magiran.com

اثر غلظت و مدت زمان در غنی سازی روتیفر *Brachionus plicatilis* با امولسیون روغن ماهی کاد با تاکید بر اسیدهای چرب

مازیار یحیوی و محمدرضا فرزانه

Maziar_yahyavi@yahoo.com

دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس، صندوق پستی: ۱۳۱۱-۷۹۱۵۹

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۸۷ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۸۸

چکیده

در این تحقیق اثر غلظت و دوره زمانی غنی‌سازی با امولسیون روغن ماهی کاد بر ترکیب اسیدهای چرب روتیفر *Brachionus plicatilis* و تراکم جمعیت آنها مورد مطالعه قرار گرفت. روتیفرهای تغذیه شده با مخمر (*Saccharomyces cerevisiae*) با سه غلظت (۴ ، ۸ و ۱۲ درصد) متفاوت از امولسیون روغن کبد ماهی کاد غنی‌سازی شدند. روتیفرها در زمانهای صفر، ۳، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت بعد از غنی‌سازی نمونه‌برداری گردیدند. با گذشت ۳ ساعت از غنی‌سازی، میزان کل چربی موجود در روتیفرها بطور معنی‌داری افزایش یافت ($P<0/05$) و با افزایش درصد روغن نیز این میزان افزایش یافته ولی معنی‌دار نبود ($P<0/05$). افزایش زمان غنی‌سازی نسبت به میزان روغن موجود در محیط پرورش در افزایش میزان اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره n-3 در روتیفرها موثرتر بود. روتیفرها اسید چرب ایکوزاپنتانوئیک اسید (۲۰:۵n۳) را بهتر از اسید چرب دکوزاهگزانوئیک اسید (۲۲:۶n۳) با وجود نسبت بین این دو اسید چرب در امولسیون روغن در خود نگهداری و منعکس می‌نمایند.

لغات کلیدی : روتیفر *Brachionus plicatilis*، غنی‌سازی، امولسیون چربی، n-3 HUFA، EPA/DHA

مقدمه

لارو آبزیان بویژه ماهیان دریایی و سخت‌پوستان جهت تکامل و بقاء خود به اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره از قبیل ایکوزاپنتانوئیک اسید و دکوزاهگزانوئیک اسید نیازمند می‌باشند (Izquierdo, ; Rodriguez *et al.*, 1993 ;Rodriguez *et al.*, 1994 1988) . روتیفر *Brachionus plicatilis* به جهت خصوصیاتی که دارند اهمیت ویژه‌ای در پرورش لارو آبزیان دریایی داشته و بوفور استفاده می‌شوند. از ویژگیهای روتیفرها می‌توان به اندازه کوچک و مناسب (۷۰ تا ۳۳۰ میکرون) آنها اشاره نمود. سرعت تکثیر و رشد فوق‌العاده زیاد، کافی بودن ترکیبات غذایی، حرکت نسبتاً ملایم در آب، ریزه‌خوار بودن، امکان غنی‌سازی و اقتصادی بودن آنها اشاره نمود (Watanabe *et al.*, 1993). اگر چه روتیفرها قادرند.بخشی از اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره از خانواده n-3 را سنتز نمایند اما این میزان ناچیز بوده و برای برآورده نمودن نیاز لارو ماهیان دریایی کافی نیستند (Lubzens *et al.*, 1985). از تکنیکهای مختلف غنی‌سازی جهت افزایش میزان اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره در روتیفرها از قبیل افزایش امولسیون‌های روغن به محیطهای پرورشی آنها می‌توان استفاده نمود (Watanabe *et al.*, 1982 ;Watanabe *et al.*, 1983). مطالعات پیشین نشان داده‌اند که ترکیب اسیدهای چرب روتیفرها تحت تاثیر میزان این اسیدهای چرب در جیره‌های

* نویسندهٔ مسئول

magiran.com

غـذایی آنهـا بـود و همچنـین میـزان ایکوزاپنتانوئیـک اسـید و دکوزاهگزانوئیک اسید در روتیفرها در تعیین ارزش غـذایی آنهـا بعنـوان غـذای زنـده مـوثر مـی‌باشـد (یحیـوی و آذری، ۱۳۸۶؛ Rainuzzo *et al.*, 1989). میزان EPA و DHA در روتیفرهـا نه تنها به میزان این اسیدهای چرب در امولسیونهای روغن بلکـه به شرایط غنی‌سازی آنها نیز بـستگی دارد (Izquierdo, 1988; Rainuzzo *et al.*, 1994a; Rainuzzo *et al.*, 1994b).

با توجه به توسعه طرحهای پرورش میگو در منـاطق مـستعد کشور و برنامه‌ریزی جهت ماهیان دریـایی؛ نیـاز بـه لاروهـای بـا کیفیت بالا جهت این صنعت روز به روز افزایش می‌یابد. پـرورش لارو بویژه تغذیه اولیـه آنهـا یکـی از تنگناهـای اصـلی در ارتقـاء صنعت پرورش آبزیـان از جملـه ماهیـان (هـامور، سـرخو و...) و سخت‌پوستان (میگو، خرچنگ و...) مـی‌باشـد (Sorgeloos *et al.*, 1998). پرورش آبزیان در مرحله لاروی بسیار حساس و مهم بوده و تلفات عمده‌ای را اغلب بـروز مـی‌دهـد و سـبب خسارت و مشکلات اقتصادی خواهد شـد. یکـی از مـواردی که می‌توانـد بـه افـزایش رشـد و بازمانـدگی مرحلـه لاروی آبزیان کمک نماید دقت در رساندن مواد غذایی غنـی‌تـر در تغذیه لاروی آنها می‌باشد (Watanabe *et al.*, 1982). ارزش و کیفیت غذا را اجزاء تشکیل‌دهندهٔ آن تعیین می‌کند که از میـان ایـن اجـزاء نـوع و کیفیـت اسـیدهای چـرب نقـش تعیین‌کننده‌ای بر کیفیت و قیمت غذا و در نهایـت کیفیـت لاروهای تولیدی دارند (Watanabe *et al.*, 1982).

