبدیل کرده است.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی را در این پژوهش شناسایی نکردند.

منابع

امینی چرمهینی، م. ۱۴۰۱. میکرو ورم، روش کشت و کاربرد آن در پرورش لارو ماهیان زینتی. آبزیان زینتی ۹: ۲۹-۳۷.

غلامپور، ع.، پیری، ح. ۱۳۹۱. میزان بلع دافنی ماگنا (*Daphnia magna*) تغذیه شده با جلبک‌های سبز آنکیسترودموس فالكاتوس (*Ankistrodesmus falcatus*) و سندسموس اوبلیکوس (*cenedesmus obliquus*). علوم و فنون شیلات ۲: ۳۱-۲۳.

هاف، اف. اچ.، اسنل، ت. دابلو. ۱۳۹۴. تکثیر و پرورش غذای زنده، دستورالعمل تکثیر و پرورش پلانکتون‌ها. مترجمین: آذری تاکامی، ق. و امینی چرمهینی، م. تهران. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ دوم، ۳۳۷ ص.

Affandi, I., Ikhwanuddin, M., Syahnon, M., Abol-Munafi, A. B. 2019. Growth and survival of enriched free-living nematode, *Panagrellus redivivus* as exogenous feeding for larvae of blue swimming crab, *Portunus pelagicus*. Aquaculture Reports 15: 1-6.

Biedenbach, J. M., Smith, L.L., Thomsen, T.K., Lawrence, A.L. 1989. Use of the nematode *Panagrellus redivivus* as an *Artemia* replacement in a larval penaeid diet. Journal of the World Aquaculture Society 20: 61-71.

فراهم بودن مقدار زیای روغن در محیط کشت، کاهش نسبت پروتئین نسبت به چربی و در نتیجه، کاهش درصد پروتئین منطقی به نظر می‌رسد. در مطالعه Schlechtriem (۲۰۰۴) غنی‌سازی با روغن آفتابگردان باعث افزایش میزان چربی کل از ۱۴ به ۲۳/۵٪ و کاهش پروتئین از ۶۱/۸ به ۵۰٪ ماده خشک شد که با نتایج تحقیق حاضر هم‌سوئی دارد. Buck و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که غنی‌سازی محیط کشت جوی دوسر با پپتون (۵ گرم در ۱۰۰ گرم محیط کشت) تأثیر چندانی روی ترکیب اسیدهای آمینه ندارد و ترکیب اسیدهای آمینه پایدار است. این در حالی است که Schlechtriem (۲۰۰۴) با مقایسه محیط کشت جوی دوسر خالص و محیط کشت نیمه مصنوعی، گزارش کرد که ترکیب محیط کشت تأثیر کاملاً معنی‌دار روی ترکیب اسیدهای آمینه ریزکرم دارد و برخلاف غذاهای زنده دیگر مثل آرتمیا و روتیفر، ترکیب اسیدهای آمینه ریزکرم می‌تواند طبق نیاز آبی پرورشی تعدیل شود. نتایج تحقیق اخیر مطابقت زیادی با نتایج پژوهش حاضر دارد، هرچند که افزودن روغن و نوع آن تأثیر چندانی روی ترکیب اسیدهای آمینه بدن ریزکرم ندارد.

نتیجه گیری کلی

در مجموع ترکیب محیط کشت اثر قابل توجهی روی کارایی تولید و میزان رشد و نمو میکروورم نشان داد. همچنین، ترکیب محیط کشت و افزودن روغن تأثیر زیادی روی ترکیب بدن میکروورم دارد و نشان می‌دهد این نماتد قابلیت غنی-

Bruggemann, J. 2012. Nematodes as live food in larviculture - a review. Journal of the World Aquaculture Society 43: 739-763.

Buck, B.H., Brüggemann, J., Hundt, M., Bischoff, A.A., Grote, B., Strieben, S., Hagen, W. 2015. Improving nematode culture techniques and their effects on amino acid profile with considerations on production costs. Journal of Applied Ichthyology 31: 1-9.

