

The effect of lysine supplementation on growth performance, carcass composition and digestibility of nutrients in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed with a low protein diet

Mehrani, R.¹, Ouraji, H.^{1*}, Firouzbakhsh, F.¹, Jani khalili, K.¹

1- Department of Fisheries, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

Received: 24 July 2024

Accepted: 19 October 2024

Abstract

Introduction: The aim of this study was to investigate the effect of different levels of lysine on growth performance, carcass composition and digestibility of nutrients in rainbow trout fed with a low protein diet.

Materials and Methods: For this purpose, 400 fish with an average initial weight of 6 grams were purchased and distributed in 18 tanks for 8 weeks. Six experimental treatments include diet containing 42% protein and 24% fish meal (control 1), 37% protein and containing 24% fish meal (control 2), 37% protein and containing 12% fish meal (control 3), and diet The ones containing control 3 as a base were supplemented with 0.25, 0.5 and 1% lysine. The treatments were considered in 3 replications with 20 pieces of fish for each replication.

Results and Discussion: The result showed that decreasing the percentage of dietary protein led to a significant decrease in final weight, increase in body weight and specific growth rate ($P < 0.05$). Adding different levels of lysine to the diet improved these values so that they were not significantly different compared to control 1 ($P > 0.05$). The food conversion was significantly improved in fed fish by 0.25% and 0.5% ($P < 0.05$). Also, the protein of fish carcasses fed with 0.5% lysine was similar to control 1, and this amount decreased significantly in other treatments ($P < 0.05$). In addition, protein digestibility decreased significantly with the reduction of both protein and fish meal in the diet (control 3), while in controls 1 and 2 and treatments containing 0.25 and 0.5% lysine, it was higher than others experimental treatments.

Conclusion: it seems that by adding 0.5% of lysine, the protein in the diet of baby rainbow trout can be reduced from 42% to 37% and fish meal from 24% to 12% without having a detrimental effect on growth. Carcass quality and protein digestibility.

Keywords: Amin acid, protein restriction, growth performance, carcass compositon

* *Corresponding Author: hoseinoraji@yahoo.com*

"مقاله پژوهشی"

تأثیر افزودن مکمل لیزین بر عملکرد رشد، ترکیب لاشه و هضم پذیری مواد مغذی در بچه ماهیان قزل آلا (Onchorhynchus mykiss) رنگین کمان تغذیه شده با جیره کم پروتئین

روح اله مهرانی^۱، حسین اورجی^{۱*}، فرید فیروزبخش^۱، خسرو جانی خلیلی^۱

۱- گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۷/۱۹

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۵/۳

چکیده

هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر سطوح مختلف لیزین بر عملکرد رشد، ترکیب لاشه و هضم پذیری مواد مغذی در بچه ماهیان قزل آلا رنگین کمان تغذیه شده با جیره کم پروتئین بود. بدین منظور ۴۰۰ قطعه بچه ماهی با میانگین وزنی اولیه 6 ± 0.1 گرم خریداری و در ۱۸ مخزن پرورشی به مدت ۸ هفته توزیع گردیدند. شش تیمار آزمایشی شامل جیره حاوی ۴۲ درصد پروتئین و ۲۴ درصد پودر ماهی (شاهد ۱)، ۳۷ درصد پروتئین و حاوی ۲۴ درصد پودر ماهی (شاهد ۲)، ۳۷ درصد پروتئین و حاوی ۱۲ درصد پودر ماهی (شاهد ۳)، و جیره های حاوی شاهد ۳ به عنوان پایه همراه با ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد مکمل لیزین بودند. تیمارها در ۳ تکرار برای هر تکرار ۲۰ قطعه ماهی در نظر گرفته شد. نتیجه نشان داد کاهش درصد پروتئین جیره منجر به کاهش معنی داری در وزن نهایی، افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه گردید ($p < 0.05$). افزودن سطوح مختلف لیزین به جیره این مقادیر را بهبود بخشید بطوریکه تفاوت معنی داری در مقایسه با شاهد ۱ نداشتند ($p < 0.05$). ضریب تبدیل غذایی به طور معنی داری در ماهیان تغذیه شده با ۰/۲۵ درصد و ۰/۵ درصد بهبود یافت ($p < 0.05$). همچنین، پروتئین لاشه ماهیان تغذیه شده با ۰/۵ درصد لیزین مشابه با شاهد ۱ بود و این مقدار در سایر تیمارها به طور معنی داری کاهش یافت ($p < 0.05$). علاوه بر این، هضم پذیری پروتئین با کاهش توام پروتئین و پودر ماهی در جیره (شاهد ۳) به طور معنی داری کاهش پیدا کرد درحالیکه در شاهد ۱ و ۲ و تیمارهای حاوی ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد لیزین بالاتر از سایر تیمارهای آزمایشی بود ($p < 0.05$). در مقابل، هضم پذیری چربی، چربی، خاکستر و رطوبت لاشه تحت تأثیر جیره های آزمایشی قرار نگرفتند ($p < 0.05$). به نظر می رسد با افزودن ۰/۵ درصد لیزین می توان پروتئین جیره بچه ماهیان قزل آلا رنگین کمان را از ۴۲ به ۳۷ درصد و پودر ماهی را از ۲۴ به ۱۲ درصد کاهش داد بدون اینکه تأثیر مخربی بر رشد، کیفیت لاشه و هضم پذیری پروتئین داشته باشد.