اسیدهای چرب غیراشباع نقش مهمی در فعالیتهای زیستی و فیزیولوژیکی آبزیان ایفاء مـی‌نماینـد. مطالعـات مربـوط بـه نیـاز سخت‌پوستان دریایی به اسیدهای چرب ضروری از اواسـط دهـهٔ ۱۹۷۰ مـیلادی آغـاز شـده اسـت (Sorgeloos *et al.*, 1998). بررسی‌ها نشان داده‌اند که عدم برخورداری و همچنین عدم سنتز سریع اسـیدهای چـرب غیراشـباع بلنـد زنجیـره بـویژه EPA و DHA توسط لارو میگو و ماهیان دریایی، رشد و بازماندگی آنهـا را در مراکز تکثیر کاهش می‌دهد. نقـش حیـاتی ایـن اسـیدهای چـرب دخالـت در سـاختار غـشایی و حفـظ خاصـیت ارتجـاعی غشاهای بدن، تنظیم سیستم اسمزی، سـنتز هورمونهـای غـدد درون‌ریز و همچنین فعال نمودن سیـستم ایمنـی بـدن آنهاسـت (Leger & Sorgeloos, 1992). از طرفی غذاهای زنده از جمله روتیفرها بـه جهـت خـصوصیاتی کـه دارنـد اهمیـت ویـژه‌ای در پرورش لارو آبزیان داشته و بوفور استفاده می‌شوند که مـی‌توانـد جایگزین مناسبی برای آرتمیا باشد و همچنین از تلفات لاروهای میگو در مراحل مایسیس و لارو ماهیان دریایی بـه میـزان قابـل توجهی بکاهـد (یحیـوی و آذری، ۱۳۸۶ و یحیـوی و همکـاران، ۱۳۸۵). غنی‌سازی غذاهای زنده بـا اسـیدهای چـرب در بهبـود ارزش‌های غذایی، رشد، بازماندگی و مقاومت در برابر استرسهای محیطی لاروهای تغذیه شده از آنها مـوثر مـی‌باشـند (یحیـوی و آذری، ۱۳۸۶ و یحیوی و همکاران، ۱۳۸۵). با توجه به موارد ذکر شده، در این تحقیق سعی گردید که بـه غنـی‌سـازی روتیفـر بـا امولسیون روغن کاد با غلظتها و زمانهای متفاوت اقـدام و نتـایج حاصله نشان داده شود.

مواد و روش کار

این بررسی در مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر آبزیـان کلاهـی واقع در بندر کلاهی شهرستان میناب وابسته به اداره کل شیلات استان هرمزگان اجراء شد. به منظور کشت و پرورش روتیفـر در حجم زیاد، ابتدا روتیفرهای موجود که قـبلاً جداسـازی و کـشت شده بودند مجدداً مورد بررسی قرار گرفتند تا احیاناً اگـر عوامـل مزاحم مانند مژه‌داران در محیط آنها وجود داشته باشـند نـسبت به رفع آنها با استفاده از فرمالین با غلظت ۲۰ میلیگـرم در لیتـر اقـدام گـردد (Dhert, 1996). یـک نمونـه خـالص از روتیفـر (*Brachionus plicatilis*) تهیه و در سه لوله آزمـایش حـاوی مخمر (*Saccharomyces cerevisiae*) قرار داده و در کنار نـور لامپ فلوئورسنت و هـوادهی خفیـف نگهـداری شـدند. هـر روز تعداد آنها در یک میلی‌لیتر در زیر میکروسکوپ شمارش و ثبـت گردید تا روز سوم که تعداد آنها به ۱۰ تا ۲۰ عدد در میلی‌لیتـر رسید و روزانه با افزایش یک گرم مخمـر بـه ازای یـک میلیـون روتیفر، غذای مورد نیاز آنها تامین گردید. بعد از گذشت سـه تـا چهار روز، تعداد روتیفرها به ۸۰ تا ۱۰۰ عدد در میلی‌لیتر رسـید و این تراکم بالا سبب کاهش شدید غذا در آب شد. لذا با شـفاف شدن آب اقدام به افزودن مخمر به همان میزان بیان شده قبلـی گردید. در روز پنجم پس از بررسی نمونـه‌هـا مـشخص شـد کـه تراکم آنها به بالای ۱۵۰ عدد در میلی‌لیتر رسیده است. آنگاه دو ظرف ۱/۵ لیتری تهیه و سپس محتویات دو لوله آزمـایش درون ظرف ۱/۵ لیتری اول و محتویات لوله آزمایش سوم را بـه درون ظرف ۱/۵ لیتری دوم ریخته شد. دو ظرف ۱/۵ لیتـری مزبـور را در کنار نـور مهتـابی بـه میـزان ۳۰۰۰ لـوکس و بـه فاصـله ۲۰ سانتیمتر نگهداری نمود و سپس هر روز تعداد روتیفرها در واحد حجم شمارش و ثبـت گردیـد. بعـد از چهـار و پـنج روز تـراکم روتیفرها در ظرف اولی به بیش از ۸۰ تا ۱۰۰ عدد در میلـی‌لیتـر

magiran.com

رسید. در مرحله بعد ظروف ۲۰ لیتری تهیه شده و به هر ظرف ۲۰ لیتری دو ظرف ۱/۵ لیتری با تراکم روتیفر ۸۰ تا ۱۰۰ عدد در میلی‌لیتر بعنوان ذخیره اولیه اضافه گردید. در این مرحله نیز هوادهی توسط پمپ هوا، شلنگ و سنگ هوا تامین شد بنحویکه هوادهی بسیار شدید نباشد تا از خسارت فیزیکی به جمعیت روتیفرها جلوگیری بعمل آمد. چون روتیفرها برای بقا به میزان کمی از اکسیژن در حد ۲ میلیگرم در لیتر نیاز دارند لذا نور مورد نیاز از دو لامپ مهتابی به میزان ۳۰۰۰ لوکس و در فاصله حدوداً ۲۰ سانتیمتر در بالای ظروف مذکور تامین شد. روزانه تراکم روتیفرها شمارش گردید تا به تراکم مناسب که بیش از ۱۰۰ عدد در میلی لیتر است برسند که این مدت نیز پنج روز بطول انجامید. تمامی این مراحل در محیط آزمایشگاه بود و پس از آن به فضای آزاد و یک محل مسقف بدور از تابش مستقیم نور خورشید انتقال یافت و در تانکهای مدور فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری و سپس ۴ تنی و با انجام هوادهی پرورش ادامه یافت. در این تانکها تراکم روتیفرها به ۲۰۰ تا ۳۰۰ عدد در میلی لیتر رسید که روزانه از طریق سیفون کردن آب بداخل فیلترهای کیسه‌ای با اندازه چشمه ۷۰ میکرون برداشت و استفاده شد (Dhert, 1996).

