



University of Guilan

University of Guilan with collaboration of Iranian  
Aquaculture Society

## Aquatic Animals Nutrition

Vol. 8, No. 3, 2022, pages: 17-27  
DOI: 10.22124/janb.2023.24069.1188



### Determining the amount of lysine required in the diet of *Huso huso* juvenile and its effect on growth performance

Javid Imanpour Namin\*, Gonay Gouk

Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, Iran

Received 23 June 2022

Revised 15 September 2022

Accepted 22 September 2022

#### KEYWORDS ABSTRACT

Sturgeon

Juvenile

Lysine

*Huso huso*

Diet

The amount of lysine required in the diet of juvenile Beluga *Huso huso* with an average initial weight of 2.45 g was evaluated based on growth response in 12 aerated aquariums in four treatments each with three replications for 40 days. Four diets were prepared based on fish meal with the same protein (39.32%), fat (15.78%) and carbohydrate (21.19%) with different levels of lysine (0, 0.75, 1.5 and 2.25% of dry weight). The diet without lysine was considered as the control diet. Each ration was given in proportion to 4% of body weight, in three equal portions, to groups of three with 10 fish in each replicate. The mean water temperature, dissolved oxygen and pH during the test period were 23.8 °C, 6.27 mg/L and 7.32, respectively. The results showed a significant difference in the growth performance between the treatments. The maximum weight obtained ( $31.95 \pm 0.84$  g) and specific growth rate ( $7.01 \pm 0.09\%$ /day) were observed in the treatment with 2.25% lysine. Apart from the decreased growth in the fish fed the lysine-deficient diet, no signs of growth deficiency were observed in the other fish. Condition factor, food conversion ratio, protein efficiency ratio and survival rate were not significantly different among treatments. Finally, the optimal amount of lysine for this weight group of juvenile Beluga was estimated to be 2.25 g per 100 g of the dry weight of the diet.

\*Corresponding author: imanpour@guilan.ac.ir





"مقاله پژوهشی"

## تعیین میزان نیاز لایزین در جیره بچه فیل ماهیان *Huso huso* و تأثیر آن بر روند رشد

جاوید ایمانپور نمین، گونای گوک

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، گیلان

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۳۱

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۶/۲۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۰۲

### کلمات کلیدی

### چکیده

میزان لایزین مورد نیاز در جیره بچه فیل ماهیان با متوسط وزن اولیه ۲/۴۵ گرم بر اساس پاسخ رشد، در ۱۲ بچه فیل ماهی اکواریوم مجهز به هواده در چهار تیمار و سه تکرار برای هر تیمار در مدت ۴۰ روز بررسی شد. چهار جیره بر پایه آرد ماهی با پروتئین (۳۹/۳۲٪)، چربی (۱۵/۷۸٪) و کربوهیدرات (۲۱/۱۹٪) یکسان با سطوح مختلف لایزین (صفر، ۰/۷۵، ۱/۵ و ۲/۲۵٪ وزن خشک) تهیه شد که جیره فاقد لایزین به عنوان جیره شاهد در نظر گرفته شد. هر جیره به نسبت ۴٪ وزن بدن، در سه وعده مساوی، به گروه های سه تایی با ۱۰ ماهی در هر تکرار داده شد. متوسط دمای آب، اکسیژن محلول و pH در طی دوره آزمایش ۲۳/۸ درجه سانتی گراد، ۶/۲۷ میلی گرم در لیتر و ۷/۳۲ بود. نتایج نشان داد که اختلاف معنی داری در روند رشد بین تیمارها وجود دارد. بیشینه وزن به دست آمده (۳۱/۹۵ ± ۰/۸۴) و سرعت رشد ویژه (۰/۰۹ ± ۷/۰۱ درصد/روز) در تیمار دارای ۲/۲۵ لایزین مشاهده شد. به غیر از کاهش رشد در ماهیانی که از جیره فاقد لایزین تغذیه کردند، در دیگر ماهیان علائم کمبود رشد مشاهده نشد. ضریب چاقی (فاکتور وضعیت)، ضریب تبدیل غذایی، نسبت بازده پروتئین و میزان بقا در بین تیمارها اختلاف معنی دار نداشت. در نهایت میزان بهینه لایزین برای این وزن از بچه فیل ماهیان ۲/۲۵ گرم در ۱۰۰ گرم از وزن خشک جیره برآورد شد.

## مقدمه

ماهیان خاویاری به علت تولید خاویار لذیذ و گرانبها گروهی از مهم‌ترین ماهیان تجاری محسوب می‌شوند (کیوان، ۱۳۸۲). در حال حاضر بیش از ۲۷ گونه از ماهیان خاویاری وجود دارند که ۶ گونه از آنها در دریای خزر و رودخانه‌های منتهی به آن زیست می‌کنند (کیوان، ۱۳۸۲). به دلیل ارزش اقتصادی و غذایی بسیار بالای گوشت و خاویار از یک طرف و کاهش میزان ذخایر این ماهیان در تمام زیستگاه‌های طبیعی آنها از طرف دیگر، تکثیر و پرورش مصنوعی آنها از سال‌ها پیش مورد توجه بسیاری از کشورهای جهان قرار گرفته و پیشرفت‌های چشم‌گیری به همراه داشته است (ابراهیمی، ۱۳۸۳). ماهیان خاویاری در گرفتن غذا کمی تنبل بوده و بیشتر از گیرنده‌های چشایی و بویایی خود (که در ناحیه شکم، اطراف لب، سیبک و داخل دهان وجود دارد) برای گرفتن غذا استفاده می‌کنند. از آن جایی که هزینه‌های غذایی پرورشی آبریان ۶۰-۴۰٪ از کل هزینه‌های پرورش در مزرعه به حساب می‌آید (Forster and Ogata, 1998) تهیه غذای مناسب سبب اقتصادی شدن امر پرورش شده و علاوه بر بهبود شاخص‌های رشد از آلودگی محیط پرورشی می‌کاهد (Kasumran, 1999). ترکیب پروتئین خام پرهزینه‌ترین جزء غذای ماهیان را تشکیل می‌دهد که با کاستن میزان آن یا استفاده از دیگر منابع پروتئینی (Forster and Ogata, 1998) می‌توان هزینه‌ها را کاهش داد (Cheng et al. 2003). لزوم این کار آگاهی از میزان نیازمندی ماهیان به اسیدهای آمینه است. علی‌رغم مطالعات زیاد انجام شده در خصوص تعیین دقیق میزان نیاز به اسیدهای آمینه ضروری ماهیان، هنوز به نتیجه قطعی در این زمینه دست نیافتند (Encarnaçã et al. 2004). کمبود اسیدهای آمینه ضروری به کاهش روند رشد و بهره برداری غذایی منجر خواهد شد (Wilson & Halver, 1986)، در نتیجه تامین نیازهای آمینواسیدی ماهیان، توسط فرمول‌نویسی مواد غذایی بالانس شده در غذای آنها ضروری است.

