



Original Research Paper

Effect of different level of methionine on growth performance and body composition of juvenile of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*)

*Lima Tayebi **, *Mohamadhosein dadfar*, *Davoud Mohammadrezaei*

Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources and Environment, Malayer University, Malayer, Iran

Key Words

Methionine amino acid
Acipenser stellatus
Growth Indicators
Carcass Composition

Abstract

Introduction: Methionine is an essential amino acid for fish, which deficiency of it reduces the growth and efficiency of the food. Methionine is usually the first essential limiting amino acid in many diets, especially those with high levels of plant proteins. This study aimed to investigate the effect of increasing the Methionine on growth, and body composition in juvenile of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) during 8 weeks.

Materials & Methods: A total of 200 fish were randomly distributed in 10 tanks. Fish were fed with diets containing different levels of the amino acid Methionine (0.5, 1.5, 2.5 percent and control diet). Growth and nutrition indices, including condition factor, body weight increasing, specific growth rate, food conversion ratio, body weight index, visceral index and carcass composition were evaluated.

Results: Based on the results, there was no significant difference in growth parameters between the experimental treatments, except for the feed conversion ratio, which had a significant difference ($P < 0.05$). Accordingly, the highest performance of growth indices in the treatment contained 2.5 percent and the feed conversion ratio was related to the treatment of 1.5 percent methionine and the lowest was different in different treatments. On the other hand, the results showed that the presence of Methionine in the diet increases the amount of protein and fat in the treatment of 0.5 and 2.5 percent compared to the treatment of 1.5 percent.

Conclusion: It can be stated that the addition of the 2.5 percent Methionine in the diet of stellate sturgeon juvenile will improve growth performance.

* Corresponding Author's email: l.tayebi@malayeru.ac.ir

Received: 25 March 2022; Reviewed: 23 April 2022; Revised: 22 June 2022; Accepted: 28 July 2022

(DOI): 10.22034/AEJ.2022.348481.2833

مقاله پژوهشی

بررسی تأثیر سطوح مختلف اسیدآمینه متیونین بر فاکتورهای رشد و ترکیبات بدن بچه‌ماهی ازون برون (*Acipenser stellatus*)

لیما طیبی*، محمدحسین دافر، داود محمدرضائی

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران

چکیده

کلمات کلیدی

مقدمه: متیونین یک اسیدآمینه ضروری برای ماهیان بوده که کمبود آن باعث کاهش رشد و کارایی غذا می‌شود. این پژوهش با هدف بررسی اثر افزایش اسیدآمینه متیونین بر بهبود عملکرد شاخص‌های رشد و ترکیب بدن بچه‌ماهی ازون برون (*Acipenser stellatus*) صورت گرفت.

اسیدآمینه متیونین
بچه‌ماهی ازون برون
شاخص‌های رشد
ترکیب لاشه

مواد و روش‌ها: بدین منظور تعداد ۲۰۰ قطعه بچه‌ماهی ۲۰ گرمی به‌طور تصادفی در ۱۰ تانک توزیع شدند و دوبار در روز به‌میزان ۴ درصد وزن بدن با جیره‌های غذایی حاوی سطوح مختلف اسیدآمینه متیونین (۰/۵ درصد، ۱/۵ درصد، ۲/۵ درصد) در طی ۸ هفته تغذیه شدند. شاخص‌های رشد و تغذیه شامل ضریب چاقی، درصد افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، شاخص وزن بدن، شاخص احشائی و هم‌چنین ترکیب لاشه بدن ارزیابی شدند.

نتایج: براساس نتایج حاصله در بین پارامترهای مورد ارزیابی، به‌جز ضریب تبدیل غذایی، تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی مختلف مشاهده شد ($P < 0/05$). براین اساس، بیش‌ترین میزان عملکرد شاخص‌های رشد و کم‌ترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار حاوی ۲/۵ درصد متیونین مشاهده شد. هم‌چنین حضور متیونین در جیره سبب افزایش مقدار پروتئین و چربی در تیمار ۲/۵ درصد می‌گردد. **بحث و نتیجه‌گیری:** از این رو طبق نتایج حاصله، می‌توان بیان کرد که افزودن اسیدآمینه متیونین به‌میزان ۲/۵ درصد در جیره بچه‌ماهی ازون برون سبب بهبود عملکرد رشد می‌گردد.