در این تحقیق چهار تیمار با ۳ تکرار در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به شرح ذیل آماده و استفاده گردید:

۱ - تیمار شاهد: روتیفرهای بدون غنی سازی (روتیفرهای پرورش یافته بر روی مخمر- شرایط معمول پرورش روتیفرها)

۲ - تیمار ۱ آزمایش: روتیفرهای غنی شده با امولسیون روغن کبد ماهی کاد (با غلظت ۴ درصد)

۳ - تیمار ۲ آزمایش: روتیفرهای غنی شده با امولسیون روغن کبد ماهی کاد (با غلظت ۸ درصد)

۴ - تیمار ۳ آزمایش: روتیفرهای غنی شده با امولسیون روغن کبد ماهی کاد (با غلظت ۱۲ درصد)

که هر کدام در زمانهای صفر، ۳، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت غنی‌سازی و سپس به منظور تعیین میزان اسیدهای چرب نمونه‌برداری و مورد آزمایش قرار گرفتند.

روش مورد استفاده در غنی‌سازی روتیفرها تهیه امولسیون روغن با استفاده از روغن ماهیان دریایی می‌باشد. این محلول غنی‌سازی در واقع همان امولسیون روغن کبد ماهی کاد است که بدین منظور از روغن کبد ماهی کاد محصول شرکت Seven (Seas) انگلستان استفاده و جهت آماده‌سازی امولسیون روغن به روش و اتانابه و همکاران در سالهای ۱۹۸۲ و ۱۹۸۳ و اصلاح شده توسط دهرت در سال ۱۹۹۶ بشرح ذیل اقدام گردید. بدین منظور مخلوطی از آب دریا (۱۰۰ میلی‌لیتر)، روغن کبد ماهی کاد (به میزان مورد نیاز) و زرده تخم‌مرغ (۱ گرم) تهیه و مولتی ویتامین و ویتامین E نیز بترتیب در حدود ۰/۵ و ۰/۱ درصد وزن یا حجم مخلوط روغن بالا به آن اضافه شد و سپس به مدت ۲ دقیقه توسط مخلوط کن ترکیب گشته و آماده مصرف شد. این امولسیون به مدت یک هفته در یخچال قابل نگهداری خواهد بود (Watanabe *et al.*, 1982 ;Watanabe *et al.*, 1983). به منظور غنی‌سازی روتیفرها از امولسیون تهیه شده به میزان ۱۵۰ تا ۲۵۰ قسمت در میلیون با توجه به تراکم روتیفرها که ۲۰۰ عدد در میلی‌لیتر در نظر گرفته شده بود، استفاده گردید (Watanabe *et al.*, 1982). روزانه روتیفرها از تانکهای ۴ تنی خارج از سالن از طریق سیفون کردن آب بداخل فیلترهای کیسه‌ای با اندازه چشمه ۷۰ میکرون برداشت و پس از شمارش تعداد روتیفرها در میلی‌لیتر در زیر میکروسکوپ و تعیین تراکم به ظروف ۱/۵ لیتری داخل آزمایشگاه منتقل و غنی‌سازی آنها در زمانهای ۳، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت انجام گردید. پس از ۲۴ ساعت غنی‌سازی، تراکم روتیفرها در میلی‌لیتر در زیر میکروسکوپ بررسی و درصد کاهش آنها نسبت به تراکم اولیه ثبت گردید.

جهت مشخص شدن میزان و ترکیب اسیدهای چرب (بر حسب میلیگرم/ گرم وزن خشک) در تیمارهای مذکور بطور منظم اقدام به نمونه‌برداری نموده و نمونه‌های برداشت شده تا زمان آنالیزهای مربوطه در دمای ۳۰- درجه سانتیگراد در فریزر نگهداری شد. جهت آنالیز متیل استر اسیدهای چرب به روش لیپاژ و روی (۱۹۸۴) به آزمایشگاه انتقال داده شدند. در آزمایشگاه استر اسیدهای چرب مربوطه تهیه و سپس به دستگاه گاز کروماتوگراقی (GC) از نوع Shimadzu – 8A با ستون FID تزریق و سنجش گردید (Lepage & Roy, 1984).

میزان اسیدهای چرب وارزشهای غذایی هر یک مشخص و ابتدا تحت آنالیز واریانس یکطرفه (One-way ANOVA) قرار گرفت و سپس توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن، اختلافات بین آنها در سطح اطمینان (۰/۰۵) تعیین گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از برنامه‌های SPSS، STATGRAPH و EXCEL انجام گرفت.

نتایج

میزان اسیدهای چرب روتیفرهای تغذیه شده با مخمر و روغن کبد ماهی کاد استفاده شده در غنی‌سازی آنها در جدول ۱ نشان

magiran.com

داده شده است. کل چربی موجود در روتیفرهای تغذیه شده با مخمر (تیمار شاهد) در حدود ۱۰/۱۵ درصد وزن خشک آنها بود. ترکیب اسیدهای چرب روغن کبد ماهی کاد بکار رفته نشان می‌دهد که شامل ۱۸/۷۱ درصد اسیدهای چرب اشباع و ۲۷/۸۵ درصد اسیدهای چرب غیراشباع تک زنجیره بود که مقادیر نسبتاً بالای است. همچنین EPA تقریباً دو برابر DHA (نسبت EPA/DHA در حدود ۲/۲۴ می‌باشد) بود که قابل توجه می‌باشد. اسیدهای چرب گروه ۶ –n نیز در حدود ۵/۴۰ درصد بود که نسبت به سایر گروههای موجود کمترین میزان را داشت.

میزان کل اسیدهای چربی موجود در روتیفرها با افزایش زمان غنی‌سازی و همچنین با زیاد شدن درصد روغن بکار گرفته شده برای پرورش آنها، افزایش یافته است (جدول ۲). بطوریکه با گذشت ۳ ساعت از غنی‌سازی در تیمارهای آزمایشی ۱، ۲ و ۳، میزان کل چربی بدن روتیفرها بطور معنی‌داری افزایش نشان می‌دهد ($P<0/05$). در صورتیکه با افزایش غلظت روغن در تیمارهای آزمایشی ۱، ۲ و ۳، افزایش معنی داری مشاهده نشد. بیشترین میزان چربی در بدن روتیفر زمانی مشاهده می‌گردد که میزان غلظت روغن جهت غنی‌سازی ۱۲ درصد و زمان غنی‌سازی نیز ۲۴ ساعت بود.