کلمات کلیدی: اسید آمینه، محدودیت پروتئین، عملکرد رشد، ترکیب لاشه

* عهده دار مکاتبات: hoseinoraji@yahoo.com

مقدمه

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) از گونه‌های محبوب پرورشی در ایران محسوب می‌گردد. به دلیل گوشتخوار بودن این گونه استفاده از پودر ماهی جزو قسمت جدانشدنی جیره به حساب می‌آید. پودر ماهی به دلیل محتوی پروتئین بالا، الگوی اسید آمینه مناسب، قابلیت هضم بالا، دارا بودن مواد مغذی و خوشخوراکی به عنوان بهترین منبع تامین‌کننده پروتئین در جیره ماهیان گوشتخوار محسوب می‌شود (Gatlin *et al.*, 2007). در گونه‌های گوشتخوار جایگزینی کامل پودر ماهی هنوز یک چالش است (Najafi *et al.*, 2024). محدودیت تولید این منابع پروتئین حیوانی و بالا بودن قیمت آن منجر به افزایش استفاده از منابع گیاهی شده است (Wu *et al.*, 2022). از طرفی، استفاده از پروتئین‌های گیاهی در آبرزی پروری نیز محدودیت‌هایی را نشان داده و سبب ناکافی بودن اسیدهای آمینه ضروری و مواد مغذی و مشکلات هضمی پس از تغذیه می‌گردد (García-Ulloa *et al.*, 2017). به منظور بهینه‌سازی رشد، متابولیسم و سلامت عمومی ماهی باید مقادیر کافی از اسیدهای آمینه و منابع نیتروژنی در جیره فراهم گردد (Teles *et al.*, 2020). در صورتیکه عملکرد مطلوب ماهی از لحاظ رشد حفظ شود، کاهش سطح پودر ماهی در جیره می‌تواند به عنوان یک استراتژی مهم جهت توسعه پایدار صنعت پرورش قزل‌آلای رنگین-کمان مطرح باشد که کاهش هزینه تولید و افزایش پایداری آبرزی‌پروری را در پی دارد (Gaylord and Barrows, 2009). کمبود پروتئین می‌تواند با متعادل کردن اسیدهای آمینه و افزودن اسیدهای آمینه مورد نیاز به جیره جبران گردد و افزایش قابلیت استفاده از

پروتئین را به همراه داشته باشد (Ren *et al.*, 2017). احتیاجات پروتئینی در واقع مجموع اسیدهای آمینه مورد نیاز بدن جانور است که برای ابقای پروتئین، بیوسنتز ترکیبات حدواسط متابولیکی و تأمین انرژی تعریف می‌شود. ۱۰ اسید آمینه ضروری برای رفع احتیاجات قزل‌آلای رنگین‌کمان تعریف شده است (Hardy, 2002). از میان اسیدهای آمینه ضروری، لیزین به عنوان مهمترین اسید آمینه ضروری و محدود کننده مطرح می‌باشد ماهی به دلیل فقدان آنزیم ترانس آمیناز مربوطه، قادر به سنتز اسید آمینه لیزین نبوده و می‌بایست از طریق جیره غذایی تامین گردد (Wilson, 2002). مقدار بهینه لیزین در جیره سبب بهبود رشد، کارایی غذا و سلامت ماهی می‌گردد، این درحالیست که مازاد لیزین جیره هم می‌تواند به دلیل اثر آنتاگونیستی با اسید آمینه آرژنین منجر به کاهش رشد گردد (Li *et al.*, 2019). در مقابل، کمبود لیزین در جیره سبب ایجاد اثرات منفی بر رشد، کارایی غذا، اشتها، کارایی پروتئین و افزایش مرگ و میر می‌شود (Mai *et al.*, 2006). یکی از روش‌ها برای برآورد احتیاجات اسیدهای آمینه و بالانس اسیدهای آمینه جیره، تطابق نسبت‌های اسید آمینه‌ای جیره با نسبت‌های آنها در بافت بدن هست (Gaylord and Barrows, 2009). طبق گزارش NRC (۲۰۱۱)، مقدار مورد نیاز لیزین در جیره قزل‌آلا ۲/۳۱ درصد جیره گزارش شده است. این مقدار با توجه به اجزای دیگر جیره به خصوص مقدار پودر ماهی متغیر است و مقدار بهینه لیزین در جیره کم پروتئین نیازمند بررسی می‌باشد. همچنین، به منظور توسعه آبرزی‌پروری پایدار، مطالعه بر روی تاثیر کاهش پودر ماهی در جیره ضروری به نظر می‌رسد. از این‌رو، در مطالعه کنونی به بررسی افزودن

اسید آمینه لیزین در قزل آلالی رنگین کمان تغذیه شده با جیره کم پروتئین پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

شرایط انجام پرورش و تیمارهای آزمایشی

تعداد ۴۰۰ قطعه بچه ماهی قزل آلالی رنگین کمان با میانگین وزنی اولیه 0.11 ± 6 گرم خریداری و به مدت ۲ هفته با شرایط آزمایش سازگار شدند. تیمارهای آزمایش در ۶ تیمار و ۳ تکرار بوده و برای هر تکرار، ۲۰ قطعه ماهی در هر مخزن توزیع گردید. غذادهی بر اساس شرایط دمایی و وزن ماهیان سه وعده در روز به روش سیری (اشباع) انجام شد. طول دوره آزمایش ۸ هفته در نظر گرفته شد. فاکتورهای آب شامل: درجه حرارت، pH، اکسیژن محلول به صورت روزانه اندازه گیری و ثبت گردید.

تیمارهای آزمایشی شامل جیره کم پروتئین (۳۷ درصد) حاوی سطوح مختلف مکمل لایزین بودند و با گروه‌های شاهد متشکل از مقادیر مختلف پروتئین و پودر ماهی به عنوان کنترل مثبت و منفی مقایسه گردیدند.

۱- جیره با ۴۲٪ پروتئین و حاوی ۲۴٪ پودر ماهی

بدون مکمل لیزین

۲- جیره با ۳۷٪ پروتئین و حاوی ۲۴٪ پودر ماهی

بدون مکمل لیزین

۳- جیره با ۳۷٪ پروتئین و حاوی ۱۲٪ پودر ماهی

بدون مکمل لیزین

۴- جیره با ۳۷٪ پروتئین و حاوی ۱۲٪ پودر ماهی

+ ۰/۲۵ درصد مکمل لیزین

۵- جیره با ۳۷٪ پروتئین و حاوی ۱۲٪ پودر ماهی

+ ۰/۵ درصد مکمل لیزین

۶- جیره با ۳۷٪ پروتئین و حاوی ۱۲٪ پودر ماهی

+ ۱ درصد لیزین

تهیه جیره

به منظور آماده سازی جیره‌های آزمایشی از مواد اولیه شامل پودر ماهی، پودر ضایعات طیور، کنجاله سویا، گلوتن ذرت و آرد گندم استفاده گردید. ابتدا مواد اولیه خشک شامل پودر ماهی، کنجاله سویا و آرد گندم کاملاً با هم مخلوط شده و روغن به آنها اضافه شد. سپس آب تا مقداری که مخلوط حالت خمیری به خود بگیرد، اضافه گردید. خمیر حاصل از یک چرخ گوشت با قطر صفحه ۲/۵ میلی متر عبور داده شده که به صورت رشته‌ای در آیند، پلت‌های خارج شده از چرخ گوشت روی پلاستیک گسترده شده و در دمای اتاق کاملاً خشک شدند. در طول مدت خشک شدن، غذاهای پلت شده مرتب به هم زده شد تا به صورت یکنواخت با یکدیگر مخلوط گردند. پس از خشک شدن، جیره‌های غذایی در کیسه‌های پلاستیکی ضخیم بسته‌بندی و شماره گذاری شده و تا زمان مصرف در دمای ۳۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. فرموله کردن بر اساس احتیاجات غذایی این گونه طبق جدول ۱ انجام گرفت (NRC, 2011).