مقدمه

و جلب بچه‌ماهیان به غذاهای فرموله شده دارد (۱) که این امر در ماهی اوزون‌برون بررسی نشده است لذا این پژوهش با هدف مشخص کردن تأثیرات افزایش اسیدآمینه ضروری متیونین بر روی فاکتورهای رشد، تغذیه و ترکیب شیمیایی بدن بچه‌ماهی اوزون‌برون به‌منظور امکان معرفی جیره غذایی بهینه صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

برای انجام این پژوهش ابتدا ۲۰۰ قطعه ماهی خاویاری اوزون برون (*Acipenser stelatus*) به وزن متوسط ۲۰ گرم از شرکت اقتصادی فراگیر قائم استان گیلان خریداری و با کیسه‌های مخصوص حمل ماهی با عمل انجام تزریق اکسیژن خالص به کیسه‌ها به آزمایشگاه شیلات دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ملایر منتقل و در ۱۰ عدد مخزن که از قبل آماده‌سازی شده بودند و از لحاظ شرایط محیطی مانند اکسیژن، نور و دما در شرایط یکسانی قرار داشتند توزیع شد. میانگین دمای آب در طی دوره پرورش ۲۱/۵ درجه سانتی‌گراد و هوادهی برای اکسیژن رسانی در تانک‌ها انجام گرفت. در هر مخزن ۲۰ عدد ماهی که مربوط به هر تیمار با سه تکرار و یک گروه شاهد است قرار گرفت. به‌منظور آماده‌سازی جیره‌ها، از غذای استاتر فزل آلا (SFTO) شرکت تعاونی تولیدی ۲۱ بیضاء به‌عنوان جیره پایه استفاده شد. اجزا تشکیل‌دهنده جیره پایه شامل پودرکیلاک، نشاسته ذرت، آرد سفید، ژلاتین، روغن ماهی و مکمل ویتامینی و معدنی بوده که به گروه شاهد بدون تغییر داده شد. برای تیمارها ابتدا کنسانتره آسیاب شده و سپس با توجه به تیمارها درصد مشخصی (۵/۰ درصد، ۱/۵ درصد، ۲/۵ درصد) متیونین به آن‌ها اضافه شد. تیمارهای غذایی به‌خوبی مخلوط شده و پس از افزودن آب، خمیر حاصله توسط چرخ گوشت به‌صورت پلت خشک شدند. در طول دوره، ماهیان دوبار در روز به‌میزان ۴ درصد وزن بدن با جیره‌های غذایی حاوی سطوح مختلف متیونین تغذیه شدند. نمونه‌برداری از ماهیان بعد از پایان ۸ هفته‌ی غذادهی با درصدهای مختلف اسیدآمینه متیونین به‌طور تصادفی از هر مخزن سه عدد ماهی صورت گرفت. سپس ماهیان هر تیمار با عصاره گل‌میخک (۱۵۰ ppm) بی‌هوش و بی‌موتری شدند و شاخص‌های رشد براساس فرمول‌های زیر محاسبه شد (۸):

$$FCR = \frac{\text{مقدار غذای داده شده}}{\text{افزایش وزن}} \quad \text{ضریب تبدیل غذایی:}$$

$$SGR = \frac{(m - m_0) \times 100}{\text{طول دوره}} \quad \text{ضریب رشد ویژه:}$$

$$CF = \frac{\text{وزن پایانی}}{\text{طول کل}} \times 100 \quad \text{ضریب چاقی:}$$