جدول ۳ بترتیب تفاوت گروههای اصلی اسیدهای چرب موجود در روتیفرهای غنی‌سازی شده با غلظتهای ۴، ۸ و ۱۲ درصد روغن (تیمارهای آزمایشی ۱، ۲ و ۳) را در زمانهای متفاوت غنی‌سازی نشان می‌دهد. به رغم میزان بالای اسیدهای چرب اشباع در روغن استفاده شده (۱۸/۷۱ درصد)، این گروه در تیمارهای آزمایشی با گذشت زمان به میزان کمی تغییر نموده و اختلافات آنها معنی‌دار نبود. اسیدهای چرب غیراشباع تک زنجیره (میزان آن در روغن ۲۷/۸۵ درصد) بعد از گذشت ۳ ساعت از غنی‌سازی در همه تیمارهای موجود تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($P< 0/05$). اسیدهای چرب گروه ۶ – n که در روغن مورد استفاده تنها به میزان ۵/۴۰ درصد موجود بود بعد از ۳ ساعت غنی‌سازی در تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید مانند آنچه که در اسیدهای چرب غیراشباع تک زنجیره دیده شد. در حالیکه در زمانهای غنی‌سازی بیشتر از ۳ ساعت، افزایش بیشتری در میزان این گروه از اسیدهای چرب دیده نشد. همچنین در تمامی تیمارهای موجود، می‌توان یک تفاوت معنی‌دار را در میزان n-۳ HUFA بعد از ۳ ساعت غنی‌سازی در مقایسه با نمونه‌های غنی‌سازی نشده مشاهده نمود. برخلاف دیگر گروههای اسیدهای چرب، میزان n– ۳ HUFA بعد از ۱۲ ساعت غنی‌سازی در مقایسه با ۳ ساعت بطور معنی‌داری افزایش نشان داد ($P < 0/05$).

با بکارگیری این منبع چربی، افزایش غلظت روغن در محیط پرورشی روتیفرها موجب یک افزایش معنی‌دار در هر یک از گروههای اسیدهای چرب در دوره‌های زمانی غنی‌سازی نمی‌شود. بنابراین، در بهبود اسیدهای چرب روتیفرها، افزایش زمان غنی‌سازی نسبت به میزان روغن موجود در محیط موثرتر می‌باشد.

در جدول ۴ نسبتهای EPA/DHA در تیمارهای مختلف و در زمانهای متفاوت غنی‌سازی نشان داده شده است. بطوریکه با افزایش زمان و غلظت روغن، اختلاف معنی‌داری در نسبت EPA/DHA در روتیفرهای غنی‌سازی شده مشاهده نگردید ($P<0/05$). هرچند که، نسبت EPA/DHA موجود در روغن غنی‌سازی قابل توجه می‌باشد (۲/۲۴) اما روتیفرها همیشه این نسبت را افزایش داده و بعد از غنی‌سازی، EPA را بهتر از DHA در خود نگهداری می‌نمایند.

نمودار ۱ نتایج حاصل از تاثیر افزایش غلظت روغن کبد ماهی کاد بر روی تراکم جمعیت روتیفرها بعد از ۲۴ ساعت غنی‌سازی را نشان می‌دهد. زمانی که از ۴ درصد غلظت روغن برای غنی‌سازی استفاده می‌گردد، تراکم جمعیت روتیفرها به میزان کمتری کاهش می‌یابد در حالیکه در غلظتهای ۸ و ۱۲ درصد، میزان کاهش تراکم جمعیت روتیفرها به میزان بیشتری مشاهده گردید. بعد از ۲۴ ساعت غنی‌سازی، تعداد روتیفرها در میلی‌لیتر در غلظتهای ۴، ۸ و ۱۲ درصد از روغن کبد ماهی کاد بترتیب ۸، ۳۱ و ۲۳ درصد کاهش نشان داد.

HUFA = High Unsaturated Fatty Acid

EPA= Eicosapentaenoic Acid

DHA= Docosahexaenoic Acid

magiran.com

جدول ۱: ترکیب اسیدهای چرب روتیفرهای تغذیه شده با مخمر و روغن استفاده شده درغنی سازی آنها

اسیدهای چرب	تیمار شاهد (روتیفرتغذیه شده با مخمر) (درصد وزن خشک)	روغن کبد ماهی کاد استفاده شده (درصد از لیپید)
۱٤:۰	۰/۳٤±۰/۰۵	۷/۱٦
۱٦:۰	۰/۸۸±۰/۰٦	۸/۹۵
۱٦:۱	۰/۱۷±۰/۰٤	۱/۰۸
۱٦:۱ n–۷	۲/۸٦±۰/۰۲	۹/۱۲
۱٦:۱ n–۵	۰/۰۳±۰/۰۱	۲/۲۱
۱٦:۳ n–٦	۰/۰٦ ±۰/۰۲	۱/۰٦
۱٦:٤ n–۳	۰/۰۲±۰/۰۱	۲/۵۱
۱۸:۰	۰/۳۲±۰/۰۳	۱/٦۰
۱۸:۱n–۱۱	۰/۱۸±۰/۰۱	۱/۲۸
۱۸:۱ n–۹	۲/٤۱±۰/۱۹	۹/۱۳
۱۸:۱ n–۷	۰/۳۹±۰/۰٤	۱/۲۵
۱۸:۲ n–۹	۰/۳۰±۰/۰۲	۱/۳۳
۱۸:۲ n–٦	۰/۱۰±۰/۰۲	۱/۷۵
۲۰:۱ n–۱۱	۰/۱۱±۰/۰۲	۱/۱۲
۲۰:۱ n–۹	۰/۱۸±۰/۰۱	۱/٤۰
۲۰:۱ n–۷	۰/۰۵±۰/۰۱	۱/۱۱
۲۰:٤ n–٦	۰/۰۳ ± ۰/۰۱	۱/۷۳
۲۰:۵ n–۳ (EPA)	۰/۰۲±۰/۰۱	۱۹/۰۲
۲۲:۱n–۹	۰/۰۳±۰/۰۱	۱/۱۷
۲۲:۳ n–٦	۰/۰٤± ۰/۰۲	۰/۷۷
۲۲:۵ n–٦	۰/۰۳ ± ۰/۰۱	۰/۰۹
۲۲:۵ n–۳	۰/۰۳ ± ۰/۰۱	۳/٤۳
۲۲:٦ n–۳ (DHA)	۰/۰۱±۰/۰	۸/٤۹
EPA/DHA	۱/۹۱	۲/۲٤
اشباع	۱/۵٤±۰/۰۷	۱۸/۷۱
تک زنجیره‌ای غیراشباع	٦/٤۱±۰/۱۸	۲۷/۸۵
n–٦	۰/۲۸±۰/۰٤	۵/٤۰
n–۳ HUFA	۰/۰۸±۰/۰۱	۳۳/٤۵

magiran.com

جدول ۲ : میزان کل چربی موجود در روتیفرهای غنی‌سازی شده با روغن کبد ماهی کاد (برحسب درصد وزن خشک)