جدول ۱: فرمولاسیون جیره‌های آزمایشی بر اساس سطوح مختلف پروتئین و لیزین

Table 1: Formulation on experimental diets based on protein and lysine

Ingredients	42%prtein+ 24% Fish Meal	37%prtein+ 24% Fish Meal	37%prtein+ 12% Fish Meal	37%prtein+ 12% Fish Meal+ 0.25 %lysine	37%prtein+ 12% Fish Meal+0.5% lysine	37%prtein+ 12% Fish Meal+ 1%lysine
Fish meal	24	24	12	12	12	12
Meat meal	20	20	20	20	20	20
Soybean meal	14	14	14	14	14	14
Corn gluten	12	3	16	16	16	16
Wheat meal	18	5.26	25	.7524	5.24	24
Fish oil	5	25.5	5.5	5.5	5.5	.55
Soybean oil	5	25.5	5.5	5.5	.55	5.5
Mineral mix 1	1	1	1	1	1	1
Vitamin mix 2	1	1	1	1	1	1
L- lysine	0	0	0	.250	.50	1

^۱مکمل معدنی تشکیل شده از ۲۶۰۰ میلی گرم منگنز، ۶۰۰ میلی گرم مس، ۶۰۰۰ میلی گرم آهن، ۴۶۰۰ میلی گرم روی، ۵۰ میلی گرم سلنیوم، ۱۰۰ میلی گرم ید، ۵۰ میلی گرم کبالت، ۱۰۰۰۰۰ میلی گرم کولین کلراید

^۲مکمل ویتامینی تشکیل شده از ۱۲۰۰۰۰ واحد ویتامین آ، ۴۰۰۰۰۰ واحد ویتامین دی ۳، ۳۰۰۰ واحد ویتامین ای، ۵۴۰۰ میلی گرم ویتامین سی، ۲۰۰ میلی گرم ویتامین ب ۱، ۳۳۶۰ میلی گرم ویتامین ب ۲، ۷۲۰۰ میلی گرم ویتامین ب ۳، ۹۰۰۰ میلی گرم ویتامین ب ۵، ۲۴۰۰ میلی گرم ویتامین ب ۶، ۶۰۰ میلی گرم ویتامین ب ۹، ۴ میلی گرم ویتامین ب ۱۲

^۱Mineral supplement consisting of 2600 mg manganese, 600 mg copper, 6000 mg iron, 4600 mg zinc, 50 mg selenium, 100 mg iodine, 50 mg cobalt, 100,000 mg choline chloride

^۲Vitamin supplement consisting of 1,200,000 IU of vitamin A, 400,000 IU of vitamin D3, 3,000 IU of vitamin E, 5,400 mg of vitamin C, 200 mg of vitamin B1, 3,360 mg of vitamin B2, 7,200 mg of vitamin B3, 9,000 mg of vitamin B5, 2,400 mg of vitamin B6, 600 mg of vitamin B9, 4 mg of vitamin

سنجش فاکتورهای رشد

رابطه‌های زیر محاسبه شدند شدند (Wang et al.,)

فاکتورهای رشد پس از زیست‌سنجی و تعیین طول و (2024):

وزن ماهیان در ابتدا و پایان آزمایش، با استفاده از

(وزن اولیه (گرم) - وزن نهایی (گرم)) = افزایش وزن بدن (گرم)

$100 \times \left[\frac{\text{طول دوره ی آزمایش}}{\text{لگاریتم طبیعی وزن اولیه} - \text{لگاریتم طبیعی وزن نهایی}} \right] = \text{نرخ رشد ویژه}$

$100 \times \left[\frac{\text{میزان افزایش وزن (گرم)}}{\text{میزان غذای مصرف شده (گرم)}} \right] = \text{ضریب تبدیل غذا}$

$100 \times \left[\frac{\text{تعداد اولیه}}{\text{تعداد تلفات} - \text{تعداد اولیه}} \right] = \text{درصد بازماندگی}$

قابلیت هضم مواد غذایی

سیفون کردن جمع‌آوری گردیدند. نمونه مدفوع پس از

خشک شدن تا زمان انجام تعیین قابلیت هضم ظاهری

در دمای ۱۸- درجه‌سنتی گراد نگهداری گردیدند. در

نهایت، طبق روش ارائه‌شده توسط Austreng (۱۹۷۸)

برای تعیین قابلیت هضم ظاهری، اکسیدکروم به

میزان ۰/۵ درصد به جیره‌ها اضافه شد. بچه‌ماهیان در ۲

هفته آخر آزمایش از جیره‌های حاوی اکسیدکروم

تغذیه شده و مدفوع موجود در هر تانک به روش

به روش اسپکتروفتومتری انجام شد و با فرمول زیر محاسبه گردید.

هضم پذیری مواد غذایی در پایان به کمک رابطه زیر انجام گرفت:

$$\text{ضرب هضم پذیری ظاهری} = [1 - (\text{غلظت کروم اکساید جیره} / \text{غلظت کروم اکساید مدفوع} \times \text{مواد مغذی مدفوع} / \text{مواد مغذی جیره})] \times 100$$

آنالیز تقریبی مواد غذایی

تجزیه تقریبی مواد غذایی لاشه، جیره و مدفوع نیز به روش AOAC (۱۹۹۵) صورت گرفت. در این روش رطوبت پس از قرار گرفتن در دمای ۱۰۵ درجه سانتی-گراد به مدت ۲۴ ساعت و تعیین وزن قبل و بعد از آن محاسبه گردید. مقدار خاکستر با اندازه گیری وزن نمونه پس از قرارگیری در کوره الکتریکی تعیین شد. به منظور تعیین درصد چربی، روغن به کمک حلال اتر با کمک دستگاه سوکسوله استخراج و اندازه گیری گردید. پروتئین پس از سه مرحله هضم با محلول اسیدی، تقطیر در دستگاه کلدال و تیتراسیون با اسید ۰/۱ نرمال تخمین زده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

بررسی آماری داده های ثبت شده با استفاده از نرم افزار SPSS (ویرایش ۲۲) و بهره گیری از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One Way-ANOVA) صورت گرفت و جهت مقایسه بین میانگین تیمارها، آزمون چند دامنه توکی (Tukey) در سطح معنی داری ۰/۰۵ استفاده شد.