تامین احتیاجات غذایی به‌ویژه پروتئین به‌عنوان اصلی‌ترین نیاز در راستای رشد روز افزون جمعیت در دنیا می‌باشد. یکی از راه‌حل‌های مناسب برای حل این مشکل رونق یافتن صنعت آبی‌پروری است. تولید آبزیان به‌عنوان یکی از منابع تامین پروتئین، در مقایسه با سایر فرآورده‌های پرتئینی ارزان‌تر و آسان‌تر بوده و ارزش غذایی آن به مراتب بیش‌تر از سایر منابع تامین‌کننده پروتئین حیوانی است (۱). گوشت ماهی به‌دلیل اغلب فاکتورهای تغذیه‌ای می‌تواند منبع مناسبی باشد. با توجه به نقش تغذیه در آبی‌پروری و اهمیت هزینه‌های بالای آن در پرورش آبزیان (۴۰ تا ۵۰ درصد)، باید اذعان داشت که پرورش موفق ماهیان نیاز به استفاده از خوراک کامل، کارآمد با ترکیب بهینه دارد (۲) که بایستی تمام ترکیبات تغذیه‌ای ضروری را برای ماهی فراهم نماید تا اجازه رشد سریع و سالم به آن‌ها داده شود (۳). کیفیت پروتئین و ترکیب اسیدهای آمینه جیره دو فاکتور مهم اثرگذار بر روی رشد ماهیان هستند. عملکرد اصلی آمینواسیدها، کاربرد آن‌ها در ساختن پروتئین می‌باشد که برخی از آن‌ها به‌عنوان محدودکننده یا ضروری تلقی شده و باید در جیره غذایی فراهم شوند زیرا زنجیره کربنی آن‌ها توسط بدن حیوانات قابل ساختن نیستند (۴). متیونین یک اسیدآمینه ضروری برای ماهیان بوده که کمبود آن باعث کاهش رشد و کارایی غذا و بروز آب مروارید می‌شود (۵). به‌طور معمول متیونین اولین اسیدآمینه ضروری محدودکننده در بسیاری از جیره‌های غذایی، به‌ویژه جیره‌هایی با سطوح بالای پروتئین‌های گیاهی می‌باشد (۶). از نظر زیستی نیز متیونین دارای اهمیت فراوانی می‌باشد، بخش سولفوری این اسیدآمینه به‌عنوان دهنده گروه‌متیل برای سنتز کراتین اسپرمیدین به‌کار گرفته می‌شود که این عمل نقش بسیار مهمی در تنظیم سوخت و ساز بدن و انجام وظایف متابولیکی ماهی دارد. کمبود اسیدآمینه ضروری مانند متیونین می‌تواند موجب کاهش رشد و فقر غذایی و تأثیر بر آنزیم‌های گوارشی شود (۷). استفاده از اسیدآمینه در جیره‌های غذایی آبزیان نظیر ماهیان خاویاری، مستلزم آن است که همه اسیدهای آمینه با مقدار مناسب و به‌طور هم‌زمان برای سنتز پروتئین وجود داشته باشند زیرا این ماهیان به‌دلیل رژیم گوشت‌خواری به درصد بالایی از پروتئین در جیره غذایی نیاز دارند (۱). از آن‌جا که پروتئین‌ها بخش عمده هزینه غذاهای تنظیم شده در ماهیان پرورشی را تشکیل می‌دهند وارد کردن اجزای پروتئینی در فرمولاسیون غذایی محتوی سطوح متعادل اسیدهای آمینه، به‌منظور تولید غذاهای با کارایی بالا در رشد ماهیان محسوب می‌شود. جیره غذایی براساس پروتئین برای ماهیان پرورشی نیاز به مکمل‌های اسیدآمینه‌ای نظیر متیونین به‌منظور افزایش روند رشد، کارایی غذا

درصد افزایش وزن:

$$M_1 = \text{وزن نمونه} + \text{وزن بوته}$$

$$M_1 = (\text{وزن نمونه} + \text{وزن بوته}) \text{ بعد از سوزاندن}$$

درصد ماده آلی = 100 - درصد خاکستر

سپس، داده‌های به‌دست آمده پس از بررسی نرمال بودن تجزیه و تحلیل شدند. پردازش آماری داده‌ها با استفاده از نسخه ۱۹ نرم افزار SPSS به روش آنالیز واریانس یک‌طرفه و مقایسه میانگین دانکن در سطح ۵ درصد انجام یافت. از آزمون های شاپیرو-ویلک (Shapiro-Wilk) و همبستگی پیرسون (Pearson's Correlation Coefficient) به ترتیب برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها و تعیین همبستگی بین میانگین مقادیر اسیدآمین متیونین با فاکتورهای رشد و هم‌چنین با ترکیبات بدن بچه ماهی ازون برون استفاده شد.