لایزین یکی از اسیدهای آمینه ضروری است (Wilson, 1985) که اغلب اسید آمینه محدود در غذاهای تجاری است (Tantikitti & Chimsung, 2001). یکی از مهم‌ترین وظایف لایزین، عمل کردن به عنوان کاتالیزور ال-کارنیتین است که اسیدهای چرب بلند زنجیره را به داخل میتوکندری برای B-اکسیداسیون چربی‌ها حمل می‌کند

(Walton et al. 1984). میزان نیاز چندین گونه به لایزین توسط Wilson (۱۹۹۴)، Ogata و Forster (۱۹۹۸) و Hauler و Carter (۲۰۰۱) از ۳/۲٪ تا ۸/۸٪ پروتئین بیان شده است (Marcouli et al. 2006). این تفاوت‌ها ممکن است به دلیل تفاوت در تهیه جیره و مراحل آزمایش باشد.

بیشتر مطالعات انجام شده در خصوص نیازهای اسید آمینه-ای، اندازه‌گیری واکنش رشد و راندمان جذب غذایی در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های محتوی سطوح درجه-بندی شده اسیدهای آمینه بوده است (Forster & Ogata, 1998). در روش دوز پاسخ، سطوح مختلف اسید آمینه ضروری در جیره جانور لحاظ شده و در نهایت با توجه به داده‌های رشد و تعیین نقطه پاسخ میزان آن اسید آمینه در جیره ارزیابی می‌شود (Jobling, 1992). هدف این مطالعه تخمین میزان نیاز لایزین در جیره بچه فیل ماهیان توسط روش دوز پاسخ بود.

## مواد و روش‌ها

## شرایط آزمایش

بچه فیل ماهیان استفاده شده در این آزمایش، سه هفته قبل از شروع، از مجتمع شهید مرجانی گرگان به بخش تکثیر و پرورش انستیتو تحقیقات ماهیان خاویاری دکتر دادمان رشت منتقل شدند و به مدت یک هفته با غذای زنده تغذیه شدند. سپس به مدت ۲ هفته برای سازگاری، با جیره‌های تهیه شده در مرکز تغذیه شدند. در شروع آزمایش ماهیان برای ۲۴ ساعت گرسنه نگه داشته شدند و وزن و طول آنها اندازه‌گیری شد. بچه فیل ماهیان (با وزن آغازین حدود ۲/۴۵ گرم) به طور تصادفی در ۱۲ آکواریوم ۵۰ لیتری دارای هواده قرار گرفتند. سه تکرار برای هر تیمار در نظر گرفته شد. بچه فیل ماهیان به میزان ۴٪ وزن بدن در ۳ وعده غذایی تغذیه شدند. در طی مدت ۶ هفته، ماهیان هر هفته برای تخصیص غذا، شمارش و وزن شدند. پارامترهای کیفی آب به صورت روزانه کنترل شد. طی دوره آزمایش، دمای آب بین ۲۶-۲۱ درجه سانتی‌گراد اکسیژن محلول بین ۳/۷-۵/۵ mg/L و pH بین ۸/۲-۶/۵ بود.

## تهیه جیره‌های آزمایشی

برای تهیه جیره مواد غذایی لازمه به آزمایشگاه منتقل و بعد

حجیم تر بودند به مدت ۱۵ دقیقه توسط دستگاه میکسر با یکدیگر مخلوط شدند. سپس ترکیباتی چون نمک، مکمل ویتامین، مکمل معدنی، ویتامین C، لایزین و غیره در مخزن دیگری مخلوط و با مخلوط اصلی مخلوط شدند. بعد از این مرحله، لسیتین حل شده در روغن به مخلوط اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه کل ترکیبات مخلوط شدند. در نهایت ترکیب به دست آمده با آب ولرم و ملاس به صورت محلول در آمده و به جیره اضافه شد. کل ترکیبات به مدت ۱۵ دقیقه مجدداً با یکدیگر مخلوط شدند که عملیات مخلوط شدن ترکیبات یک ساعت به طول انجامید. با دستگاه پلتزن گرانول‌هایی به اندازه ۲ میلی‌متر تهیه و در دمای ۳۰°C در دستگاه خشک‌کن خشک شدند. غذا پس از وزن شدن توسط ترازوی دیجیتالی، به ماهیان داده شد.

از تجزیه شیمیایی انجام گرفته بر روی آنها میزان پروتئین خام، چربی خام، کربوهیدرات، کلسیم و فسفر اندازه‌گیری شد. اجزای جیره شاهد و ترکیب شیمیایی آن در جدول ۱ و میزان اسیدهای آمینه در آن در جدول ۲ آورده شده است. میزان پروتئین آنها با اندازه‌گیری نیتروژن کل ( $N = 6/25$ ) از روش کلدال و چربی به روش سوکسله با استفاده از حلال کلروفرم با نقطه جوش ۵۰ تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ تا ۶ ساعت استخراج، اندازه‌گیری شد. انرژی موجود در جیره شاهد با استفاده از بمب کالری متر مدل (Parr 1281) تعیین شد. ۴ جیره با سطوح مختلف لایزین (صفر، ۷/۵، ۱۵ و ۲۲/۵ گرم در هر کیلوگرم) غذا تهیه شد که از لحاظ میزان پروتئین، انرژی و کربوهیدرات یکسان بودند. ابتدا کلیه ترکیباتی که دارای ذرات درشت بودند، توسط دستگاه آسیاب آرد شده و ترکیباتی که مقدار آن در جیره

جدول ۱ اجزای جیره و ترکیب شیمیایی جیره شاهد (درصد).