نتایج

طبق نتایج جدول ۲ کاهش درصد پروتئین جیره منجر به کاهش معنی داری در وزن نهایی، افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه گردید ($p < 0.05$). افزودن سطوح

مختلف لیزین به جیره سبب بهبود مقادیر مذکور گردید بطوریکه تفاوت معنی داری در مقایسه با شاهد ۱ نداشتند ($p > 0.05$). همچنین، ضریب تبدیل غذایی به طور معنی داری در ماهیان تغذیه شده با ۰/۲۵ درصد و ۰/۵ درصد بهبود یافت ($p < 0.05$). بازماندگی ماهیان در تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی داری با هم نداشت و بالاتر از ۹۸ درصد محاسبه شد ($p > 0.05$).

آنالیز تقریبی لاشه ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف لیزین نشان دهنده تفاوت معنی دار پروتئین لاشه بین تیمارهای مختلف آزمایشی بود (جدول ۳؛ $p < 0.05$). درحالیکه رطوبت، خاکستر و چربی لاشه تفاوت معنی داری بین جیره های آزمایشی نشان نداد ($p > 0.05$). پروتئین لاشه ماهیان تغذیه شده با ۰/۵ درصد لیزین مشابه با شاهد ۱ بود و این مقدار در سایر تیمارها به طور معنی داری کاهش یافت ($p < 0.05$).

نتایج هضم پذیری مواد غذایی طبق جدول ۴ نشان داد، هضم پذیری پروتئین با کاهش توام پروتئین و پودر ماهی در جیره (شاهد ۳) به طور معنی داری کاهش پیدا کرد درحالیکه با کاهش پروتئین در جیره حاوی ۲۴ درصد پودر ماهی (شاهد ۲) و همچنین با افزودن ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد لیزین به جیره هضم پذیری پروتئین جبران شد و با جیره حاوی ۴۲٪ پروتئین تفاوتی نداشت ($p > 0.05$) و در مقایسه با سایر تیمارها هضم پذیری پروتئین بالاتر بود ($p < 0.05$).

جدول ۲: عملکرد رشد قزل آلائی رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف لیزین در جیره کم پروتئین

Table 2: Growth performance of rainbow trout fed different levels of lysine in a low protein diets

Factor	42%prtein+ 24% Fish	37%prtein+ 24% Fish Meal	37%prtein+ 12% Fish Meal	37%prtein+ 12% Fish Meal+ 0.25 %lysine	37%prtein+ 12% Fish Meal+0.5% lysine	37%prtein+ 12 Meal % Fish Meal+ 1%lysine
Initial weight (g)	6.1 ± 0.07	6.05 ± 0.09	6.03 ± 0.08	6 ± 0.09	6.12 ± 0.11	6.09 ± 0.05
Final weight (g)	66.63 ± 9.53 ^a	55.97 ± 1.19 ^{bc}	47.20 ± 2.66 ^c	62.48 ± 4 ^{ab}	68.61 ± 6.13 ^a	60.84 ± 3.68 ^{ab}
Wight gain	60.42 ± 7.58 ^a	49.97 ± 1.19 ^{bc}	41.20 ± 2.66 ^a	56.48 ± 4.00 ^a	62.61 ± 6.13 ^a	54.64 ± 3.68 ^{ab}
SGR	4 ± 0.23 ^a	3.72 ± 0.03 ^b	3.43 ± 0.09 ^c	3.90 ± 0.1 ^a	4.05 ± 0.15 ^a	3.85 ± 0.1 ^{ab}
FCR	1.11 ± 0.12 ^{ab}	1.07 ± 0.02 ^{ab}	1.23 ± 0.07 ^a	1.01 ± 0.06 ^b	0.97 ± 0.14 ^b	1.12 ± 0.11 ^{ab}
Survival	100 ± 0.00 ^a	99.33 ± 0.57 ^a	98.66 ± 0.82 ^a	99.33 ± 0.57 ^a	100 ± 0.00 ^a	100 ± 0.00 ^a

میانگین (± انحراف معیار)، وجود حروف نامشابه در هر سطر نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح آماری ۵ درصد است ($p < 0.05$)Data are expressed as the Mean ± SE. Different small letters indicate significant differences between treatments ($p < 0.05$).

جدول ۳: آنالیز لاشه قزل آلائی رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف لیزین در جیره کم پروتئین

Table 3: Carcass analysis of rainbow trout fed different levels of lysine in a low-protein diet

Factor	42%prtein+ 24% Fish	37%prtein+ 24% Fish Meal	37%prtein+ 12% Fish Meal	37%prtein+ 12% Fish Meal+ 0.25 %lysine	37%prtein+ 12% Fish Meal+0.5% lysine	37%prtein+ 12 Meal % Fish Meal+ 1%lysine
Moisture (%)	68.35 ± 0.6 ^a	68.93 ± 1.18 ^a	68.55 ± 0.61 ^a	68.36 ± 0.63 ^a	69.75 ± 0.8 ^a	68.03 ± 0.21 ^a
Protein (%DM)	46.48 ± 0.52 ^a	44.26 ± 0.96 ^b	43.69 ± 0.77 ^b	44.59 ± 1.17 ^b	46.08 ± 0.66 ^a	43.34 ± 0.36 ^b
Fat (% DM)	39.93 ± 1.90 ^a	38.21 ± 1.55 ^a	37.77 ± 0.44 ^a	38.08 ± 2.09 ^a	39.17 ± 0.72 ^a	39.79 ± 0.68 ^a
Ash (%DM)	5.02 ± 0.32 ^a	5.37 ± 0.92 ^a	4.68 ± 1.1 ^a	4.1 ± 1.37 ^a	4.49 ± 0.92 ^a	5.04 ± 1.561 ^a

میانگین (± انحراف معیار)، وجود حروف نامشابه در هر سطر نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح آماری ۵ درصد است ($p < 0.05$)Data are expressed as the Mean ± SE. Different small letters indicate significant differences between treatments ($p < 0.05$).