نتایج

براساس نتایج به‌دست آمده میزان سطوح مختلف اسیدآمین متیونین جیره به‌طور معنی‌داری بر برخی شاخص‌های رشد از جمله ضریب تبدیل غذایی، شاخص وزن بدن و درصد افزایش وزن بدن تاثیر گذاشت (شکل ۱).

$$BWI = \frac{\text{میانگین وزن اولیه تانک} - \text{میانگین وزن پایانی تانک}}{\text{میانگین وزن اولیه تانک}} \times 100$$

شاخص امعاء و احشاء:

$$SVSI = \frac{\text{وزن امعاء و احشاء}}{\text{وزن بدن}} \times 100$$

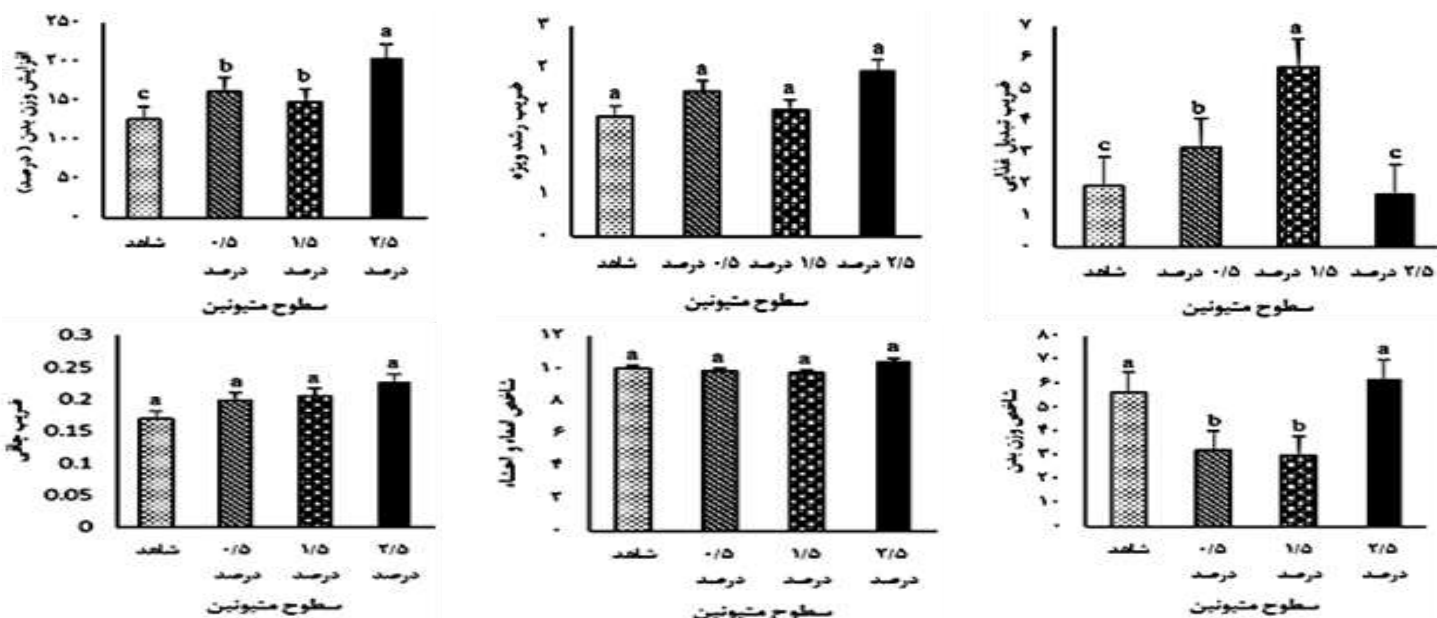
کیفیت لاشه پس از زیست‌سنجی با نمونه‌برداری از بافت عضله ماهی انجام و براساس شیوه‌های عنوان شده در روش استاندارد مورد آزمایش قرار گرفت (۹). برای اندازه‌گیری پروتئین از روش کجلدال و چربی از روش سوکسله استفاده شد. برای محاسبه رطوبت، نمونه به مدت ۲۴ ساعت در آون با حرارت ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد و درصد رطوبت توسط فرمول زیر محاسبه شد (۱۰):

$$\text{وزن نمونه پس از خشک کردن} - \text{وزن نمونه پیش از خشک کردن} = \text{درصد رطوبت}$$