عنوان	درصد	عنوان	درصد
آرد ماهی	۵۴	مواد معدنی	۱/۳
آرد گندم	۱۷	ملاس	۱
شیر خشک دامی	۵	مخمر	۵
گلوتن گندم	۵	لسیتین	۱
کنجاله سویا	۷	ویتامین C	۰/۰۲
نمک	۰/۶۳	ویتامین E	۰/۰۵
ویتامین پرمیکس	۲		
ترکیب شیمیایی جیره (%)			
پروتئین خام	۳۹/۳۲	کلسیم	۱/۷
چربی خام	۱۵/۷۸	فسفر	۱/۱۴
کربوهیدرات	۲۱/۱۹	انرژی (Kcal/100g diet)	۴۵۱۸

جدول ۲ میزان اسیدهای آمینه در جیره شاهد (mg/g پروتئین خام).

اسید آمینه	مقدار	اسید آمینه	مقدار
Asp	۲۴	Tyr	۷/۹۸
Glu	۶۳/۲۵	Val	۲۰/۵۵
Ser	۲۲/۵۹	Met	۷/۵۱
Gly	۲۴/۵۳	Cys	۶/۵۱
His	۷/۲۸	Ilu	۷/۷۶
Arg	۲۴/۷	Leu	۳۷/۱۳
Thr	۱۳/۶۳	Phe	۱۵/۶۷
Ala	۱۸/۴۶	Lys	۱۴/۵۵
Pro	۲۷/۸۶		

متغیرهای رشد بر اساس رابطه های ذیل محاسبه شد :

$$\text{Growth rate (GR) (g/day)} = (\text{BW}_f - \text{BW}_i) / n \text{ (Hung et al. 1989)}$$

$\text{BW}_i$  = میانگین وزن اولیه در هر تیمار

$\text{BW}_f$  = میانگین وزن نهایی در هر تیمار

$n$  = تعداد روزهای پرورش

$$\text{SGR} = (\text{Ln } W_f - \text{Ln } W_i) / n \times 100 \text{ (Zhou et al. 2006)}$$

$W_f$  = میانگین وزن نهایی

$W_i$  = میانگین وزن اولیه

$n$  = تعداد روزهای پرورش

$$\text{CF: Condition factor} = (\text{BW} / \text{TL}^3) 100 \text{ (Hung and Lutes, 1987)}$$

$\text{BW}$  = میانگین وزن نهایی بدن برحسب گرم در هر تیمار

$\text{TL}$  = میانگین طول کل نهایی برحسب cm در هر تیمار

$$\text{FCR (Feed conversion ratio)} = F / (W_f - W_i) \text{ (Marcouli et al. 2006)}$$

$W_i$  = میانگین بیوماس اولیه (گرم)

$W_f$  = میانگین بیوماس نهایی (گرم)

$$\text{PER (Protein efficiency ratio)} = (\text{BW}_f - \text{BW}_i) / \text{CP} \times \text{TF} \text{ (Moore et al. 1988)}$$

$\text{BW}_i$  = میانگین وزن اولیه در هر تیمار

$\text{BW}_f$  = میانگین وزن نهایی در هر تیمار

$\text{TF}$  = کل خوراک مصرفی هر ماهی

$\text{CP}$  = کل پروتئین مصرفی هر ماهی

افزایش میزان لایزین جیره افزایش یافت (جدول ۳) و به طور معنی داری در ماهیان تغذیه شده با جیره دارای لایزین ۲/۲۵ (۰/۸۴ ± ۳۱/۹۵) نسبت به جیره دارای لایزین کمتر بیشتر بود. رشد روزانه (GR) (۰/۲ ± ۰/۸) و سرعت رشد ویژه (SGR) (۰/۹ ± ۷/۰۱) نیز دارای اختلاف معنی داری بین تیمارها بود (p < ۰/۰۵) و روند صعودی داشت و بیشترین میزان آنها در تیمار ۲/۲۵ لایزین و کمترین میزان در جیره فاقد لایزین مشاهده شد. فاکتور وضعیت در بین تیمارها به هم نزدیک بوده و اختلاف معنی داری وجود نداشت. ضریب تبدیل غذایی و نسبت کارایی پروتئین روند مشابهی داشته و توسط جیره ها تحت تاثیر قرار نگرفتند (جدول ۳).

### تجزیه و تحلیل آماری

مقایسات بین تیمارها با استفاده از آزمون واریانس ANOVA و آزمون توکی (Tukey) انجام شد. اختلاف در سطح ۵٪ محاسبه شد. داده ها توسط نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ تجزیه و تحلیل شدند.

### نتایج

نتایج روند رشد و بهره برداری غذایی بچه فیل ماهیان که با مقادیر مختلف لایزین تغذیه کردند در جدول ۳ نشان داده شده است. مقداری تلفات در طی دوره رخ داد اما توسط تیمارها متأثر نشد. وزن نهایی (FW) ماهیان با

جدول ۳ روند رشد و بهره برداری غذایی

جیره ها	Lys صفر	Lys ۰/۷۵	Lys ۱/۵	Lys ۲/۲۵
وزن آغازین بدن (g)	۲/۵۶ ± ۰/۰۱	۲/۴۹ ± ۰/۰۱	۲/۵۴ ± ۰/۰۱	۲/۴۹ ± ۰/۰۱
وزن نهایی بدن (g)	۲۱/۸۹ ± ۰/۸۵ <sup>a</sup>	۲۷/۲۹ ± ۰/۶۳ <sup>b</sup>	۲۵/۹۳ ± ۱/۰۲ <sup>b</sup>	۳۱/۹۵ ± ۰/۸۴ <sup>c</sup>
رشد روزانه (g)	۰/۵۲ ± ۰/۰۲ <sup>a</sup>	۰/۶۷ ± ۰/۰۲ <sup>b</sup>	۰/۶۳ ± ۰/۰۲ <sup>b</sup>	۰/۸۰ ± ۰/۰۲ <sup>c</sup>
سرعت رشد ویژه	۵/۸۵ ± ۰/۱۱ <sup>a</sup>	۶/۴۸ ± ۰/۰۵ <sup>b</sup>	۶/۳۰ ± ۰/۱۵ <sup>b</sup>	۷/۰۱ ± ۰/۰۹ <sup>c</sup>
فاکتور وضعیت	۰/۸۹ ± ۰/۰۵	۰/۷۵ ± ۰/۰۸	۰/۶۸ ± ۰/۰۶	۰/۷۳ ± ۰/۰۲
ضریب تبدیل غذایی	۱/۲۶ ± ۰/۱۱	۱/۲۹ ± ۰/۰۳	۱/۳۷ ± ۰/۰۱	۱/۴۶ ± ۰/۰۴
نسبت بازده پروتئین	۰/۳۲ ± ۰/۰۲	۰/۳۱ ± ۰/۰۱	۰/۲۹ ± ۰/۰۱	۰/۲۷ ± ۰/۰۱