جدول ۴: هضم پذیری در قزل آلائی رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف لیزین در جیره کم پروتئین

Table 4: Digestibility of rainbow trout fed different levels of lysine in a low-protein diet

Factor	42%prtein+ 24% Fish	37%prtein+ 24% Fish Meal	37%prtein+ 12% Fish Meal	37%prtein+ 12% Fish Meal+ 0.25 %lysine	37%prtein+ 12% Fish Meal+0.5% lysine	37%prtein+ 12 Meal % Fish Meal+ 1%lysine
Protein (%DM)	92.48 ± 0.50 ^a	91.26 ± 0.96 ^a	83.69 ± 0.8 ^c	90.19 ± 1.20 ^{ab}	92.08 ± 0.60 ^a	86.96 ± 0.4 ^b
Fat (% DM)	87.93 ± 1.90 ^a	88.20 ± 1.60 ^a	88.77 ± 0.40 ^a	88.08 ± 2.09 ^a	88.17 ± 0.70 ^a	87.80 ± 0.7 ^a

میانگین (± انحراف معیار)، وجود حروف نامشابه در هر سطر نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح آماری ۵ درصد است ($p < 0.05$)Data are expressed as the Mean ± SE. Different small letters indicate significant differences between treatments ($p < 0.05$).

بحث

استفاده از مقادیر کمتر از سطح بهینه پروتئین در جیره، رشد را تحت تاثیر قرار می‌دهد. سطح بهینه پروتئین با توجه به سن در هر گونه متغیر می‌باشد. در مطالعه حاضر، کاهش سطح پروتئین از ۴۲ به ۳۷ درصد و کاهش پودر ماهی از ۲۴ به ۱۲ درصد منجر به کاهش رشد و اشتها در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان ۶ گرمی گردید. افزودن سطوح مختلف اسید آمینه لیزین به جیره به خصوص در سطح ۰/۵ درصد توانست رشد، اشتها و ضریب تبدیل غذایی را جبران نماید. لیزین از مهمترین اسیدهای آمینه به منظور سنتز و رشد محسوب می‌گردد و اهمیت آن در مطالعات به خوبی نشان داده شده است (Cai et al., 2018; Ji et al., 2021; Yu et al., 2022; Huang et al., 2022). از مواردی که در مصرف مکمل اسیدهای آمینه باید بدان توجه شود انتخاب دوز مناسب و بالانس آنها در بدن ماهی است. دوز مناسب با توجه به گونه، نژاد و ترکیبات جیره از جمله مقدار پروتئین و منابع گیاهی مورد استفاده ممکن است متغیر باشد. به عنوان مثال، Lee و همکاران (۲۰۲۰) در یک مطالعه ۱۲ هفته‌ای احتیاجات لیزین بین نژادهای سریع‌الرشد و آهسته‌رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) را مقایسه کرده و بیان کردند که در هر دو نژاد با افزایش سطح لیزین جیره تا سطح ۲/۲ درصد جیره، شاخص‌های رشد بهبود یافت؛ اما بیشتر از این سطح تاثیر معنی‌داری نداشت. در گربه ماهی کانالی (*I. punctatus*) افزودن ۲/۳۱ درصد لیزین افزایش وزن و ضریب رشد ویژه را در پی داشت (Yu et al., 2022). بهترین عملکرد رشد در باس دهان بزرگ (*Micropterus salmoides*) تغذیه شده با ۳/۳۳ درصد لیزین مشاهده شد (Huang et al., 2022). Nguyen و

Davis (۲۰۱۶) بهبود عملکرد رشد را در گربه ماهی و تیلاپای تغذیه شده با لیزین را تا یک سطح خاص نشان داده‌اند. دلیل بهبود رشد و سنتز پروتئین به افزایش بیان فاکتورهایی از قبیل فاکتور رشد شبه انسولین-۱ (IGF-1)، پپتید ترنسپورتر-۱ (PepT1)، ۲ (PepT2) و برخی پروتئین‌های ریبوزومی درگیر در سنتز پروتئین نسبت داده شده است (Wullschleger et al., 2006; Ostaszewska et al., 2010; Ji et al., 2021). افزایش در بیان پپتید ترنسپورتر منجر به انتقال مقادیر زیادی از اسیدهای آمینه به فرم پپتید از سلولهای اپی-تلیالی انتروسیته‌ها و در نهایت فراهم نمودن مواد غذایی لازم برای رشد و متابولیسم ماهی می‌گردد (Terova et al., 2009). مقدار پروتئین جیره از دیگر مواردی است که مقدار مورد نیاز لیزین را تعیین می‌نماید. Li و همکاران (۲۰۲۰) در مطالعه‌ای بر گربه ماهی کانالی (*Ichthalurus punctatus*) اثرات سطوح مختلف لیزین را بر دو سطح پروتئین (۲۸ و ۳۲ درصد) به مدت ۱۸۱ روز آزمایش کردند. این محققین دریافتند ۱/۴۳ درصد لیزین در هر دو سطح پروتئین به منظور رشد بهینه و ابقای لیزین در فیله مناسب است. Gaylord و Barrows (۲۰۰۹) سطح پروتئین جیره قزل‌آلای رنگین‌کمان ۲۰ گرمی را از ۴۶ درصد به ۴۱.۵ درصد کاهش دادند و زمانیکه اسیدهای آمینه سنتتیک لیزین، متیونین، ترئونین و گلايسین را به عنوان مکمل غذایی اضافه نمودند اثر منفی روی رشد و ابقای پروتئین مشاهده نکردند. Cheng و همکاران (۲۰۰۳) عنوان کردند زمانیکه مکمل اسید آمینه لیزین به جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) مبتنی بر پروتئین گیاهی اضافه گردید، سطح پروتئین جیره را می‌توان از ۴۲ درصد به ۳۷ درصد کاهش داد. این محققین سطح

