فصلنامه علوم تکثیر و آبزی‌پروری/ سال دوم/ شماره سوم/ تابستان ۹۳/ صفحات ۷۶-۶۷

کاهش میزان پروتئین جیره با استفاده از اسید آمینه ال–لیزین و متیونین بر شاخص رشد، بقا و ترکیب لاشه ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

امیرحسین ناصری*[۱]، میثم سبزه[۱]، الهام عجم حسنی[۱]

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی اثر اسید آمینه ال–لیزین و میتونین بر شاخص‌های رشد، بقا و ترکیب لاشه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) انجام شد. بدین منظور ماهی قزل‌آلا با وزن اولیه ۱۰۵/۲۳±۶/۳۳ گرم به مدت ۸ هفته در ۵ تیمار با دو بار تکرار با سطوح مختلف لیزین (۱ و ۳ درصد) و میتونین (۱ و ۲ درصد) و تیمار شاهد مورد پرورش قرار گرفتند. مطابق با نتایج تیمار تغذیه‌شده با میتونین ۲ درصد بهترین شاخص‌های رشد را نشان داد. همچنین بیشترین میزان پروتئین لاشه در تیمارهای تغذیه‌شده با ال–لیزین و بیشترین چربی لاشه در تیمار تغذیه‌شده با میتونین ۲ درصد دیده شد.

کلید واژه: قزل‌آلای رنگین کمان(*Oncorhynchus mykiss*)، ال- لیزین، میتونین، رشد، ترکیب لاشه.

۱- گروه تکثیر و پرورش آبزیان، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران naseri@yahoo.com

۱- مقدمه

استفاده از جیره غذایی با کیفیت بالا سبب می شود تا ماهی با مصرف غذای کمتر در مدت زمان کوتاهتر، به وزن بازاری رسیده و به این ترتیب هزینه‌های تولید بطور قابل ملاحظه ای کاهش یابد. بیش از ۴۳ درصد از انرژی مورد نیاز ماهی قزل آلای رنگین کمان از پروتئین تأمین می‌شود (یداللهی، ۱۳۸۱). استفاده از پروتئین های گیاهی نه تنها از نظر اقتصادی به صرفه است بلکه از فشاری که برای تهیه غذای آبزیان بر تولید کنندگان می شود می کاهد (El-Sayed, ۱۹۹۹). امروزه بکارگیری از مواد اشتهاآور نظیر اسیدهای آمینه در جیره های آبزیان به دلیل بهبود مصرف غذا که از طریق افزایش سرعت بلع، کاهش زمان باقی ماندن غذا در آب و در نتیجه آلودگی آب جلوگیری به عمل می آید و از طرفی مصرف غذا با حداقل ضایعات، راندمان غذایی بالایی در پی خواهد داشت (Coman و همکاران، 1996) . مشخص‌کردن اسیدهای آمینه ضروری (EAA)[1] مورد نیاز ماهیان پرورشی از آنجا که بر رشد ماهی موثرند از اهمیت زیادی برخوردار است (Small و همکاران ۱۹۹۹). متیونین یک اسید آمینه ضروری و محدودکننده در بسیاری از جیره ها بویژه در پروتئین‌های گیاهی می باشد (Dabrowski و همکاران، ۱۹۸۹، Tacon و همکاران ۱۹۸۵). تعیین میزان متیونین در جیره از اهمیت بالایی برخوردار است زیرا در سنتز پروتئین ها به کار رفته و همچنین تبدیل به سیستئین می-شود، کاهش میزان متیونین در جیره از شرکت آن در سنتز پروتئین جلوگیری کرده و میزان متیونین ماهیچه کاهش می یابد (Ahmed و همکاران ۲۰۰۳، Mai و همکاران ۲۰۰۶). همچنین اسید آمینه ال-لیزین در بسیاری از ماهیان و سخت پوستان سبب افزایش عملکرد رشد و بازماندگی شده است (آذری تاکامی، ۱۳۸۱). بسیاری از محققین اعلام کرده اند که جیره‌هایی که سبب افزایش رشد و بازماندگی می‌شوند، باعث بالا رفتن مقاومت موجود در برابر شرایط استرس‌زای محیطی نیز خواهند شد (Treberg & Driedzic, 2007; Paibulkichakul et al., 1998; Saoud & Davis, 2005; Kontara et al., 1997). با بالا رفتن مقاومت ماهی در برابر شرایط استرس‌زای محیطی، می‌توان در مدت زمان مشابه، تعداد بیشتری ماهی را در واحد سطح پرورش داد و به این ترتیب از حداقل فضای موجود در پرورش، حداکثر استفاده را برد و بدین ترتیب هزینه‌های تولید را کاهش داد. بنابراین تعیین سطح بهینه اسید آمینه در رشد و تهیه جیره‌های تجاری خاص این گونه امری ضروری و حیاتی است.