جدول ۴ نتایج زیست‌سنجی در طی آزمایش

فاکتور	تیمار	زیست‌سنجی ۱	زیست‌سنجی ۳	زیست‌سنجی ۴	زیست‌سنجی ۵	زیست‌سنجی ۶
SGR	۱	۷/۱۴ ± ۰/۳۴ <sup>b</sup>	۵/۴۸ ± ۰/۲۷ <sup>c</sup>	۱۹/۷۱ ± ۱۵/۱۴ <sup>a</sup>	۴/۱۳ ± ۰/۰۲ <sup>b</sup>	۹/۱۸ ± ۰/۵۶ <sup>a</sup>
	۲	۸/۲۹ ± ۰/۵۵ <sup>b</sup>	۷/۹۴ ± ۰/۳۴ <sup>ab</sup>	۷/۳۳ ± ۰/۳۹ <sup>a</sup>	۶/۱۱ ± ۰/۴۳ <sup>a</sup>	۴/۵۶ ± ۰/۱۱ <sup>b</sup>
	۳	۸/۶۷ ± ۰/۶۳ <sup>ab</sup>	۷/۲۱ ± ۰/۴۵ <sup>b</sup>	۶/۲۳ ± ۰/۲۴ <sup>a</sup>	۶/۷۷ ± ۰/۱ <sup>a</sup>	۴/۴۱ ± ۰/۱۳ <sup>bc</sup>
	۴	۱۱/۷۵ ± ۱/۱ <sup>a</sup>	۹/۱۱ ± ۰/۳۸ <sup>a</sup>	۷/۲۷ ± ۰/۲۶ <sup>a</sup>	۶/۲ ± ۰/۳۹ <sup>a</sup>	۲/۷ ± ۰/۵۶ <sup>c</sup>
FCR	۱	۱/۰۸ ± ۰/۰۷ <sup>a</sup>	۱/۵۱ ± ۰/۰۹ <sup>a</sup>	۱/۸۰ ± ۰/۱۲ <sup>a</sup>	۲/۰۹ ± ۰/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۷۸ ± ۰/۰۷ <sup>a</sup>
	۲	۰/۹ ± ۰/۰۷ <sup>ab</sup>	۰/۹۵ ± ۰/۰۵ <sup>b</sup>	۱/۰۵ ± ۰/۰۷ <sup>b</sup>	۱/۳۳ ± ۰/۱۲ <sup>b</sup>	۱/۸۶ ± ۰/۰۵ <sup>b</sup>
	۳	۰/۸۵ ± ۰/۰۹ <sup>ab</sup>	۱/۰۸ ± ۰/۰۹ <sup>b</sup>	۱/۲۹ ± ۰/۰۶ <sup>b</sup>	۱/۱۵ ± ۰/۰۲ <sup>b</sup>	۱/۹۴ ± ۰/۰۷ <sup>b</sup>
	۴	۰/۵۶ ± ۰/۰۸ <sup>b</sup>	۱/۷۷ ± ۰/۰۴ <sup>b</sup>	۱/۰۶ ± ۰/۰۵ <sup>b</sup>	۱/۳ ± ۰/۱۱ <sup>b</sup>	۳/۶۵ ± ۰/۶۹ <sup>a</sup>
PER	۱	۰/۳۷ ± ۰/۰۲ <sup>b</sup>	۰/۲۷ ± ۰/۰۱ <sup>c</sup>	۰/۲۳ ± ۰/۰۱ <sup>b</sup>	۰/۱۹ ± ۰/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۵۲ ± ۰/۰۴ <sup>a</sup>
	۲	۰/۴۵ ± ۰/۰۴ <sup>b</sup>	۰/۴۳ ± ۰/۰۲ <sup>ab</sup>	۰/۳۹ ± ۰/۰۳ <sup>a</sup>	۰/۳۱ ± ۰/۰۳ <sup>a</sup>	۰/۲۱ ± ۰/۰۱ <sup>b</sup>
	۳	۰/۴۸ ± ۰/۰۵ <sup>ab</sup>	۰/۳۸ ± ۰/۰۳ <sup>bc</sup>	۰/۳۱ ± ۰/۰۱ <sup>b</sup>	۰/۳۵ ± ۰/۰۱ <sup>a</sup>	۰/۲۱ ± ۰/۰۱ <sup>b</sup>
	۴	۰/۷۴ ± ۰/۱ <sup>a</sup>	۰/۵۱ ± ۰/۰۳ <sup>a</sup>	۰/۳۸ ± ۰/۰۲ <sup>a</sup>	۰/۳۱ ± ۰/۰۲ <sup>a</sup>	۰/۱۲ ± ۰/۰۳ <sup>b</sup>
CF	۱	۰/۶ ± ۰/۰۱ <sup>b</sup>	۰/۸۹ ± ۰/۰۶ <sup>ab</sup>	۰/۶۳ ± ۰/۰۵ <sup>a</sup>	۰/۵۴ ± ۰/۰۴ <sup>a</sup>	۰/۹۱ ± ۰/۰۵ <sup>a</sup>
	۲	۰/۵۶ ± ۰/۱۸ <sup>b</sup>	۰/۵۴ ± ۰/۰۲ <sup>c</sup>	۰/۶۳ ± ۰/۰۹ <sup>a</sup>	۰/۷۵ ± ۰/۰۸ <sup>a</sup>	۰/۷۶ ± ۰/۰۸ <sup>a</sup>
	۳	۰/۷۵ ± ۰/۰۱ <sup>ab</sup>	۰/۷۶ ± ۰/۰۳ <sup>b</sup>	۰/۶۴ ± ۰/۱۲ <sup>a</sup>	۰/۷۷ ± ۰/۱۴ <sup>a</sup>	۰/۶۸ ± ۰/۰۶ <sup>a</sup>
	۴	۰/۶۷ ± ۰/۰۵ <sup>a</sup>	۰/۹۸ ± ۰/۰۲ <sup>a</sup>	۰/۸۴ ± ۰/۰۵ <sup>a</sup>	۰/۸۱ ± ۰/۰۴ <sup>a</sup>	۰/۷۳ ± ۰/۰۲ <sup>a</sup>