زمان غنی‌سازی (ساعت)	تیمار ۱ (غلظت ٤ درصد)	تیمار ۲ (غلظت ۸ درصد)	تیمار ۳ (غلظت ۱۲ درصد)
۰	$۱۰/۱۵\pm۰/۷^{Aa}$	$۱۰/۱۵\pm۰/۷^{Aa}$	$۱۰/۱۵\pm۰/۷^{Aa}$
۳	$۱٦/۹۷\pm۱/۹۱^{Ab}$	$۱۹/۱٤\pm۱/۱۳^{Ab}$	$۲۲/۵۰\pm۲/٦۳^{Ab}$
٦	$۱۷/۷۷\pm۰/۵^{Ab}$	$۱۷/۹۵\pm۱/۱^{Ab}$	$۲۳/۱۷\pm۳/۲^{Ab}$
۱۲	$۲۰/٤۰\pm۱/۵^{Ab}$	$۲۱/۸۸\pm۲/۳^{Ab}$	$۲۸/۲۱\pm٤/۱^{Ab}$
۲٤	$۲۲/۲۱\pm۱/۲^{Ab}$	$۲٦/٤٤\pm۳/۸^{Ab}$	$۳۱/۹۲\pm۲/۱^{Ab}$

(میانگین± انحراف معیار، حروف بزرگ بیانگر اختلاف معنی‌دار براساس ردیف (غلظت روغن) و حروف کوچک بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در ستون (زمان غنی‌سازی) هستند ($P < ۰/۰۵$)). (تعداد نمونه‌ها در هرگروه ۳ = n می باشد).

جدول ۳ : ترکیب گروههای اصلی اسیدهای چرب در تیمارهای آزمایش در زمانهای متفاوت (برحسب درصد وزن خشک)

تیمار ۱ (غلظت ٤ درصد)

زمان غنی سازی (ساعت)	اسیدهای چرب اشباع	اسیدهای چرب غیراشباع تک زنجیره	اسیدهای چرب گروه n-٦	اسیدهای چرب گروه n -۳ HUFA
۰	$۱/۸^{a}$	$۷/۲^{a}$	$۰/۰۵^{a}$	$۰/۰٤^{a}$
۳	$۲/۱^{a}$	$۹/۸^{b}$	$۰/۹^{b}$	$۱/۳^{b}$
٦	$۱/۹^{a}$	$۸/۱^{ab}$	$۱/۱^{b}$	$۲/۷^{bc}$
۱۲	۲^{a}	$۸/۳^{ab}$	$۱/٤^{b}$	$٤/۱^{c}$
۲٤	$۲/٤^{a}$	$۱۰/۱^{b}$	$۱/۳^{b}$	$۳/۳^{c}$

تیمار ۲ (غلظت ۸ درصد)

زمان غنی سازی (ساعت)	اسیدهای چرب اشباع	اسیدهای چرب غیراشباع تک زنجیره	اسیدهای چرب گروه n-٦	اسیدهای چرب گروه n -۳ HUFA
۰	$۱/ ۸^{a}$	$٦/۹^{a}$	$۰/۰٤^{a}$	$۰/۰۳^{a}$
۳	$۳/۱^{a}$	$۹/۲^{b}$	$۱/۲^{b}$	$۱/۸^{b}$
٦	$۲/۲^{a}$	$۸/۳^{ab}$	$۱/۳^{b}$	$۲/٦^{bc}$
۱۲	$۲/٤^{a}$	$۸/٤^{ab}$	$۱/٦^{b}$	$۳/۸^{cd}$
۲٤	$۳/۵^{a}$	$۱۰/۱^{b}$	$۱/۸^{b}$	$٤/۹^{d}$

تیمار ۳ (غلظت ۱۲ درصد)

زمان غنی‌سازی (ساعت)	اسیدهای چرب اشباع	اسیدهای چرب غیراشباع تک زنجیره	اسیدهای چرب گروه n-٦	اسیدهای چرب گروه n-۳ HUFA
۰	$۱/۷^{a}$	$۷/٤^{a}$	$۰/۰٤^{a}$	$۰/۰۳^{a}$
۳	$۳/۳^{a}$	$۱۰/٦^{b}$	$۱/۸^{b}$	$۲/۷^{b}$
٦	$۳/۲^{a}$	$۱۰/٤^{b}$	$۱/۹^{b}$	$۲/۹^{b}$
۱۲	$۳/۱^{a}$	$۱۰/۸^{b}$	$۲/۱^{b}$	$٤/٦^{c}$
۲٤	۳^{a}	$۱۲/٦^{b}$	$۲/۲^{b}$	$٦/۱^{c}$

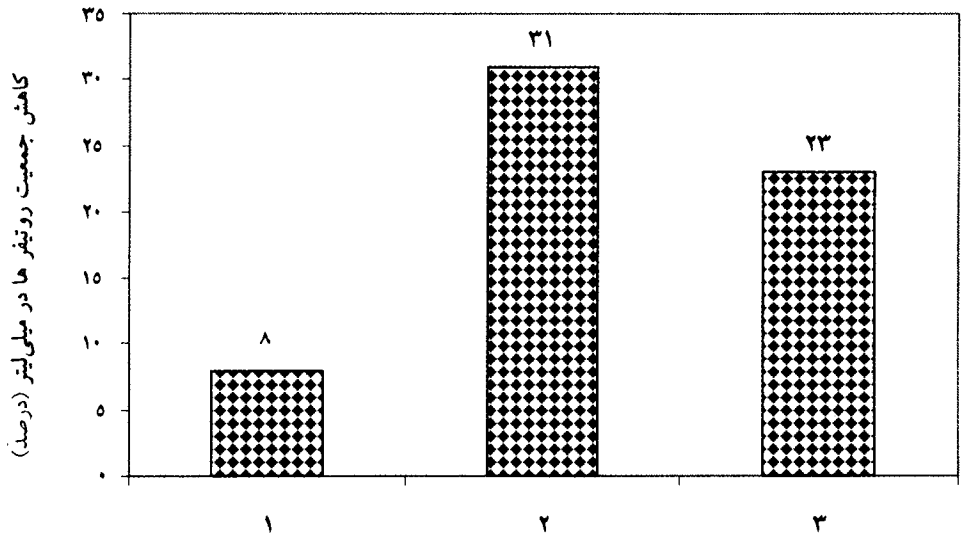
(میانگین ± انحراف معیار، اعداد در یک ستون با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P < ۰/۰۵$)). (تعداد نمونه‌ها در هرگروه ۳ = n می‌باشد).