۲- مواد و روش کار

این تحقیق در کارگاه آموزشی و پژوهشی آبزی پروری دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر به انجام رسید. جهت انجام عملیات پرورشی از ۹ حوضچه فایبرگلاس ۵۰۰ لیتری با تراکم ۱۵ قطعه

1 -Essential Amino Acid

ماهی قزل آلا با وزن متوسط ۶/۳۳±۱۰۵/۲۳ گرم در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به مدت ۸ هفته با ۵ تیمار و ۲ تکرار برای هر تیمار در شرایط یکسان پرورشی استفاده شد. در این تحقیق ۲ جیره آزمایشی با سطوح مختلف لیزین (۱ و ۳ درصد جیره و پروتئین ۳۰٪)، ۲ جیره آزمایشی با سطوح مختلف متیونین (۱ و ۲ درصد جیره و پروتئین ۳۰٪) به همراه جیره شاهد (جیره فاقد مکمل ال-لیزین و متیونین با پروتئین ۴۰٪) در نظر گرفته شد. ماهیان به میزان ۳ درصد وزن بدن ۳ بار در روز (ساعات ۸:۰۰، ۱۲:۰۰، ۱۶:۰۰) به مدت ۸ هفته تغذیه شدند. برای تهیه جیره ابتدا مواد غذایی خشک و سپس اقلام غذایی مایع با هم مخلوط گردیدند. در ادامه با استفاده از چرخ گوشت صنعتی به قطر ۲/۵ میلیمتر، غذاها بصورت پلت درآمد که بعد از خشک شدن در بسته بندی های مناسب بسته‌بندی و کد گذاری گردید و تا زمان مصرف در یخچال با دمای ۴- درجه سانتی گراد نگهداری شد. همچنین شرایط محیطی آب بطور روزانه بررسی گردید (میانگین دما: ۱/۴±۱۶/۳، میانگین اکسیژن محلول ۰/۴۷±۸/۷، میانگین pH: ۰/۰۷±۷/۲). هر ۲ هفته یکبار به منظور بررسی فاکتورهای رشد، بیومتری ماهیان هر تیمار انجام می شد. به منظور کاهش استرس ماهیان هنگام زیست سنجی، ماهیان با استفاده از عصاره گل میخک (۱۰۰ ppm) بیهوش شده (کرمپور بهشت آباد ۱۳۹۰)، همچنین غذادهی ماهیان به مدت ۱۲ ساعت قبل و بعد از زیست سنجی قطع گردید. افزایش بدن، درصد افزایش بدن، نرخ رشد ویژه، نسبت کارایی پروتئین، فاکتور وضعیت، درصد بقا و شاخص قیمت از طریق فرمول‌های زیر محاسبه گردید (Tacon., 1990).