## بحث

اگر چه در خصوص تغذیه ماهیان خاویاری مطالعات زیادی صورت گرفته است اما این مطالعات هنوز منجر به فرموله کردن غذای اختصاصی برای تاس ماهیان نشده و خود همین موضوع می تواند به عنوان مشکلی در زمینه گسترش پرورش ماهیان خاویاری عمل کند و بنابراین معمولاً از غذای تجاری آزاد ماهیان یا غذای زنده در پرورش تاسماهیان با تناسب نوع هدف مطالعه استفاده می شود. در تحقیق حاضر از جیره فرموله شده توسط بخش تکثیر و

پرورش انستیتو تحقیقات ماهیان خاویاری رشت که برای این گونه تهیه شده بود، استفاده شد. با توجه به گوشت‌خوار بودن فیل ماهی، در این تحقیق از ماهی کیلکا استفاده شد. پودر ماهی شامل ۸۰-۶۰٪ پروتئین است که مطلوبیت بالایی داشته و حاوی مواد معدنی با قابلیت هضم بالا (۹۵-۸۰٪) برای ماهیان می باشد. آرد ماهی ۵۰-۳۰٪ وزن عمده غذاهای ماهیان گوشت‌خوار تجاری به حساب می آید که به دلیل کاهش ذخایر کیلکا تولید آن در سال‌های اخیر کاهش یافته است. با کاستن میزان پروتئین خام و جایگزین کردن با اسید آمینه مکمل برای

حاصل از وزن نهایی و سرعت رشد ویژه برآورد شد و در نهایت نتیجه آزمایش دوز پاسخ نشان داد که ۲/۲۵٪ لایزین در جیره بهترین میزان برای بچه فیل ماهیان در اوزان ۲-۳۱ گرم است. این مقدار تقریباً مشابه با میزان گزارش شده برای هامور ماهیان (Zhou et al. 2007)، امور (Wang et al. 2005) و قزل آلا (Cheng et al. 2003) بود، اما کمتر از میزان مورد نیاز در ماهی آزاد کوهو (Arai and Ogata, 1998)، کفشک ژاپنی و سیم دریایی سرخ (Forster and Ogata, 1998)، سیم دریایی سرتیز (Marcouli et al. 2006)، باس دریایی ژاپنی (Mai et al. 2006) و توربوت‌ها (Peres and Oliva, 2008) بود.

فرمولاسیون صحیح جیره‌های غذایی یکی از عوامل تأثیرگذار در صحت و درستی آزمایش است و جیره‌های حاوی اسید آمینه کریستاله شده بالاتر منجر به کاهش رشد ماهیان در مقایسه با روند رشد ماهیان تغذیه شده با جیره-های غذایی مناسب می‌شود و به طور کلی منجر به ارزیابی نادرست اسید آمینه مورد نیاز در گونه مورد نظر می‌شود (Covey and Laquet, 1983; Tacon and Covey, 1985; Wilson 1994; Covey, 1994; Marcouli et al. 2006).

استفاده از اسیدهای آمینه کریستاله شده در جیره آبیان دشوار است و محققان آبی‌پرور با بالا بردن تعداد دفعات غذایی سعی در بالا بردن کارایی هضم غذا دارند (غذادهی بیش از ۴ بار). ما نیز در تحقیق حاضر میزان غذایی را با توجه به نتایج مطلوب قبلی ۳ بار در روز در نظر گرفتیم. میزان مطلوب غذایی بسیار مهم بوده، چون غذایی بیش از حد باعث آلودگی‌های محیطی و کیفی آب شده و ضایعات غذایی زیاد می‌شود که این عوامل، منجر به پایین آمدن سرعت رشد و کارایی غذایی شده که به دنبال آن بیماری و تلفات در ماهی‌ها بالا رفته و هزینه‌ها نیز افزایش می‌یابند (Hung, 1991).

از آنجا که ماهیان خاویاری غذاهای با سایز کوچک‌تر را بهتر دریافت می‌کنند قطر جیره‌ها در تحقیق حاضر ۲ mm بود. مطالعات نشان دادند که اگرچه ماهیان خاویاری سایز دهانشان نسبت به بدنشان بزرگ‌تر است اما در مقایسه با ماهیان هم اندازه خود از ذرات غذایی کوچکتری تغذیه می‌کنند (Hung, 1991). با توجه به شرایط جوی و پرورشی کشور و نتایج به دست آمده از مطالعات قبلی (پورعلی و

تامین نیازهای غذایی می‌توان هزینه‌ها را کاهش داد (Cheng et al. 2003).

فیل ماهی گونه‌ای کفزی بوده و بینایی نسبتاً پایین دارد و ضرورتاً از قدرت بویایی و چشایی بالایی برخوردار است و غذای خود را بیشتر توسط حس چشایی درک می‌کند، حرکتی آهسته دارد که وابسته به شکل دینامیکی آنها است. بنابراین، استفاده از مواد جاذب می‌تواند اثر مطلوبی روی گرفتن غذا و افزایش شاخص‌های رشد داشته باشد (Wilson and Halver, 1985).

ماهیان نیز مانند دیگر حیوانات به آمینواسیدها نیاز دارند و کمبود آنها باعث کاهش رشد و ضریب تبدیل غذایی می‌شود (Wilson and Halver, 1986). تعیین میزان نیاز به ۱۰ اسید آمینه ضروری برای تعداد کمی از گونه‌های پرورشی ماهیان چون کپور معمولی (Nose, 1979)، تیلپای نیل (Santiago and Lovell, 1989)، کپور هندی (Ahmed and Khan, 2004)، کاتلا (Ravi and Devaraj, 1991)، ماهی آزاد کوهو (Arai and Akiyama and Borlongan and Aria, 1993)، خامه ماهی (Ogata, 1991)، ماهی آزاد چام (Aria, 1993)، چینوک، گربه ماهی روگامی و مارماهی ژاپنی (NRC, 1993) انجام شده است (Mai et al. 2006).