Das, P., Mandal, S.C., Bhagabati, S.K., Akhtar, M.S., Singh, S.K. 2012. Important live food organisms and their role in

- aquaculture. *Frontiers in Aquaculture* 5: 69-86.
- David, A.B. 2003. Status of marine aquaculture in relation to live prey: past, present and future. In: Josianne, G.S., Lesley, A.M. (Eds.), *Live feeds in marine aquaculture*. Blackwell publishing, UK, 1-16.
- de Lara, R., Castro, T., Castro, J., Castro, G. 2007. Cultivo del nematodo *Panagrellus redivivus* (Goodey, 1945) en un medio de avena enriquecida con *Spirulina* sp. *Revista de Biología Marínay Oceanografía* 42: 29-36.
- Focken, U., Schlechtriem, C., Von Wuthenau, M., García-Ortega, A., Puello-Cruz, A., Becker, K. 2006. *Panagrellus redivivus* mass produced on solid media as live food for *Litopenaeus vannamei* larvae. *Aquaculture Research* 37: 1429-1436.
- Glencross, B.D. 2009. Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. *Reviews in Aquaculture* 1: 71-124.
- Honnens, H., Ehlers, R.U. 2013. Liquid culture of *Panagrolaimus* sp. for use as food for marine aquaculture shrimp and fish species. *Nematology* 15: 417-429.
- Jahangard, A. 2003. Evaluation of free-living nematode *Panagrellus redivivus* as a live food organism for silver barb *Barbodes Gonionotus* larvae. PhD thesis, Universiti Putra Malaysia. 195 p.
- Kumlu, M., Fletcher, D.J., Fisher, C.M. 1998. Larval pigmentation, survival and growth of *Penaeus indicus* fed the nematode *Panagrellus redivivus* enriched with astaxanthin and various lipids. *Aquaculture Nutrition* 4: 193-200.
- Lim, C.L., Dhert, P., Soregloos, P. 2003. Recent developments in the application of live feeds in the freshwater ornamental fish culture. *Aquaculture* 227: 319-331.
- Mandal, S.C., Das, P., Singh, S.K., Bhagabati, S.K. 2009. Feeding of aquarium fishes with natural and artificial foods: available options and future needs. *Aquaculture International* 3: 20-23.
- New, M. 1999. Global aquaculture: current trends and challenges for the 21st century. *World Aquaculture* 30: 8-79.
- Ramee, S., Lipscomb, T., DiMaggio, M. 2019. *Microworm Culture for Use in Freshwater Ornamental Aquaculture*. EDIS, (2). Retrieved from <https://edis.ifas.ufl.edu/>
- Reyes, O.S., Duray, M.N., Santiago, C.B. Ricci, M. 2011. Growth and survival of grouper *Epinephelus coioides* (Hamilton) larvae fed free-living nematode *Panagrellus redivivus* at first feeding. *Aquaculture International* 19: 155-164.
- Ricci, M., Fifi, A. P., Ragni, A., Schlechtriem, C. Focken, U. 2003. Development of a low-cost technology for mass production of the free-living nematode *Panagrellus redivivus* as an alternative live food for first feeding fish larvae. *Applied Microbiology and Biotechnology* 60: 556-559.
- Rottmann, R.W. 1988. *Microworm culture for aquarium fish producers*. University of Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agriculture Sciences, EDIS, University of Florida, Gainesville.
- Rouse B.D., Webster C.D., Radwin I.A. 1992. Enhancement of the fatty acid composition of the nematode *Panagrellus redivivus* using three different media. *Journal of World Aquaculture Society* 23: 89-95.
- Sautter J., Kaiser, H., Focken, U., Becker, K. 2007. *Panagrellus redivivus* (Linne) as a live food organism in the early rearing of the catfish *Synodontis petricola* (Matthes). *Aquaculture Research* 38: 653-659.
- Slechtriem, C., Ricci, M., Focken, U., Becker, K. 2004. The suitability of the free-living nematode *Panagrellus redivivus* as live food for first-feeding fish larvae. *Journal of Applied Ichthyology* 20: 161-168.

Walsh, M.L. 2012. Examining conditioning strategies for flatfish stock enhancement to promote feeding success. Ph.D.

dissertation, University of New Hampshire, Durham, NH, USA.