BWI(Body Weight Increase)= BWf-BWI

PBWI(Percentage Body Weight Increase)= ((BWf/BWI))×100

SGR(Specific Growth Rate)= {(Ln BWf-Ln BWI)/t}

PER(Protein Efficiency Rate)= (BWf-BWI)/ Protein intake

Cf(Condition Factor)= $W \times 100/L^3$

SP(Survival Percent)= ((BWf-BWI)×100)/**Wf**)

L = طول کامل

BWF = وزن نهایی بدن (گرم)

BWI = وزن اولیه بدن (گرم)

T = زمان(روز)

پس از اتمام دوره پرورش به منظور بررسی ترکیب لاشه ماهیان پس از اطمینان از تخلیه کامل محتویات شکم ماهیان از هر تیمار ۳ عدد ماهی بطور تصادفی انتخاب شده و پس از خارج نمودن

امعا و احشاء لاشه منجمد شده و به آزمایشگاه انتقال یافت. میزان پروتئین لاشه با استفاده از دستگاه کجلدال، چربی لاشه با دستگاه سوکسله، رطوبت با قرار دادن در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت و برای سنجش خاکستر از کوره الکتریکی هریوس آلمانی با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۴ ساعت استفاده شد (AOAC., 1990).

۳- تجزیه تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل بر روی داده های مربوط به تغییرات معیارهای رشد، فاکتورهای تغذیه‌ای، ترکیب شیمیایی بدن و فعالیت لیزوزیم سرم از طریق آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (ANOVA) و مقایسه میانگین بین تیمارها بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن (Duncans multiple-range test) استفاده شد. وجود یا عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ با استفاده از نرم افزار SPSS (Ver. 18) انجام گرفت.

۴- نتایج

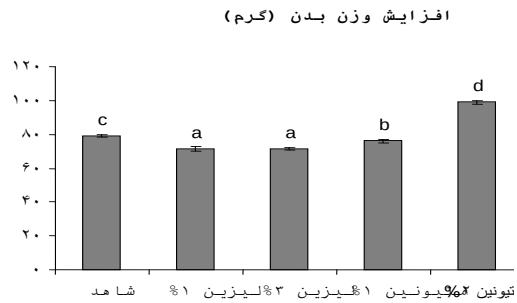
در مطالعه حاضر افزایش وزن بدن در تیمارهای مختلف دارای اختلاف معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). (نمودار ۱). درصد افزایش وزن بدن در تیمار های مختلف دارای اختلاف معنی دار بود (P<۰/۰۵). (نمودار ۲). در این مطالعه تیمارهای آزمایشی از نظر نرخ رشد ویژه دارای تفاوت معنی دار با تیمار شاهد بودند (P<۰/۰۵). (نمودار ۳).

ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای مختلف فاقد اختلاف معنی دار بود (P<۰/۰۵) و بهترین ضریب تبدیل مربوط به تیمار شاهد و معادل ۱/۳۸±۰/۰۰۷ می باشد (نمودار ۴).

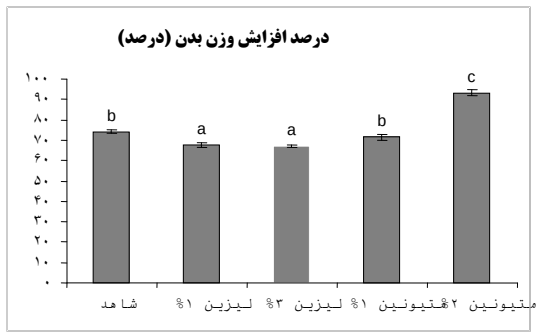
در مطالعه حاضر حداکثر میزان این شاخص مربوط به تیمار شاهد و به میزان ۱/۳۰±۰/۱۷ بود و هیچ تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد مشاهده نشد (P<۰/۰۵). (نمودار ۵).

نسبت کارایی پروتئین: نسبت کارایی پروتئین در بین تیمار های آزمایشی دارای اختلاف معنی-داری بود (P>۰/۰۵). بطوریکه کمترین و بیشترین مقدار به ترتیب مربوط به تیمار تغذیه شده با ال-لیزین ۱۰ و تیمار شاهد بود (نمودار ۶).