بالای ۰/۴ درصد لیزین را پیشنهاد نمودند. در مطالعه حاضر سطح بهینه ۰/۵ درصد بود که مشابه مطالعه Cheng و همکاران (۲۰۰۳) بدست آمد. همچنین، در مطالعه Cheng و همکاران (۲۰۱۰) عنوان شد اگر ۰/۴ درصد لیزین به جیره قزل‌آلای رنگین‌کمان اضافه گردد بیش از ۵۰ درصد پودر ماهی می‌تواند با منابع گیاهی جایگزین شوند بدون اینکه تاثیر منفی بر رشد و ضریب تبدیل غذایی بگذارند. منابع گیاهی دارای محدودیت اسید آمینه لیزین هستند و درصد بالای جایگزینی بدون افزودن مکمل اسیدهای آمینه منجر به عملکرد منفی در ماهیان می‌گردد. Jiang و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند کاهش پودر ماهی از ۳۸ درصد به ۲۲ درصد و افزایش آرد سویا از ۲۰ به ۳۶ درصد در گربه ماهی زرد (*P. fulvidraco*) منجر به کاهش عملکرد رشد شد درحالی‌که با افزودن لیزین و متیونین جبران گردید. Wang و همکاران (۲۰۲۱) بیان کردند افزودن مکمل لیزین امکان جایگزینی کامل پودر ماهی را با آرد ضایعات طیور در جیره ماهی خاویاری هیبرید (*Acipenser schrenckii* ♀ × *Acipenser baerii* ♂) فراهم می‌نماید بدون آنکه تاثیر منفی بر عملکرد رشد داشته باشد. بررسی تاثیر پروتئین‌های گیاهی در قزل-آلای رنگین‌کمان نشان داد که جیره‌های بر پایه پروتئین گیاهی حداقل در سه اسید آمینه ضروری (لایزین، متیونین و ترئونین) دچار نقصان هستند که جهت بهبود بایستی ترکیبات کریستال آمینواسید به جیره اضافه گردد (Rolland et al., 2014).

بررسی ترکیب لاشه نشان داد اگرچه، چربی، خاکستر و رطوبت لاشه در تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند اما پروتئین لاشه در ماهیان تغذیه‌شده با ۴۲ درصد پروتئین و ۰/۵ درصد

لیزین به طور معنی‌داری بالاتر از سایر تیمارها بدست آمد. سنتز پروتئین زمانی اتفاق می‌افتد که مقدار مورد نیاز اسیدهای آمینه ضروری در دسترس قرار بگیرد. در صورتیکه تنها فقدان یکی از اسیدهای آمینه ضروری اتفاق بیفتد می‌تواند منجر به توقف پروتئین‌سازی شود (Li et al., 2021). de Francesco و همکاران، (۲۰۰۴) به طور مشابه نشان دادند تغذیه طولانی‌مدت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با جیره مبتنی بر پروتئین گیاهی تاثیر منفی بر کیفیت لاشه دارد که به منظور رفع این نقص نیاز به اصلاح جیره است. Green و همکاران (۲۰۰۴)، اثرات نسبت‌های مختلف اسیدهای آمینه ضروری به غیر ضروری جیره را بر ابقاء پروتئین و کاهش ترشحات نیتروژنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) مورد مطالعه قرار دادند. نتایج مطالعه آنها نشان داد که بهترین نسبت میزان اسیدهای آمینه ضروری به غیر ضروری برای ماهی قزل‌آلا ۴۹ به ۵۱ است. نتیجه مطالعه کنونی نشان می‌دهد که سطح ۰/۵ درصد لیزین توانسته تعادل اسیدهای آمینه مورد نیاز به منظور سنتز پروتئین را در جیره کم پروتئین برقرار سازد و این امر به افزایش پروتئین بدن منجر گردیده است. به طور مشابه، Ji و همکاران (۲۰۲۱) در مطالعه بر روی کاراس تغذیه‌شده با جیره بدون پودر ماهی دریافتند افزودن لیزین تا سطح ۶ گرم بر کیلوگرم جیره سبب افزایش پروتئین لاشه شده و پس از آن مقدار را کاهش داد. این امر احتمالاً به این دلیل است که لیزین ابتدا به منظور پروتئین‌سازی استفاده گردیده (Firman, 2004)، اما احتمالاً پس از آن با برهم خوردن تعادل اسیدهای آمینه تاثیر نامطلوبی بر کارایی پروتئین گذاشته است. نتیجه مشابهی در کپور هندی (*Labeo rohita*) تحت تاثیر سطوح مختلف لیزین مشاهده

گردید (Zehra and Khan, 2013) که منجر به افزایش نرخ RNA به DNA عضله و افزایش پروتئین لاشه گردید. Sardar و همکاران (۲۰۰۹) در کپور ماهی هندی رو هو (*L. rohita*) تغذیه شده با جیره مبتنی بر پروتئین سویا نشان دادند افزودن ال-متیونین (۷ گرم بر کیلوگرم) و ال-لایزین (۴ گرم بر کیلوگرم) در جیره حاوی ۵۵۰ گرم بر کیلوگرم کنجاله سویا پروتئین لاشه را افزایش داد. مطالعه حاضر با این نتایج همخوانی داشت. Hu و همکاران (۲۰۰۸) و Ren و همکاران (۲۰۱۷) در کاراس تفاوت معنی داری را در لاشه ماهیان تغذیه شده با لیزین و متیونین زمانیکه پودر ماهی جایگزین گردید مشاهده نکردند. کاهش پودر ماهی در جیره ماهی سیم پوزه کلفت (*Megalobrama amblycephala*) با افزودن اسیدهای آمینه ضروری تفاوتی در پروتئین، چربی، رطوبت و خاکستر لاشه مشاهده نشد. این نتایج به غیر از پروتئین در مطالعه حاضر صدق می کند دلیل برخی تفاوت ها ممکن است به شرایط آزمایش و گونه پرورشی مربوط باشد.

در مطالعه حاضر، کاهش پودر ماهی در جیره، کاهش هضم پذیری پروتئین را در پی داشت؛ درحالی که افزودن اسید آمینه لیزین منجر به افزایش هضم پذیری پروتئین در جیره حاوی ۱۲ درصد پودر ماهی گردیده است. از آنجایی که افزایش هضم و جذب پروتئین به تعادل اسیدهای آمینه جیره و جذب بیشتر آنها از روده مربوط می شود (Ambardekar et al., 2009)، می توان گفت لیزین از طریق تعادل اسیدهای آمینه به بهبود هضم پذیری پروتئین کمک کرده است و بهبود عملکرد رشد را در پی داشته است. Cheng و همکاران (۲۰۱۰) بیان کردند کاهش هضم مواد غذایی به خصوص هضم پذیری پروتئین به کاهش عملکرد رشد می انجامد.