برای تعیین درصد خاکستر نمونه در کوره الکتریکی با درجه حرارت ۵۵۰ درجه به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد و از طریق فرمول زیر محاسبه گردید (۱۰):

$$\text{درصد ماده آلی} = \frac{M_1 - M_2}{M_0}$$

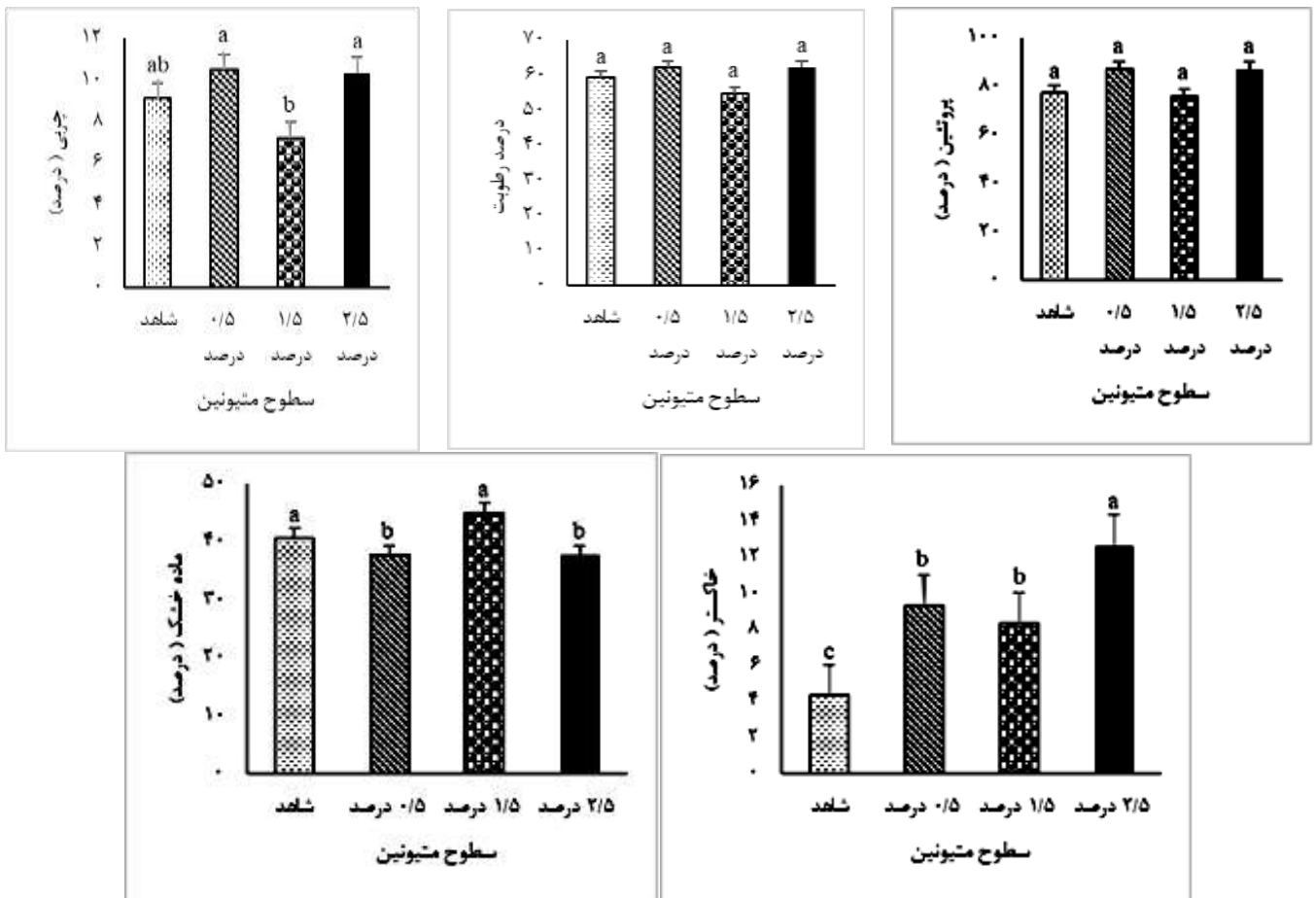
$$M_0 = \text{وزن نمونه اولیه}$$



شکل ۱: براساس نتایج به‌دست آمده میزان سطوح مختلف اسیدآمین متیونین جیره به‌طور معنی‌داری بر برخی شاخص‌های رشد از جمله ضریب تبدیل غذایی، شاخص وزن بدن و درصد افزایش وزن بدن تاثیر گذاشت

بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0/05$). بیش‌ترین درصد شاخص امعا و احشاء در تیمار ۲/۵ درصد متیونین نسبت به شاهد و کم‌ترین درصد را در تیمارهای ۰/۵ درصد و ۱/۵ درصد به ترتیب داشته‌است. براساس نتایج به‌دست آمده بیش‌ترین درصد شاخص وزن بدن نیز در تیمار ۲/۵ درصد متیونین مشاهده شد. براساس نتایج به‌دست آمده در شکل ۲، میزان سطوح مختلف اسیدآمیننه متیونین بر ترکیب شیمیایی بدن اختلاف معنی‌داری را در میزان چربی، خاکستر و ماده خشک با تیمار شاهد نشان داد ($P < 0/05$). در تیمار ۲/۵ درصد متیونین بیش‌ترین درصد رطوبت، پروتئین و چربی مشاهده شد که اختلاف آن با تیمار شاهد معنی‌دار نبوده است ($P > 0/05$). درصد ماده خشک و خاکستر در تیمار حاوی ۲/۵ درصد متیونین بیش‌تر از تیمارهای دیگر بوده که این اختلاف با تیمار شاهد و تیمارهای دیگر معنی‌داری است ($P < 0/05$).

با توجه به نتایج به دست آمده در جدول ۱ میزان افزایش وزن بدن در هر ۳ تیمار حاوی درصدهای مختلف متیونین نسبت به شاهد افزایش یافته است که این افزایش در تیمار حاوی متیونین ۲/۵ درصد بیش‌تر از بقیه تیمارها بوده و با تیمار شاهد و تیمارهای دیگر اختلاف معنی‌دار داشته است ($P < 0/05$). میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمار حاوی متیونین ۲/۵ درصد نسبت به تیمارهای دیگر کاهش یافته که این اختلاف با تیمارهای دیگر معنی‌دار است ($P < 0/05$). ضریب رشد ویژه در هر سه تیمار حاوی درصدهای مختلف متیونین نسبت به شاهد افزایش داشته است که بیش‌ترین تاثیر در تیمار حاوی متیونین ۲/۵ درصد مشاهده شد ولی این اختلاف معنی‌دار نیست ($P > 0/05$). ضریب چاقی در هر سه تیمار دارای متیونین نسبت به تیمار شاهد افزایش یافته و بیش‌ترین درصد ضریب چاقی به‌ترتیب در متیونین ۲/۵ درصد، متیونین ۱/۵ درصد و متیونین ۰/۵ درصد مشاهده شد.



شکل ۲: نمودار نتایج آنالیز بیوشیمیایی لاشه بچه‌ماهیان ازون برون تغذیه شده با جیره حاوی سطوح مختلف اسیدآمیننه متیونین بر حسب ماده خشک