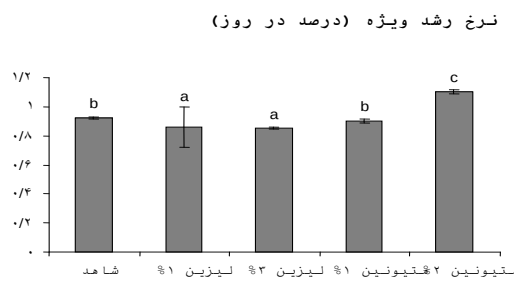
درصد بازماندگی: همچنین از ابتدا تا انتهای دوره پرورش هیچ تلفاتی در بین تیمارهای تحت بررسی صورت نگرفت و نرخ بقاء ماهیان جوان پرورشی در استراتژی های غذایی مختلف فاقد تفاوت معنی دار با تیمار شاهد بود (P>/۰۵).



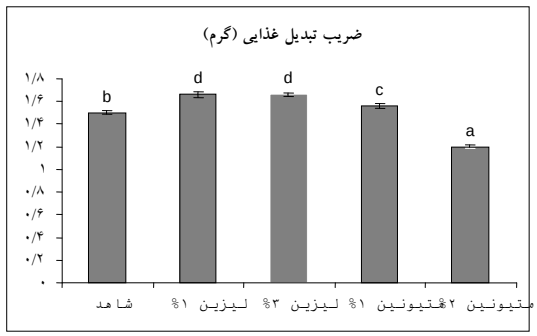
نمودار ۱. افزایش وزن بدن



نمودار ۲. درصد افزایش وزن بدن



نمودار ۳. نرخ رشد ویژه



نمودار ۴. ضریب تبدیل غذایی

نمودار ۵. فاکتور وضعیت

نمودار ۶. نسبت کارایی پروتئین

تأثیر جیره‌های حاوی سطوح مختلف مواد جاذب ال-لیزین و متیونین بر ترکیب شیمیایی بدن ماهیان قزل آلا در جدول ۱ ارائه گردیده است. نایج آنالیز لاشه تفاوت معنی‌داری را از نظر پروتئین، چربی و خاکستر در بین تیمارها نشان داد (P<۰/۰۵). به طوری که بیشترین میزان پروتئین در تیمار ال-لیزین ۱ و ۳ درصد ، بیشترین میزیان چربی و خاکستر در تیمار در تیمار متیونین ۲٪ مشاهده شد.

جدول ۱. آنالیز تجزیه شیمیایی بدن ماهیان قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با مواد جاذب ال-لیزین و متیونین طی مدت ۶۰ روز

تیمار / شاخص	شاهد	ال-لیزین ۱٪	ال-لیزین ۳٪	متیونین ۱٪	متیونین ۲٪
پروتئین	۱۶/۶۴±۰/۲۶^{a}	۱۸/۰۶±۰/۳۳^{b}	۱۸/۶۰±۰/۷۱^{b}	۱۶/۱۸±۰/۷۵^{a}	۱۶/۶۳±۰/۴۹^{c}
چربی	۳/۸۳±۰/۲۴^{a}	۳/۸±۰/۱۸^{a}	۴/۵±۰/۳۲^{b}	۴/۲۵±۰/۱۰^{ab}	۵/۲۳±۰/۲۷^{c}
خاکستر	۲/۰۵±۰/۱۴^{a}	۲/۰۴±۰/۱۵^{a}	۲/۴۷±۰/۱۷^{b}	۲/۳۲±۰/۱۱^{ab}	۳/۱۱±۰/۲۶^{c}