magiran.com

جدول ٤ : نسبت EPA/DHA در روتیفرهای غنی‌سازی شده با امولسیون روغن کبد ماهی کاد

زمان غنی‌سازی (ساعت)	تیمار ۱ (غلظت ٤ درصد)	تیمار ۲ (غلظت ۸ درصد)	تیمار ۳ (غلظت ۱۲ درصد)
۳	۲/٦±۰/٦	۳/۷±۰/۱	۲/٦±۰/۰
٦	۳/٦±۰/۲	۳/٦±۰/٤	۳/۱±۰/۲
۱۲	۲/۷±۰/۱	۳/۱±۰/۰	۲/۷±۰/۱
۲٤	۲/۷±۰/۳	۲/۷±۰/۳	۲/٦±۰/۲

(میانگین ± انحراف معیار ، ستونها و ردیفهای فاقد حروف دارای اختلاف معنی‌دار نیستند ($P < ۰/۰۵$)). (تعداد نمونه‌ها در هرگروه ۳ = n می‌باشد).



نمودار ۱ : کاهش تراکم جمعیت روتیفرها در میلی‌لیتر بعد از ۲٤ ساعت غنی‌سازی در تیمارهای آزمایشی: تیمار ۱ (غلظت روغن ٤ درصد)؛ تیمار ۲ (غلظت روغن ۸ درصد) و تیمار ۳ (غلظت روغن ۱۲ درصد).

بحث

افزایش سریع در میزان کل چربی در روتیفرهای غنی‌سازی شده مشابه گزارشهای موجود توسط سایر محققین می‌باشد که با امولسیونهای چربی (Izquierdo ; Rainuzzo *et al.*, 1994a Rainuzzo *et al.*, ;Watanabe *et al.*, 1983 ; *et al.*, 1989 1994b) یا غذاهای تجاری (Fernandez *et al.*, 1987) اقدام به غنی‌سازی روتیفرها نمودند. بطور معمول، ترکیب اسیدهای چرب موجود در روتیفرها منعکس‌کننده امولسیونهای غنی‌سازی آنها می‌باشد (Izquierdo, ;Rainuzzo *et al.*, , 1994a,b 1988,1989; Rodriguez *et al.*, 1993,1994). هر چند که الگوهای معینی را می‌توان در ترکیب گروههای مختلف اسیدهای چرب مشاهده نمود، احتمالاً به سبب فعالیتهای متابولیک یا همبستگی آنزیماتیک آنها می‌باشد. در این مطالعه مشخص

magiran.com

گردید که میزان اسیدهای چرب غیراشباع تک زنجیره‌ای موجود در روتیفرهای غنی‌سازی شده نسبت به سایر گروههای اسیدهای چرب قابل توجه می باشد. به نظر می‌رسد که رفتار روتیفرها در مورد اسیدهای چرب n-۶ و n-۳ متفاوت از اسیدهای چرب اشباع و تک زنجیره است. در این مورد، بعد از ۳ ساعت غنی‌سازی، اسیدهای چرب n-۶ مقادیر بالاتری از ۱۰ برابر نسبت به روتیفرهای ابتدایی بدست آورده که دیگر محققین نیز آن را کاملاً نشان دادند. همچنین اسیدهای چرب n-۳ HUFA نیز بعد از ۳ ساعت غنی‌سازی به میزان بالایی در روتیفرها جذب شدند (Rainuzzo *et al.*, 1989).

افزایش زمان غنی‌سازی جهت دستیابی به میزان بالاتر n-۳ HUFA در روتیفرها نسبت به میزان روغن موجود در محیط پرورش موثرتر می‌باشد. هر چند که بعد از ۲۴ ساعت غنی‌سازی میزان n-۳ HUFA زمانیکه غلظت روغن پایین باشد (۴ درصد) کاهش یافته است. این مطلب مبین آن است که چنانچه دوره غنی‌سازی طولانی‌تر باشد (۲۴ ساعت) روغن با غلظت ۴ درصد کافی نمی‌باشد.

Walford و Lam در سال ۱۹۸۷، استفاده از میکروکپسولها را برای غنی‌سازی بیشتر از ۵ ساعت توصیه نمود و حداکثر جذب n-۳ HUFA را بعد از ۱۲ ساعت مشاهده نمودند.

Watanabe در سال ۱۹۹۳، با توجه به اینکه مطلوبترین زمان غنی‌سازی برای روتیفرها و ناپلی آرتمیای که از امولسیونهای چربی تغذیه نمودند ۱۲ ساعت می‌باشد، زمان غنی‌سازی را در حدود ۶ ساعت پیشنهاد نموده است. McEvoy و همکاران در سال ۱۹۹۵ نشان دادند که زمان غنی سازی ۲۴ ساعت، خطر اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع چند زنجیره را در محیط غنی‌سازی آرتمیا افزایش داده است. این محققین پیشنهاد کردند که تولیدات بالقوه اکسیداسیون سمی می‌تواند تاثیر منفی بر جمعیت غذای زنده و احتمالاً عملکرد لارو ماهیانی که از آنها تغذیه می‌نمایند، داشته باشد. بعلاوه، به حداقل رساندن زمان مورد نیاز برای غنی‌سازی می‌تواند هزینه‌های مرتبط با تولید غذای زنده را کاهش دهد (Sorgeloos *et al.*, 1986 ;Southgate & Lou., 1995).