بحث

نتایج حاصل از این بررسی نشانگر تاثیرات مثبت افزودن اسید آمینه متیونین در جیره غذایی بچه‌ماهیان اوزون‌برون بر شاخص‌های رشد و ترکیب بدن آن‌هاست. بنابراین، افزایش سطوح متیونین تا حد مطلوب در جیره می‌تواند سبب بهبود کارایی دیگر اسیدهای آمینه ضروری از طریق افزایش سنتز پروتئین و یا کاهش تولیدات اضافی شود (۱۱). متیونین دارای چند عملکرد متابولیکی اصلی است که از آن جمله می‌توان به نقش آن در سنتز پروتئین به‌عنوان اسیدآمینه ضروری اشاره نمود و همچنین در واکنش‌های متیلاسیون به‌عنوان دهنده متیل عمل می‌کند (۱۲). اسیدهای آمینه نامتعادل، در جیره غذایی سبب افزایش اکسیداسیون دیگر اسیدهای آمینه می‌شود در حالی که تعادل اسید آمینه‌ای افزایش ابقای اسیدهای آمینه را باعث می‌شوند (۱۳). در این پژوهش براساس نتایج به‌دست آمده در نمودارها بیش‌ترین شاخص‌های رشد و مقدار پروتئین لاشه در تیمار ۲/۵ درصد مشاهده شد که با نتایج پژوهش‌های دیگر بر روی ماهیان مختلف نظیر فیل‌ماهی و صیبتی مقایسه گردید. فیل‌ماهی جوان پرورشی می‌تواند به‌طور موثری از مکمل اسیدآمینه متیونین برای ترکیب لاشه، کارایی رشد و تغذیه بهتر استفاده نماید که با پژوهش حاضر در رابطه با اسیدآمینه متیونین در جیره غذایی به‌عنوان مکمل غذایی هم‌سو بود (۱). همچنین افزودن مکمل‌های آمینواسیدی مانند متیونین و لایزین به جیره‌های با ۴۵/۹۵ درصد پروتئین دارای اثرات مثبت بر ترکیبات بیوشیمیایی لاشه و محتوی اسیدهای آمینه بدن در پرورش بچه‌ماهی صیبتی می‌باشد (۱۴). Wu و همکاران در پژوهش خود بر روی نیاز مطلوب متیونین در رژیم غذایی ماهیان نوجوان هیبرید بر بقاء، عملکرد رشد و میکرومورفولوژی روده و ایمنی به این نتیجه رسیدند که مقدار اپتیمم متیونین در رژیم غذایی برای بیش‌ترین میزان رشد موثر است و سطح پایین متیونین باعث کاهش رشد ماهی می‌شود (۱۵). نتایج مطالعات Song و همکاران بر روی اثرات متیونین رژیم غذایی بر عملکرد رشد و متابولیسم در باس دهان بزرگ نیز نشان داد که رژیم غذایی حاوی متیونین باعث افزایش عملکرد رشد و متابولیسم می‌شود، این نتایج با پژوهش کنونی در رابطه با نرخ رشد ویژه و افزایش وزن بدن هم‌خوانی دارد (۱۶). همچنین بهبود رشد ماهی *Salmo Salar* تغذیه شده با سطوح بالای از اسیدآمینه متیونین، اسیدفولیک، ویتامین B6 و B12 نشان داد که در دسترس بودن متیونین به‌همراه ویتامین‌های B برای استفاده موثر اسیدهای آمینه در سنتز پروتئین و رشد ضرورت دارد (۱۷). پژوهش‌های گوناگون در مورد افزودن متیونین بر ترکیبات لاشه در کپورماهیان نیز نشان داد که ترکیب لاشه ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی سطوح درجه‌بندی شده متیونین

به‌طور معنی‌داری متفاوت است همچنین، محتوای خاکستر لاشه نیز تفاوت معنی‌داری را بین سطوح متفاوت متیونین جیره نشان داد (۱۸، ۲). در پژوهشی دیگر، نیاز تغذیه‌ای کویبای جوان به متیونین مورد ارزیابی قرار گرفت که نتایج نشان داد عملکرد رشد و استفاده از خوراک به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر سطوح متیونین جیره قرار دارد. حداکثر افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و نسبت کارایی پروتئین در ۱/۵ درصد متیونین جیره مشاهده شد. شاخص کبدی، شاخص احشایی و فاکتور وضعیت به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح متیونین رژیم غذایی قرار نگرفت ولی تفاوت معنی‌داری در پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت در کل بدن یا ماهیچه نیز مشاهده شد (۱۹). با توجه به نتایج این پژوهش می‌توان دریافت که استفاده از متیونین می‌تواند به‌عنوان یک مکمل غذایی به‌منظور رشد بهتر اندام‌های داخلی و لاشه مورد استفاده قرار گیرد که با نتایج پژوهش اخیر هم‌سو بود. با توجه به نتایج به‌دست آمده در این پژوهش اسیدآمینه متیونین در سطح ۲/۵ درصد تاثیر مطلوبی بر میزان چربی گذاشته است. مطالعه Tereza و همکاران بر متابولیسم چربی در ماهی نوجوان (*Seriola dorsalis*) تغذیه شده با سطوح مختلف متیونین حاوی سطوح پایین کلسترول نشان داد هنگامی که نیاز غذایی متیونین برآورده شود متیونین برای سنتز کلسترول استفاده می‌شود و باعث ذخیره انرژی می‌شود (۲۰). بررسی نیاز پومپانوی جوان به متیونین نیز تفاوت معنی‌داری در پارامترهای رشد مانند افزایش وزن (WG)، نرخ رشد ویژه (SGR) و شاخص‌های مصرف خوراک، از جمله ضریب تبدیل خوراک (FCR) نشان داد. اما اثر متیونین بر نسبت کارایی پروتئین (PER)، در بین گروه‌های مختلف تیمار نشان داد بین شاخص کبدی، شاخص احشایی و نسبت عضلانی تفاوت قابل ملاحظه‌ای وجود ندارد (۲۱) با توجه به نتایج این پژوهش، نیاز ماهی به مکمل‌های غذایی مانند اسیدآمینه متیونین با میزان مشخصی می‌تواند دوره رشد را کوتاه کرده و تا حدودی بازده اقتصادی را بهبود بخشد. اثر متیونین بر رشد ماهی انگشت‌قد گربه ماهی آفریقایی حاکی از آن بود که بین رژیم کنترل و سایر رژیم‌های غذایی حاوی متیونین در میزان بقاء، افزایش نسبی وزن، افزایش کل وزن اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (۲۲) که با پژوهش حاضر مطابقت ندارد. در مجموع با توجه به نتایج حاصله می‌توان ادعا داشت که اسیدآمینه متیونین به‌ویژه در سطح ۲/۵ درصد می‌تواند ضمن افزایش میزان رشد، ضریب تبدیل غذایی را کاهش داده و در نتیجه دوره پرورش را کوتاه و صرفه اقتصادی را افزایش دهد. همچنین افزایش متیونین باعث افزایش سنتز چربی و ذخیره انرژی می‌شود.