۵- بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که مواد جاذب مورد استفاده بر شاخص های افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و فاکتور وضعیت دارای اثر معنی دار داشت (P<۰/۰۵) و تنها در شاخص نسبت کارایی پروتئین اختلاف معنی دار وجود نداشت (P>۰/۰۵). De la Higuera (۲۰۰۱) در مطالعه ای که روی ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) انجام شد به این نتایج رسید که ماهیان تغذیه شده با رژیم غذایی فاقد مکمل آمینواسید لیزین و متیونین، کاهش قابل توجهی در میزان غذای خورده شده، افزایش وزن وکارایی تغذیه نسبت به ماهیان تغذیه شده با اسیدهای آمینه لیزین و متیونین نشان داد که با مشابه نتایج مطالعه حاضر بود. مطالعه Halver و همکاران (۱۹۵۹) روی آزاد ماهی چینوک(*Chinook salmon*) نشان داد که مناسب‌ترین ضریب تبدیل غذایی و کارایی تغذیه، هنگام تغذیه با ۲۰ گرم بر کیلوگرم لیزین بود درحالی که در مطالعه حاضر بهترین میزان ضریب تبدیل در تیمار شاهد مشاهده شد. Santiago (۱۹۸۸) احتیاجات اسید آمینه لیزین را در ماهی تیلاپیا (*Nile tilapia*) مورد بررسی قرار داد که براساس نتایج آن مشخص شد بهترین سطح اسید آمینه لیزین در جیره این ماهی ۱/۳ گرم بر کیلوگرم است، این مقدار لیزین ۴/۶٪ از کل پروتئین جیره را شامل شد. Sardar و همکاران (۲۰۰۹) اثر دو اسید آمینه لیزین و متیونین را روی ماهی کپور هندی (*Labe rohita*) مطالعه کرد براساس نتایج بدست آمده بیشترین میزان وزن و نرخ رشد ویژه در تیمار تغذیه شده با ترکیب اسید آمینه لیزین و متیونین مشاهده شد در حالی که در تحقیق حاضر بیشترین میزان نرخ رشد ویژه مربوط به تیمار تغذیه شده با ۲٪ متیونین بود. سوداگر و همکاران (۱۳۸۳) با بررسی تأثیر بتائین و متیونین به عنوان ماده

جاذب بر روی رشد بچه فیل ماهیان بیان کردند که این مواد می توانند سبب افزایش خوش خوراکی غذا شده و باعث بهبود فاکتورهای رشد در بچه فیل ماهیان گردند که با نتایج به دست آمده از آزمایش‌های حاضر مطابقت داشت. Goh and Tamura در سال ۱۹۸۰ با بررسی اثر ال-آلانین، ال-سیستئین و ال-سرین بر روی گونه سیم دریایی قرمز (*Red sea bream*)نشان دادند که استفاده از این مواد در جیره غذایی ماهی سبب افزایش غذاگیری در ماهیان می‌گردد که مشابه نتایج مطالعه حاضر بود. فکراندیش و همکاران (۱۳۸۴) سطوح مختلف بتائین و متیونین در جیره بر تحریک غذاگیری میگوی سفید هندی (*Penaeus indicus*) را بررسی کردند که نتایج حاکی از افزایش میزان غذای خورده شده در میگوهای تغذیه شده با ترکیب اسیدهای آمینه متیونین و بتائین بود. همچنین نتایج حاکی از وجود اختلاف معنی دار بین تیمارهای آزمایشی بود بطوری که بیشترین میزان پروتئین و خاکستر در تیمار ۱/۵ گرم بر کیلوگرم و بیشترین میزان چربی در تیمار ۰/۵ گرم بر کیلوگرم متیونین مشاهده شد. پیک موسوی و همکاران (۱۳۸۷) اثر سطوح مختلف اسید آمینه متیونین بر فاکتورهای رشد و ترکیبات بدن بچه فیل ماهیان جوان (*Huso huso*) بررسی و گزارش کردند که افزایش سطوح متیونین باعث افزایش رشد و بازماندگی بچه فیل ماهیان جوان شد. El-Saidy و Gaber (۲۰۰۲) مطالعه ای روی ماهی تیلاپیا رود نیل انجام دادند و نتایج را اینگونه گزارش کردند که ماهیان تغذیه شده با مکمل غذایی لیزین ۱۰ گرم بر کیلوگرم و متیونین ۵ گرم بر کیلوگرم باعث بهبود افزایش وزن و کارایی غذا، نسبت به تیمار شاهد (جیره فاقد مکمل اسید آمینه) گردید. Yang و همکاران (۲۰۱۰) تاثیر مکمل لیزین و متیونین روی عملکرد رشد و ترکیب شیمیایی بدن ماهی آمور (*Ctenopharyngodonidella*) بررسی کردند که نتایج حاکی از بهبود عملکرد رشد و تغذیه که شامل افزایش وزن نهایی، ماندگاری پروتئین، فاکتور وضعیت و بهبود ضریب تبدیل غذایی بود. همچنین در خصوص ترکیب شیمیایی بدن نتایج حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار در میزان چربی و عدم وجود اختلاف معنی‌دار در میزان پروتئین و خاکستر بدن ماهیان مورد بررسی بود در حالی که در مطالعه اخیر ترکیب شیمیایی بدن داری اختلاف معنی‌دار بود.