لایزین یکی از اسیدهای آمینه محدود عمده در غذاهای تجاری است (Wilson, 1985). در مطالعاتی که تاکنون صورت گرفته اختلافات گسترده در میزان نیاز به لایزین در بین گونه‌های ماهیان وجود دارد و بین ۳/۷-۶/۲٪ گزارش شده (Forster and Ogata, 1998) که ممکن است به واسطه تفاوت در جیره‌های آزمایشی، میزان غذایی، اندازه و سن ماهیان، اختلافات ژنتیکی، روند غذایی، شرایط پرورشی، منابع پروتئینی جیره و میزان پروتئین در جیره باشد (Griffin et al. 1992; Forster and Ogata 2007; Zhou et al. 2007; Mai et al. 2006; 1998). به علاوه قابلیت هضم، شکل اسید آمینه و انرژی در ماده غذایی ممکن است نیازهای اسید آمینه‌ای را متأثر سازد (De Simmons et al. 1999; Silva et al. 2000; Zhou et al. 2007).

در مطالعات مختلف از PER، FE، SGR و FW برای تخمین میزان نیازمندی استفاده شده است. میزان نیاز لایزین بچه فیل ماهیان در تحقیق حاضر با استفاده از نتایج

نتایج مقایسه ضریب تبدیل غذایی در انتهای دوره نشان داد که تیمارهای تغذیه شده با سطوح مختلف لایزین در تحقیق حاضر از هیچگونه اختلاف معنی‌داری برخوردار نبودند و بهترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار شاهد به میزان  $0/11 \pm 1/26$  تعیین شد. در مورد میزان FCR باید بیان شود که بهترین ضریب تبدیل غذایی از شروع تا زیست‌سنجی نهایی در تیمارهای ۲، ۳ و ۴ مشاهده شده و در هفته آخر به دلیل نامناسب بودن شرایط محیطی، نامتناسب بودن اندازه جیره همزمان با افزایش وزن آنها و افزایش پرت غذایی در تیمارهای ۲، ۳ و ۴ و در نتیجه کیفیت نامناسب آب این میزان افزایش یافته است. میزان ضریب تبدیل غذایی مشاهده شده بین گونه‌های ماهی از  $0/5$  تا  $1/67$  متغیر است (Keembiyehetty and Gatline 1992; Luzzana et al. 1998; Murthy and Varghese. 1997; Colose et al. 1999; Alam et al. 2002; Ahmed et al. 2003; Fournier et al. 2003).

میزان ضریب تبدیل غذایی در گونه‌های مختلف ماهی به مواردی چون ترکیبات مختلف جیره پایه، اندازه و سن ماهی، رژیم‌های غذایی، شرایط محیط پرورش و اختلافات ژنتیکی بستگی دارد (Mai et al. 2006). در مطالعه حاضر میزان FCR بین  $1/26$ – $1/46$  متفاوت و بین میزان ضریب تبدیل غذایی مشاهده شده در بین دیگر گونه‌ها بود. میزان بازده پروتئین نیز در مطالعه حاضر فاقد اختلاف معنی‌دار بود. بیشترین میزان بازده پروتئین متعلق به تیمار شاهد به میزان  $0/03 \pm 0/32$  بود. نکته دیگر اینکه در هفته‌های آغازین تحقیق بازده پروتئین بسیار بالا بوده است. بنابراین، می‌توان به نقش حیاتی تغذیه در مراحل ابتدایی ماهیان پی برد و بایستی در تدوین جیره‌های آغازین، از نظر سطح و نوع پروتئین و اسیدهای آمینه ترکیبات غذایی دقت ویژه کرد.

بررسی ضریب چاقی که از عوامل سلامتی و رشد طبیعی ماهی‌هاست نیز اختلاف معنی‌دار در تیمارهای مورد بررسی نداشت و بیشترین میزان آن در تیمارهای ۱ و ۲ به ترتیب به میزان  $0/05 \pm 0/89$  و  $0/08 \pm 0/75$  مشاهده شد که با نتایج تحقیق Wang و همکاران در سال ۲۰۰۵ بر روی امور ماهیان و Zhou و همکاران (۲۰۰۷) مطابقت داشت. در بچه‌فیل‌ماهیان تحقیق ما هیچ گونه آثار بیماری یا ضایعات سطحی در اثر کمبود لایزین در بین تیمارها مشاهده نشد که این نتیجه با نتایج حاصل از تحقیقات

همکاران، (۱۳۸۲)، درصد غذادهی فیل ماهیان تحقیق حاضر  $4\%$  وزن بدن در نظر گرفته شد.

در شرایط پرورش مصنوعی، pH، دما و اکسیژن محلول از جمله مهم‌ترین عوامل محیطی تأثیرگذار بر رشد و تغذیه تاسماهیان محسوب می‌شوند (آذری تاکامی و کهنه شهری، ۱۳۵۳). میانگین دما در طول دوره  $23/8$  درجه به دست آمد و از آنجا که بهترین درجه حرارت در طول دوره پرورش بچه فیل ماهیان بین  $16$  تا  $21$  درجه سانتی‌گراد عنوان شده است (آذری تاکامی و کهنه شهری، ۱۳۵۳)، تا حدی نامطلوب بود. چون این تحقیق در ماه‌های خرداد و تیر انجام شد دما گاهی تا  $28$  درجه سانتی‌گراد نیز رسید. فیل ماهی گونه‌ای مقاوم نسبت به تغییرات دمایی بوده که قادر به تحمل حداکثر دمای  $27-29$  °C درجه سانتی‌گراد می‌باشد، ولی با وجود مقاوم بودن این گونه نسبت به تغییرات دما، با افزایش دما، در این شرایط شاهد بی‌اشتهایی ماهی و کاهش مصرف غذا و کارایی غذایی با توجه به شاخص‌های رشد بودیم. میزان مناسب اکسیژن برای پرورش بچه فیل ماهیان بین  $4-14$  میلی‌گرم در لیتر (آذری تاکامی و کهنه شهری، ۱۳۵۳) و pH نیز بین  $7/9-8/1$  (کیوان، ۱۳۸۲) عنوان شده است که میانگین  $O_2$  و pH به ترتیب  $6/27$  و  $7/3$  بود که می‌توان گفت تقریباً برای این گونه مطلوب است.