به طور مشابه، افزودن ۴/۵ گرم بر کیلوگرم جیره لیزین هضم پذیری پروتئین را در کاراس تغذیه شده با جیره بدون پودر ماهی افزایش داد (Ji et al., 2021). همچنین، در این مطالعه عنوان گردید هضم پذیری اسیدهای آمینه آزاد ممکن است بالاتر از اسیدهای آمینه متصل با پروتئین باشد. در تیلپیا نیل (*Oreochromis niloticus*) هضم پذیری پروتئین در جیره فاقد پودر ماهی حاوی لیزین بالاتر از جیره حاوی پودر ماهی بود (El-Saidy and Gaber, 2002). Cheng و همکاران (۲۰۰۳) در قزل آلا ی رنگین کمان نشان دادند افزودن ۰/۴ درصد لیزین در جیره ای که حدود نیمی از پودر ماهی در آن کاهش یافته سبب تقویت هضم پذیری پروتئین می شود. مطالعه حاضر با این مطالعات مطابقت داشت.

نتیجه گیری کلی

به طور کلی با توجه به تحقیق کنونی می توان اظهار داشت با افزودن ۰/۵ درصد لیزین می توان پروتئین جیره بچه ماهیان قزل آلا ی رنگین کمان را از ۴۲ به ۳۷ درصد و پودر ماهی را از ۲۴ به ۱۲ درصد کاهش داد بدون اینکه تاثیر مخربی بر رشد، کیفیت لاشه و هضم پذیری پروتئین داشته باشد.

سپاسگزاری

پژوهش حاضر در سالن تکثیر و پرورش آبزیان و آزمایشگاه فیزیولوژی آبزیان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شد. از همه همکاران که در انجام این تحقیق با همکاری و فراهم کردن تسهیلات ما را یاری کردند کمال تشکر را داریم.

منابع

- Lupi, P., Kaushik, S.J. and Poli, B.M., 2004. Effect of long-term feeding with a plant protein mixture based diet on growth and body/fillet quality traits of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 236(1-4), pp.413-429. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2004.01.006
8. El-Saidy, D.M. and Gaber, M.M., 2002. Complete replacement of fish meal by soybean meal with dietary L-Lys supplementation for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings. *Journal of the World Aquaculture Society*, 33(3), pp.297-306. DOI: 10.1111/j.1749-7345.2002.tb00506.x
9. Firman, J., 2004. Digestible Lys requirement of male turkeys in their first six weeks. *International Journal of Poultry Science*, 3(6), pp.373-377. DOI: 10.3923/ijps.2004.373.377
10. García-Ulloa, M., Hernandez-Llamas, A., de Jesús Armenta-Soto, S. and Rodríguez- González, H., 2017. Substituting fish meal with mixtures of wheat, corn and soya bean meals in diets for the white leg shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone): effect production parameters and preliminary economic assessment. *Aquaculture Research*, 48, pp.4864-4873. DOI: 10.1111/are.13306
11. Gatlin, D.M. and Webster, C.D. 2007. (eds) Dietary nutrients, additives and fish health. Wiley, Hoboken, pp: 25-46.
12. Gaylord, T.G. and Barrows, F.T., 2009. Multiple amino acid supplementations to reduce dietary protein in plant-based rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, feeds. *Aquaculture*, 287, pp.180-184. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2008.10.037
13. Green, J.A., Hardy, R.W. and Brannon, E.L., 2004. The optimum dietary essential: nonessential amino acid ratio for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), which maximizes nitrogen retention and minimizes nitrogen excretion. *Fish Physiology and Biochemistry*, 27, pp.109-115. DOI: 10.1023/B:FISH.0000021877.49848.
14. Hardy, R.W., 2002. Rainbow trout,
1. Ambardekar, A.A., Reigh, R.C. and Williams, M.B., 2009. Absorption of amino acids from intact dietary proteins and purified amino acid supplements follows different time-courses in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, 291(3-4), pp.179-187. DOI:10.1016/j.aquaculture.2009.02.044
2. AOAC (Association of Official Analytical Chemists) 1995. Official methods of analysis of the Association Official Analytical Chemists. 16th edition. AOAC, Inc., Arlington, Virginia, USA.
3. Austreng, E. 1978. Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from different segments of the gastrointestinal tract. *Aquaculture*, 13, pp.265-272. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2009.02.044
4. Cai, W.C., Jiang, G.Z., Li, X.F., Sun, C.X., Mi, H.F., Liu, S.Q. and Liu, W.B., 2018. Effects of complete fish meal replacement by rice protein concentrate with or without lysine supplement on growth performance, muscle development and flesh quality of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*). *Aquaculture Nutrition*, 24(1), pp.481-491. DOI: 10.1111/anu.12581
5. Cheng, Z.J., Hardy, R.W. and Usry, J.L., 2003. Plant protein ingredients with lysine supplementation reduce dietary protein level in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets, and reduce ammonia nitrogen and soluble phosphorus excretion. *Aquaculture*, 218(1-4), pp.553-565. DOI: 10.1016/S0044-8486(02)00502-1
6. Cheng, Z., Ai, Q., Mai, K., Xu, W., Ma, H., Li, Y. and Zhang, J., 2010. Effects of dietary canola meal on growth performance, digestion and metabolism of Japanese seabass. *Lateolabrax Japonicus*. *Aquaculture*, 305(1-4), pp.102-108. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2010.03.031
7. de Francesco, M., Parisi, G., Médale, F.,