فهرست منابع

۱. **آذری تاکامی، ق.، ۱۳۸۱.** بررسی مقایسه ای میزان رشد و بازماندگی قزل آلای رنگین کمان بر اثر جایگزینی مناسب بتافین در جیره به جای کولین کلراید. گزارش نهایی فارمی، ص۱۶.

۲.**پیک موسوی، م.، بهمنی، م .، سواری، ا.، محسنی، م.، حقی، ن.، ۱۳۸۷.** بررسی سطوح مختلف اسید آمینه متیونین بر فاکتور های رشد و ترکیبات بدن بچه فیل ماهیان جوان (Huso huso). نشریه دامپزشکی، شماره ۸۹، بهار

۳. **سوداگر، م.، آذری تاکامی، ق.، پانوماریف، س .، محمودزاده، ه.، عابدیان، ع.، حسینی، ع.، ۱۳۸۶.** بررسی اثرات سطوح مختلف بتائین و متیونین به عنوان جاذب بر شاخص های رشد و بازماندگی فیل ماهیان جوان. مجله علمی شیلات، شماره ۲، تابستان

۴. **فکراندیش، ح.، عابدیان کناری، ع.، متین فر، ع.، منفرد، ن.، دهقانی، ع.، ۱۳۸۴.** تاثیر بتائین و متیونین در جیره بر تحریک غذاگیری میگوی سفید هندی. مجله پژوهش سازندگی، شماره ۷۳.

۵.**کرمپور بهشت آباد، ا.، ۱۳۹۰.** تأثیر سطوح مختلف پربیوتیک مانان الیگو ساکارید بر شاخص های رشد، بازماندگی و ترکیب لاشه بچه ماهی کپور معمولی (Cyprinus carpio). پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر، ۶۰ صفحه.

۶. **یداللهی، ف.، ۱۳۸۱.** تاثیر سطوح مختلف روغن ماهی و روغن آفتابگردان جیره را بر روی کمیت و کیفیت گوشت قزل آلای رنگین کمان. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی و فرآورده های کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان. ۸۲ صفحه.

7.**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.

8.**AOAC (Association of Official Analytical Chemists). (1990).** Official method of analysis AOAC, Washington DC, USA.1263P.

9.**Coman, G. J. , Sarac, H. Z. , Fielder, D. Thorne, M., (1996**). Evaluation of 4 crystalline amino acid, betaine and AMP as food attractant of the Giant Tiger Prawn (Penaeus monodon). Biology – Physiology. 113: 247-253.

10.**Dabrowski. K., Poczyczynski. P., Kock. G., Berge. B., (1989)**. Effect of partially or totally replacing fish meal protein by soybean meal protein on growth,food utilization and proteolytic enzyme activities in rainbow trout (Salmo gairdneri). New in vivo test for exocrine pancreatic secretion. Aquaculture77,29-49.

11.**De la Higuera, M., (2001).** Effects of nutritional factors and feed characteristics on feed intake. In: Food Intake in Fish. (eds D. Houlihan, T. Boujard and M. Jobling) Blavkwell Science. Oxford. pp.

12.**El-Sayed, A.F.M., 1999.** Alternative dietary protein sources for farmed tilapia, *Oreochromiss* Spp. Oceanography department, Faculty of Science, University of Alexandria, Alexandria, Egypt. Aquaculture, 179, 149-168.