در تحقیق حاضر بالاترین میزان وزن نهایی، سرعت رشد روزانه و ضریب رشد ویژه در تیمار ۴ مشاهده شد که روند افزایشی مثبت را با افزایش میزان لایزین نشان داد. بین تیمارهای ۲ و ۳ اختلاف معنی‌دار نبود ولی نسبت به تیمار بدون لایزین وزن نهایی و ضریب رشد ویژه آنها بالاتر بود و نشان از آن دارد که لایزین برای رشد بچه فیل ماهیان ضروریست که با نتایج دیگر محققین هماهنگی دارد (Mai et al. 2006; Peres and Oliva-Teles, 2008). محققان بیان داشتند که مقدار بیش از حد لایزین در جیره نه تنها باعث افزایش رشد نمی‌شود، بلکه باعث کاهش رشد هم می‌شود (Wang et al. 2005) که به دلیل تاثیرات منفی (واکنش لایزین-آرژینین) مقدار زیاد لایزین آزاد در این سطح می‌باشد (Ahmed and Khan, 2004). ورود زیاد لایزین، سطح آرژینین پلاسما، اوره و دفع آمونیاک را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Kaushik and Faucinneau, 1984).



در نهایت، با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش بهترین میزان لایزین برای بچه فیل ماهیان ۲ گرمی ۲/۲۵٪ تخمین زده شد. ارزیابی نیاز به دیگر اسیدهای آمینه ضروری بچه فیل ماهیان و تأثیر آن بر ترکیب بدنی آنها باید در آینده انجام شود.

#### منابع

آذری تاکامی، ق.، کهنه شهری، م. ۱۳۵۳. تکثیر مصنوعی و پرورش ماهیان خاویاری. انتشارات دانشگاه تهران، ۲۹۰ صفحه.

پورعلی، ح. ر.، محسنی، م.، آق تومانی، و.، توکلی، م. ۱۳۸۲. پرورش بچه فیل ماهیان با درصدهای مختلف غذای کنسانتره فرموله شده. مجله علمی شیلات ایران، ویژه-نامه اولین سمپوزیوم ملی ماهیان خاویاری، ۳۷-۴۸. کیوان، ا. ۱۳۸۲. ماهیان خاویاری ایران. شرکت سهامی شیلات ایران، تهران، ۴۰۰ صفحه.

Marcouli و همکاران در سال ۲۰۰۶ بر روی سیم دریایی سر تیز جوان مطابقت داشت.

تلفات نیز بین تیمارها مشابه بود که با دیگر تحقیقات در خصوص میزان نیاز لایزین در جیره گونه‌های مختلف ماهیان نیز مشابه بود (Borlongan and Benitez, Kim et al.; Tibaldi and Lanari, 1991; 1990 Anderson et al. 1993; Berg et al.; 1992 1998; Tantikitti and Chimsung, 2001). این نتیجه با نتایج حاصل از مطالعات Ketola در سال ۱۹۸۳ بر روی قزل آلائی رنگین کمان که ضایعات باله ای و تلفات بالا را در تیمارهای با لایزین ناکافی گزارش کرد هماهنگی ندارد؛ البته این آسیب‌ها در مطالعه Walton و همکارانش در سال ۱۹۸۴ با گونه مشابه تأیید نشد.

Mai و همکاران (۲۰۰۶) در تحقیق خود بر روی سیم دریایی ژاپنی بیان داشتند که اختلاف معنی‌داری در میزان تلفات بین تیمارهای مختلف لایزین وجود ندارد که با نتیجه این تحقیق هماهنگی داشت. عمده تلفات مشاهده شده در هفته آخر و به دلیل افزایش دما و شرایط نامناسب محیطی برای این بچه فیل ماهیان بود.

Ahmed, I., Khan, M.A., Jafri, A.K. 2003. Dietary methionine requirement of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus marigala* (Hamilton). *Aquaculture International* 11: 449-462.

Alam, M.S., Teshima, S., Ishikawa, M., Koshio, S. 2002. Influence of different dietary amino acid patterns on growth and body composition of juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture* 275: 283-290.

Anderson, J.S., Lall, S.P., Anderson, S.M., Mc Niven, M.A. 1993. Quantitative dietary lysine requirement of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fingerling. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 50: 316-322.

Arai, S., Ogata, H. 1991. Quantitative amino acid requirements of fingerling Coho salmon. In: Colli, M.R., McVey, J.P., (Eds), *Proceeding of the Twentieth US-Japan Symposium on Aquaculture Nutrition*. UJNR Department of Commerce, Newport, OR, USA, 19-28.

Berg, G.E., Sveier, H., Leid, E. 1998. Nutrition of Atlantic salmon (*Salmo salar*); The requirement and metabolic effect of lysine. *Comparative Biochemistry and Physiology* 120A: 477-485.

Borlongan, I.G., Benitez, L.V. 1990. Quantitative lysine requirement of milkfish (*Chanos chanus*) juveniles. *Aquaculture* 87: 341-347.

Cheng, Z.J., Hardy, R.W., Usry, J.L. 2003. Effects of lysine supplementation in plant protein-based diets on the performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and apparent digestibility coefficients of nutrients. *Aquaculture* 215: 255-265.

Colose, R.M., Murillo-Gurrea, D.P., Borlongan, I.G., Catacutan, M.R. 1999. Sulphur amino acid requirement of juvenile Asian sea bass *Lates calcarifer*. *Journal of Applied Ichthyology* 15: 54-58.