- P.M., 2020. Effects of available lysine concentrations in 28 and 32% protein diets on growth, feed efficiency, processing yield, and fillet composition of pond-raised channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 51(1), pp.235-243. DOI: 10.1111/jwas.12644
21. Li, X.J., Wu, X.Y., Dong, Y., Gao, Y. J., Yao, W. and Zhou, Z.Y., 2019. Effects of dietary lysine levels on growth, feed utilization and related gene expression of juvenile hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂),” *Aquaculture*, 502, pp.153–161. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2018.12.035
 22. Mai, K., Zhang, L., Ai, Q., Duan, Q., Zhang, C., Li, H., Wan, J. and Liufu, Z., 2006. Dietary Lys requirement of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture*, 258(1–4), pp.535–542. DOI:10.1016/j.aquaculture.2006.04.043
 23. Najafi, Z., Ouraji, H., Yegane, S. and Farhady, A., 2024. Effects of alternative changes of dietary protein source on growth, protein efficiency, digestibility and amino acid profile in Beluga (*Huso huso*). *Journal of Aquaculture Development*, 18(3), pp.93-104. DOI: 10.71901/jad-2024-1-819
 24. Nguyen, L. and Davis, D.A. 2016. Comparison of crystalline lysine and intact lysine used as a supplement in practical diets of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 464, p.331-339. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2016.07.005
 25. NRC, 2011. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. National Academy Press: Washington.
 26. Ostaszewska, T., Kamaszewski, M., Grochowski, P., Dabrowski, K., Verri, T., Aksakal, E., Szatkowska, I., Nowak, Z. and Dobosz, S., 2010. The effect of peptide absorption on PepT1 gene expression and digestive system hormones in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. In: Webster, C.D., Lim, C. (Eds.), Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture. CABI Publishing, New York, NY, pp.184–202.
 15. Hu, M., Wang, Y., Wang, Q., Zhao, M., Xiong, B., Qian, X., Zhao, Y. and Luo, Z., 2008. Replacement of fish meal by rendered animal protein ingredients with Lys and methionine supplementation to practical diets for gibel carp, *Carassius auratus gibelio*. *Aquaculture*, 275(1–4), pp.260-265. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2008.01.005
 16. Huang, D., Liang, H., Ge, X., Zhu, J., Li, S., Wang, Y., Ren, M. and Chen, X., 2022. Effects of Dietary Lysine Levels on Growth Performance and Glycolipid Metabolism via the AKT/FoxO1 Pathway in Juvenile Largemouth Bass, *Micropterus salmoides*. *Aquaculture Nutrition*, p.1372819. DOI: 10.1155/2022/1372819
 17. Ji, K., He, J., Liang, H., Ren, M., Ge, X. and Masagounder, K., 2021. Response of gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) to increasing levels of dietary lysine in zero fish meal diets. *Aquaculture Nutrition*, 27(1), pp.49-62. DOI: 10.1111/anu.13164
 18. Jiang, J., Shi, D., Zhou, X.Q., Feng, L., Liu, Y., Jiang, W.D., Wu, P., Tang, L., Wang, Y. and Zhao, Y., 2016. Effects of lysine and methionine supplementation on growth, body composition and digestive function of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fed plant protein diets using high-level canola meal. *Aquaculture Nutrition*, 22(5), p.1126-1133. DOI: doi.org/10.1111/anu.12339
 19. Lee, S., Small, B.C., Patro, B., Overturf, K. and Hardy, R.W., 2020. The dietary lysine requirement for optimum protein retention differs with rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) strain, *Aquaculture*, 514, p.734483. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2019.734483
 20. Li, M.H., Bosworth, B.G. and Lucas,

- expressions of hybrid sturgeon (*Acipenser schrenckii* ♀ × *Acipenser baerii* ♂). *Aquaculture Research*, 52, pp.5419-5429. DOI: 10.1111/are.15411
33. Wang, S., Wang, H., Zhang, S., Liu, S., Lu, S., Wang, C.A., Han, S., Xu, G. and Liu, H., 2024. Optimizing valine supplementation in low-fish meal diets for enhanced growth, digestion, antioxidant capacity, and intestinal health of triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Reports*, 37, p.102214. DOI: 10.1016/j.aqrep.2024.102214
 34. Wilson, R.P., 2002. Amino acids and proteins. In J. E. Halver & R. W. Hardy (Eds.), *Fish nutrition* (3rd ed., pp. 144–175). San Diego, CA Academic Press.
 35. Wu, Z., Yu, X., Guo, J., Fu, Y., Guo, Y., Pan, M., Zhang, W. and Mai, K., 2022. Effects of replacing fish meal with corn gluten meal on growth performance, intestinal microbiota, mTOR pathway and immune response of abalone *Haliotis discus hannai*. *Aquaculture Reports*, 23, p.101007. DOI: 10.1016/j.aqrep.2022.101007
 36. Wulschleger, S., Loewith, R. and Hall, M. N., 2006. TOR signaling in growth and metabolism. *Cell*, 124(3), pp.471–484. DOI: 10.1016/j.cell.2006.01.016
 37. Yu, H., Yang, M., Xiao, T., Luo, Y., Ren, W., Ye, L., Zhang, Y., Dong, X. and Yaoguo Li, A., 2022. Effects of dietary lysine levels on growth performance and antioxidative capacity in channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture Research*, 53(12), pp.4414-4425. DOI: 10.1111/are.15939
 38. Zehra, S. and Khan, M.A. 2013. Dietary Lys requirement of fingerling *Catla catla* (Hamilton) based on growth, protein deposition, Lys retention efficiency, RNA/DNA ratio and carcass composition. *Fish Physiology and Biochemistry*, 39(3), pp.503-512. DOI: 10.1007/s10695-012-9715-0
 - (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 155(1), pp.107–114. DOI: 10.1016/j.cbpa.2009.10.017
 27. Ren, M., Liang, H., He, J., Masagounder, K., Yue, Y., Yang, H., Ge, X., Xie, J. and Xi, B., 2017. Effects of DL-methionine supplementation on the success of fish meal replacement by plant proteins in practical diets for juvenile gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). *Aquaculture Nutrition*, 23(5), pp.934-941. DOI: 10.1111/anu.12461
 28. Rolland, M., Larsen, B.K., Holm, J., Dalsgaard, J. and Skov, P.V., 2015. Effect of plant proteins and crystalline amino acid supplementation on postprandial plasma amino acid profiles and metabolic response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture International*, 23, pp.1071–1087. DOI: 10.1007/s10499-014-9865-4
 29. Sardar, P., Abid, M., Randhawa, H.S. and Prabhakar, S.K., 2009. Effect of dietary lysine and methionine supplementation on growth, nutrient utilization, carcass compositions and haemato-biochemical status in Indian Major Carp, Rohu (*Labeo rohita* H.) fed soy protein-based diet. *Aquaculture nutrition*, 15(4), pp.339-346. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2008.00598.x
 30. Teles, A.O., Couto, A., Enes, P. and Peres, H., 2020. Dietary protein requirements of fish—a meta-analysis. *Reviews in Aquaculture*, 12(3), pp.1445-1477. DOI: 10.1111/raq.12391
 31. Terova, G., Corà, S., Verri, T., Rimoldi, S., Bernardini, G. and Saroglia, M., 2009. Impact of feed availability on PepT1 mRNA expression levels in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 294(3–4), pp.288–299. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2009.06.014
 32. Wang, W., Yang, P., He, C., Qin, Y., Mai, K. and Song, F., 2021. Lysine supplemented to poultry by-product meal replacement diet modulates body growth, metabolism and related gene