در تحقیق حاضر، امولسیون حاوی ۴ درصد روغن ، تقریباً در حدود ۴ درصد وزن خشک پایه روتیفرها از n-۳ HUFA را بعد از ۱۲ ساعت غنی‌سازی تولید نموده است. یافته‌های موجود نشان می‌دهد که این میزان جهت تامین نیازهای لارو ماهیان دریایی کافی است (Izquierdo *et al.*, 1988 ;Koven, 1991 ;Le Milinaire *et al.*, 1983). غلظت بیش از ۸ درصد روغن برای سلامت جمعیت روتیفرها یا از نقطه نظر اقتصادی توصیه نمی‌گردد. اگر چه مطالعه جمعیتها نیاز به تکرار بیشتری دارد، اما نتایج موجود نشان می‌دهد وقتی که غلظت روغن در محیط ۴ درصد باشد مرگ و میر جمعیت روتیفرها نسبت به زمانیکه از غلظتهای ۸ یا ۱۲ درصد استفاده می‌گردد کمتر می‌باشد. این موضوع می‌تواند به سبب این حقیقت باشد که فراوانی روغن در محیط کشت منجر به تنزل کیفیت آب و افزایش رشد باکتریها می‌گردد.

مطالعات قبلی نشان دادند که نسبت EPA/DHA در جیره غذایی برای تکامل لاروها مهم می‌باشد (Mourente *et al.*, 1993; Reitan *et al.*, 1994 ;Rodriguez *et al.*, 1994). بنابراین، قابلیت‌های جذب این دو اسید چرب توسط غذاهای زنده را در زمان استفاده از آنها برای تغذیه لاروها باید در نظر گرفت. با توجه به EPA و DHA موجود در روغن‌ها، بنظر می‌رسد که در این مطالعه روتیفرها EPA را بهتر از DHA در خود نگهداری می‌نمایند. گونه‌هایی از روتیفرها اکثراً در آب شیرین که زیستگاه اولیه آنها می‌باشد، یافت می‌شوند (Donner, 1966) و فیلترکننده فیتوپلانکتونها و موجودات زنده‌ای که روی این میکروآلگها زندگی می‌کنند، می‌باشند. از آنجائیکه در اکثریت میکروآلگهای آب شیرین، EPA اسید چرب غالب در میان n - ۳ HUFA می‌باشد (Stewart, 1974)، سیستم آنزیماتیک روتیفرها می‌تواند به تشکیل EPA آسانتر نسبت به DHA سازش یابد. نتایج مشابهی برای آرتمیا بیان شده است که تجمع DHA در آرتمیا حتی زمانی که جیره غذایی آنها از این اسید چرب غنی باشد با مشکل انجام می‌گیرد (Hinchcliffe & Riley, 1972; Izquierdo, 1988). اخیراً، McEvoy و همکاران در سال ۱۹۹۵ نشان دادند که نسبت‌های EPA/DHA در آرتمیای تغذیه شده از سه امولسیون متفاوت همیشه بطور قابل توجهی بیشتر از نسبت‌های EPA/DHA در محیط غنی‌سازی اولیه می‌باشد. یکی از علل تجمع کمتر DHA نسبت به EPA، ممکن است به سبب میزان بیشتر اکسیداسیون DHA در محیط غنی‌سازی باشد. هر چند که، سنجش نسبت EPA/DHA در محیط آرتمیا این فرضیه را انکار می‌کند. در عوض، آن آشکار می‌کند که آرتمیا می‌تواند متابولیز DHA را به میزان بالاتری نسبت به EPA انجام دهد. هر چند DHA برای تکامل لارو ماهیان دریایی از اهمیت خاصی برخوردار است ولی در روتیفرها این اسید چرب به میزان کمتری نسبت به EPA ذخیره می‌گردد (Izquierdo *et al.*, ;Watanabe, 1993 ;Rodriguez *et al.*, 1994 ; Rainuzzo *et al.*, 1994a,b; 1989). نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که به منظور دستیابی به میزان

magiran.com

بیشتر n-۳ HUFA در روتیفرها، طولانی کردن زمان غنی‌سازی نسبت به افزایش میزان روغن موجود در محیط کشت موثرتر می‌باشد. بهترین نتایج در مورد ارزش غذایی و وضعیت جمعیت روتیفرها را می‌توان با غلظت روغن بین ۴ و ۸ درصد و یک زمان غنی‌سازی که از ۱۲ ساعت طولانی‌تر نباشد، بدست آورد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از زحمات کلیه پرسنل معاونت تکثیر و پرورش آبزیان شیلات استان هرمزگان و مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر آبزیان کلاهی و همچنین کلیه پرسنل حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس و آزمایشگاههای واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی که در اجرای این تحقیق ما را یاری نمودند، قدردانی می‌گردد.

منابع

یحیوی، م. و آذری تاکامی، ق. ، ۱۳۸۶. بررسی اثرات تغذیه لاروی میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) از روتیفر غنی شده با اسیدهای چرب غیراشباع (DHA/EPA) و ویتامین C. مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۷۴، صفحات ۱۴۰ تا ۱۴۹.

یحیوی، م. ؛ آذری‌تاکامی، ق . و وثوقی، غ. ، ۱۳۸۵. بررسی مقاومت به استرس‌های شوری و فرمالین در پست لاروهای میگوی سفید هندی تغذیه شده از روتیفرهای غنی شده با اسیدهای چرب غیراشباع (DHA/EPA) و ویتامین C. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، شماره چهارم(ب)، صفحات ۵۱۹ تا ۵۳۰.

Dhert P., 1996. Rotifers. *In*: P. Sorgeloos and P. Lavens (eds.). Manual on the production and use of live food for aquaculture. Fisheries Technical Paper No. 361. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy. pp.49–78.

Donner J., 1966. Rotifers. Frederick Warne, London, New York. 80P.

Eritsland J., Harald A., Kunt G., Nils B.F. and Michael A.M., 1996. Effect of dietary supplementation with n-3 fatty acids on coronary artery bypass graft patency. American Journal of Cardiology, 77:31–36.

Fernandez M.J., Ferreiro M. T., Labarta U. and Munilla R. 1987. Influencia de dietas enriquecedoras en la calidad nutritive de Brachionus plicatilis y *Artemia sp.* Cuad. Marisq. Publication Technical, 12:579–584.

Hinchcliffe P.R. and Riley J.P., 1972. The effect of diet on the component fatty acid composition of *Artemia salina* . Journal of Marine Biology Association, UK. 52:203–211.

Izquierdo M.S., 1988. Estudio de los requerimientos de acidos grasos esenciales en larvas de peces marinos. Modificacion de la composicion lipidica de las presas . PhD Thesis, University of La Laguna, Spain. 205P.

Izquierdo M.S., Watanabe T., Takeuchi T., Arakawa T. and Kitajima C., 1989. Optimal EFA levels in Artemia to meet the EFA requirements of red seabream (*Pagrus major*). Proceeding of Third International Symposium. Feeding and Nutrition in Fish. Toba, Japan. Aug. 28 to Sept. 1, pp.221–232.