Cowey, C.B., Luquet, P. 1983. Physiological basis of protein

- requirements of fishes. Critical analysis of allowances. In: Arnal, M., Pion, R., Bonin, Protein Metabolism and Nutrition (D., eds), 1: 365-384. Institute National de la Recherche Agronomies, Paris.
- Cowey, C.B. 1994. Amino acid requirements of fish: a critical appraisal of present values. *Aquaculture* 124, 1-11.
- Cowey, C.B. 1995. Protein and amino acid requirements: A critique of methods. *Journal of Applied Ichthyology* 11: 199-204.
- De Silva, S.S., Gunasekera, R.M., Gooley, G. 2000. Digestibility and amino acid availability of three protein-rich ingredient-incorporated diet by Morray cod *Maccullochella peelii peelii* (Mitchell) and the Australian short-fin eel *Anguilla australis* Richardson. *Aquaculture Research* 31: 195-205.
- Encarnação, P., De lange, C., Rodehutschord, M., Hoehler, D., Bureau, W., Bureau, D.P. 2004. Diet digestibility energy content affects lysine utilization, but not dietary requirements of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) for maximum growth. *Aquaculture* 235: 569-586.
- Forster, I., Ogata, H.Y. 1998. Lysine requirement of juvenile red sea bream (*Pagrus major*). *Aquaculture* 161: 131-142.
- Fournier, V., Gouillou-Coustans, M.F., Metailler, R., Vachot, C., Moriceau, J., Le Delliou, H., Huelvan, C., Desbruyeres, E., Kaushik, S.J. 2003. Excess dietary arginine affects urea excretion but does not improved N utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and turbot *Psetta maxima*. *Aquaculture* 217: 559-576.
- Griffine, M.E., Brown, B.P., Grant, A.L. 1992. The dietary lysine requirement of hybrid striped bass. *Journal of Nutrition* 122: 1332-1337.
- Hauler, R.C., Carter, C.G. 2001. Reevaluation of the quantitative dietary lysine requirements of the fish. *Reviews in Fisheries Science* 9: 133-163
- Hung, S.S.O., Lutes, P.B. 1987. Optimum feeding rates of hatchery produced juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) at 20°C. *Aquaculture* 65: 307-317.
- Hung, S.S.O., Aikins, K.F., Lutes, P.B., Xu, R. 1989. Ability of juvenile white sturgeon (*Acipenser trasmontanus*) to utilize different carbohydrate source. *Journal of Nutrition* 119: 722-733.
- Hung, S.S.O. 1991a. Hand book of Nutrition requirement of Finfish. CRS press, 153-160.
- Hung, S.S.O. 1991b. Nutrition and feeding of hatchery-produced juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*): An overview. In: Williot, P. (ed.). *Proceeding of the First International on the Sturgeon*. Cemagref, France, 65-77.
- Jobling, M. 1992. *Fish Bioenergetics*, Chapman and Hall, Fish and Fisheries (Eds 13), 309p.
- Kaushik, S.G., Fauconneau, B. 1984. Effects of lysine administration on plasma arginine and on some nitrogenous catabolites in rainbow trout. *Comparative Biochemistry and Physiology* 79A: 459-462.
- Keembiyehetty, C.N., Gatliin, D.M. 1992. Dietary lysine requirement of juvenile hybrid striped bass (*Morene chrysops* × *M. saxatilis*). *Aquaculture* 104: 271-277.
- Ketola, H.G. 1983. Requirement for dietary lysine and arginine by fry of rainbow trout. *Journal of Animal Science* 56: 101-107.
- Kim, K.I., Kayes, T.B., Anderson, C.H. 1992. Requirements for lysine and arginine by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 106: 333-344.
- Luzzana, U., Hardy, R.W., Halver, J.E. 1998. Dietary argentine requirement of fingerling coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquaculture* 163: 137-150.
- Mai, K.S., Zhang, L., Ai, Q.H., Duan, A.Y., Zhang, C.X., Li, H.T., Wan, J.L., Liufu, Z.G. 2006. Dietary lysine requirement of juvenile Japanese seabass (*Lateoolabrax japonicus*). *Aquaculture* 258: 533-542.

- Marcouli, P.A., Alexis, M.N., Andrio Poulou, A., Iliopoulou-Georguaki, J. 2006. Dietary lysine requirement of juvenile gilthead seabream *Sparus aurata* L. *Aquaculture Nutrition* 12: 25-33.
- Murthy, H.S., Varghese, T.J. 1997. Dietary requirements of juveniles of the Indian major carp (*Labeo rohita*) for the essential amino acid lysine. *Israeli Journal of Aquaculture* 49: 19-24.
- Nose, T. 1979. Summary report on the requirements of essential amino acids for carp. In: Halver, J.E., Tiews, K. (Eds.), *Finfish Nutrition and Fish Diet Technology*. Heinemann, Berlin, Germany, 145-156.
- NRC (National Research Council). 1993. *Nutrient Requirements of fish*. National Academy press, Washington, DC.
- Peres, H., Oliva-Teles, A. 2008. Lysine requirement and efficiency of lysine utilization in turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles. *Aquaculture* 275: 283-290.
- Ravi, J., Devaray, K.V. 1991. Quantitative essential amino acid requirements for growth of cCatla, *Catla catla* (Hamilton). *Aquaculture* 96: 281-291.
- Santiago, C.B., Lovell, R.T. 1988. Amino acid requirements for growth of Nile tilapia. *The Journal of Nutrition* 118: 1540-1546.
- Simmons, L., Moccia, R.D., Bureau, D.P., Sivak, J.G., Herbert, K. 1999. Dietary Methionine requirement of juvenile Arctic char, *Salvelinus alpinus* (L.). *Aquaculture Nutrition* 59: 93-100.
- Tacon, A.G.J., Cowey, C.B. 1985. Protein and amino acids requirements. In: Tyler, P., Callow, P., eds). *Fish Energetics-New Perspectives* (155-183. Croom-Helm Ltd., Beckenham. UK.
- Tantikitti, C., Chimsung, N. 2001. Dietary lysine requirement of freshwater catfish (*Mysthus nemurus* cuv. & val). *Aquaculture Research* 32: 135-141.
- Tibaldi, E., Lanari, D. 1991. Optimal dietary lysine levels for growth and protein utilization of fingerling seabass (*Dicentrachus labrax* L.) fed semi purified diets. *Aquaculture* 95: 297-304.
- Walton, M.J., Cowey, C.B., Adron, J.W. 1984. The effect of dietary lysine level on growth and metabolism of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *The British Journal of Nutrition* 52: 115-122.
- Wang, S., Liu, Y.J., Tian, L.X., Xie, M.Q., Yang, H.J., Wang, Y., Liang, G.Y. 2005. Quantitative dietary lysine requirement of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Aquaculture* 249: 419-429.
- Wilson, R.P. 1985. Amino acid and protein requirements of fish. In: Cowey, C.B., Mackie, A.M., Bell, J.B. (Eds), *Nutrition and feeding in fish*. Academic Press, London, 1-15.
- Wilson, R.P., Halver, J.E. 1986. Protein and amino acid requirements of fishes. *Annual Review of Nutrition* 6: 225-244.
- Wilson, R.P. 1994. Amino acid requirements of fin fish. In: D'Mello, J.P.F. ed). *Amino acid in farm animal nutrition* (pp. 377-399. CAB International, Walling ford.
- Zhou, Q.C., Wu, Z.H., Tan, B.P., Chi, S.Y., Yang, Q.H. 2006. Optimal dietary methionine requirement for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture* 258: 551-557.
- Zhou, Q.C., Wu, Z.H., Chi, S.Y., Yang, Q.H. 2007. Dietary lysine requirement of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture* 273: 634-640.