13.**El-Saidy, D.M.S.D. and M.M.A. Gaber., (2002).** Complete replacement of fish meal by soybean meal with dietary L-lysine supplementation for Nile tilapia Oreochromis niloticus (L.) fingerings. J. World Aquaculture Soc. 33(3): 297-306.

14.**Goddard, S., (1996).** Feed management in intensive aquaculture.New York. Pp: 241.

15.**Goh, Y., and Tamura, T., (1980)**. Effect of amino acids on the feeding behavior in red sea bream. Comparative Biochemistry and Physiology 66C, 225-229.

16.**Halver, J.E., DeLong, D. C. & Mertz, E. T., (1959**). Threonine and lysine requirements of Chinook salmon. Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Bio., 17, 478 (abstr. 1873).
17.**Kontara E., Lavens P. and Sorgeloos P., (1997)**. Dietary effects of DHA/EPA on culture performance and fatty acid composition of *penaeus monodon postlarvae*. In: (Lavens, E. Iaspers, & I. Roeland eds.), Larvi 95 Fish and Shellfish Larviculture Symposium. Europe Aquaculture Society, Ghent. pp.204-208.
18.**Mai, K., Wan. J, Ai. Q. ,Xu.W., Liufu, Z., Zhang. L., Zhang. C., Li.H., (2006)**. Dietary methionine requirement of large yellow croaker,*Pseudosciaena crocea R*, Aquaculture, 253,564-572.
19.**Paibulkichakul, C., Piyatiratitivorakul , S ., kittakoop , P ., Viyakam , V., Fast, A. W. and Menasveta, P., (1998**). Optimal dietary levels of lecithin and cholesterol for black tiger prawn *Penaeus monodon* larvae and postlarvae. Aquaculture 167, 273-281.
20.**Santiago, C.B., (1998).** Approches and design of fish nutrition experiments. Training course on fish nutrition. SEAFDEC. Philippines. Vol. 11. pp.1-7.
21.**Saoud I.P. and Davis D.A., (2005).** Effect of betaine supplementation to feeds of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* reared at extreme salinities. North American Journal of Aquaculture, 67:351-353.
22.**Sardar, P., Abid, M., Randhawa, H.S., Prabhkar, S.K., (2009)**. Effect of dietary lysine and methionine supplementation on growth, nutrientutilization, carcass compositions and haemato- biochemical status in Indian Major Carp, Rohu(Labe orohita H) fed soy protein- based diet. Aquaculture, 11:123-138.
23.**Small B.C and soares J.H. Jr., (1999)**. quantitative dietary thteonine requirement of juvenile striped bass Morone saxatilis. Journal of the World Aquaculture Society 30:319-323.
24.**Sudagar, M., Imanpour, M.R., and Hoseinifar, S.H., (2004).** Effect of Optimun (Ascogen or vannagen) Growth stimulant supplementation on the Growth and survival rate of Grand Beluga juvenile (Huso huso Linnaeus). Iranian Scientific – Research Journal of Iran Marine Sciences.Vol. 3, No 2, 3 spring & summer 2004.
25.T**acon. A.G., Jacson. A.J., (1985).** Utilization of conventional and unconventional protein sources in practical fish feeds.in: Cowey. C.B., Mackie. A.M., Bell. J.G., (Eds) ,Nutrition and feeding in fish.Academic press,London,pp.119-145.
26.**Tacon, A.G., 1990.** Standard methods for the nutrition and feeding of farmed fish and shrimp, Vol.3.feeding methode. Agent Laboratories Press, Redmond.
27.**Treberg, J. R. and Driedzic, W. R., (2007).** The accumulation and synthesis of betaine in winter skate (*Leucoraja ocellata*). Comparative Biochemistry and Psychology. A Mol. Integr. Physiol. 147, 475-483.
28.**Yang, H. J., Liu, Y. J., Tian, L. X., Liang, G. Y And Lin, H, R., (2010)**. Effects of Supplemental Lysine and Methionine on Growth Performance and Body Composition for Grass Carp (*Ctenopharyngodonidella*). American Journal of Agricultural and Biological Sciences. 5 (2): 222-227.