Koven W.M., 1991. The combined effect of dietary n–3 highly unsaturated fatty acids and age, on growth, survival and lipid composition in larval gilthead seabream (*Sparus aurata*, Perciformes: Teleostei). PhD Thesis, Hebrew University, Israel. 130P.

Leger P. and Sorgeloos P., 1992. Optimized feeding regimes in shrimp hatcheries. Culture of Marine Shrimp. Principles and Practices. A.W. Fast and L.J. Lester (eds), Elsevier Science Publishers, pp.225–244.

Le Milinaire C., Gatesoupeand F.J. and Stephan G., 1983. Approche du besion quantitatif en acides gras longs polyunsatures de la serie n–3 chez la larve de turbot (*Scophthalmus maximus* L.). Comptes rendus de l'Academie des Sciences de Paris. Vol. 296, No. 3, pp.917–920.

magiran.com

Lepage G. and Roy C.C., 1984. Improved recovery of fatty acid through direct transesterification without prior extraction or purification. Journal of Lipid Research, 25:1391–1396.

Lubzens E., Marko A. and Tietz A., 1985. De novo synthesis of fatty acids in the rotifer *Brachionus plicatilis*. Aquaculture, 47:27–37.

McEvoy L.A., Navarro J.C., Bell J.G. and Sargent J.R., 1995. Autoxidation of oil emulsions during the Artemia enrichment process. Aquaculture, 134:101–112.

Mourente G., Rodriguez A., Tocher D.R. and Sargent J.R., 1993. Effects of dietary docosahexaenoic acid (DHA; 22:6n-3) on lipid and fatty acid composition and growth in gillhead sea bream (*Sparus aurata* L.) larvae during first feeding. Aquaculture, 112:79–98.

Rainuzzo J.R., Olsen Y. and Rosenlund, G., 1989. The effects of enrichment diets on the fatty acids composition of the rotifer *Brachionus plicatilis*. Aquaculture, 79:157–161.

Rainuzzo J.R., Reitan K.I., Jorgensen L. and Olsen Y., 1994a. Lipid composition in turbot larvae fed live feed cultured by emulsions of different lipid classes. Comparative Biochemistry Physiology, 107A:699–710.

Rainuzzo J.R., Reitan K.I. and Olsen Y., 1994b. Effect of short- and long-term lipid enrichment on total lipids, lipid class and fatty acid composition in Rotifers. Aquaculture International, 2:19–32.

Reitan K.I., Rainuzzo J.R. and Olsen Y., 1994. Influence of lipid composition of live feed on growth, survival and pigmentation of turbot larvae. Aquaculture International, 2:33–48.

Rodriguez C., Perez J.A., Izquierdo M.S., Mora J., Lorenzo A. and Fernandez-Palacios H., 1993. Essential fatty acid requirements of larval gilthead sea bream, (*Sparus aurata* L.). Aquaculture, Fish, Management, 24:295–304.

Rodriguez C., Perez J.A., Lorenzo A., Izquierdo M.S. and Cejas J.R., 1994. n–3 HUFA requirement of larval gilthead seabream, *Sparus aurata*, when using high levels of eicosapentaenoic acid. Comparative Biochemistry Physiology, 107A:693–698.

Rosenberry B., 1997. World Shrimp Farming. Annual Report, Shrimp News International, 250P.

Sorgeloos P., Lavens P., Leger P., Tackaert W. and Versichele D., 1986. Manual for the culture and use of brine shrimp Artemia in aquaculture. University of Ghent, Belgium, 319P.

Sorgeloos P., Coutteau P., Dhert P., Merchie G. and Lavens P., 1998. Use of brine shrimp, *Artemia spp.*, in larval crustacean nutrition: A review. Fish Science, 6:55 – 68.

Southgate P.C. and Lou D.C., 1995. Improving the n–3 HUFA composition of Artemia using microcapsules containing marine oils. Aquaculture, 134:91–99.

Steffens W. and Wirth M., 1997. Cyprinids as a valuable source of essential fatty acids for human: A review, Asian Fisheries Science, 10:83–90.

Stewart W.P., 1974. Algal physiology and biochemistry. *In*: (W.P. Stewart ed.), Botanical Monographs, Vol. 10. Blackwell Scientific, Oxford. 989P.

Walford J. and Lam T.J., 1987. Effect of feeding with microcapsules on the content of essential fatty acids in live foods for the larvae of marine fishes. Aquaculture, 61:219–229.

magiran.com

Watanabe T., Kitajima C. and Fujita S., 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass production of fish: A Review. Aquaculture, 34:115–143.

Watanabe T., 1993. Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. World Aquaculture Society, Vol. 24, No. 2, pp.152–161.

Watanabe T., Tamiya T., Oka, A. and Hirato M., 1982. Improvement of dietary value of live foods for fish larvae by feeding them on w3-highly unsaturated fatty acid and fat-soluble vitamins. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 1983, Vol. 49, No. 3, pp.471–479.

magiran.com

Effects of concentration and duration of enrichment of rotifer *Brachionus plicatilis* with cod oil emulsion with emphasis on fatty acids

Yahyavi M .* and Farzane M.R.

Maziar_yahyavi@yahoo.com

Islamic Azad University, Bandar Abbas Branch, P.O.Box: 79159-1311 Bandar Abbas, Iran

Received: October 2008 Accepted: August 2009

Keywords: Rotifer, *Brachionus plicatilis*, Enrichment, n-3 HUFA, EPA/DHA

Abstract

In this study, effects of concentration and length of enrichment of rotifer *Brachionus plicatilis* fatty acid composition and its population profile by cod liver-oil emulsion were tested. Rotifers pre-fed on yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) were enriched with cod liver oil emulsion at three different concentrations (4, 8 and 12%). Rotifers were sampled after 0, 3, 6, 12 and 24 hours of enrichment. Considering total lipid present in rotifers as a function of the enrichment period, the increase was significant for 3 hours treatment while the same was not observed when raising the oil concentration ($P<0.05$). Increasing the enrichment period rather than the amount of oil present in the medium was found to be more efficient in increasing the n-3 highly unsaturated fatty acids (n-3 HUFA) level in rotifers. Rotifers showed a better incorporation of Eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5n3) than Docosahexaenoic acid (DHA, 22:6n-3), regardless of the ratio between the two fatty acids in the emulsion.

* Corresponding author