منابع

15. Wua, X., Xiaojun, L., Wei, M., Yu, D., Zhiyu, Z., Xiao, W., Lei, M., Bo, Y. and Lina, G., 2020. The optimum methionine requirement in diets of juvenile hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂): Effects on survival, growth performance, gut micromorphology and immunity. *Aquaculture Reports*. 20 p.
16. Song, F., Wenqiang, W., Peng, Y., Chaoqun, H., Shuyan, C., Songlin, Li. and Kangsen, M., 2021. Effects of dietary methionine on growth performance and metabolism through modulating nutrient-related pathways in largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture Reports*. 20 p.
17. Anne-Catrin, A., Takaya, S., Marit, E., Paul, W., Jorge, M., De Oliveira, F., Vibeke, V. and Kaja, H.S., 2021. Metabolic and molecular signatures of improved growth in Atlantic salmon (*Salmo Salar*) fed surplus levels of methionine, folic acid, vitamin B6 and B12 throughout smoltification. *British Journal of Nutrition*. 1-14.
18. Ahmed, I., Khan, M.A. and Jafri, A.K., 2003. Dietary methionine requirement of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). *Aquaculture international*. 11(5): 449-462.
19. Zhou, Q.C., Wu, Z.H., Tan, B.P., Chi, S.Y. and Yang, Q.H., 2006. Optimal dietary methionine requirement for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*. 258(1-4): 551-557.
20. Teresa, V., Omar, A., José, A.M., Louis, R. and Abramo, D., 2020. Lipid metabolism in juveniles of Yellowtail, *Seriola dorsalis*, fed different levels of dietary methionine containing a low level of cholesterol: Implication in feed formulation. *Aquaculture Nutrition*. 1-13.
21. Ebenezar, S., Vijayagopal, P., Srivastava, P.P., Gupta, S., Varghese, T., Prabu, D.L. and Wilson, L., 2020. Optimum dietary methionine requirement of juvenile silver pompano, *Trachinotus blochii* (Lacepede, 1801). *Animal Feed Science and Technology*. 268: 114592.
22. Aliu, B.S. and Omenogor, S.O., 2021. Effect of dietary methionine on growth and utilization of *Clarias gariepinus* fingerlings. *International Journal of Advanced Academic Research*. 7(3): 70-77.
1. Mohseni, M., Pourkazemi, M., Seyed Hassani, M.H. and Pourali, H., 2016. Effects of dietary lysine and methionine supplementation on growth, nutrient utilization and carcass compositions in beluga, *Huso huso*, fed soy protein-based diet. *Iranian Scientific Fisheries Journal*. 25 (1) :119-133. (In Persian)
2. Aprodu, I., Vasile, A., Gurau, G., Ionescu, A. and Paltenea, E., 2012. Evaluation of nutritional quality of the common carp (*Cyprinus carpio*) enriched in fatty acids. *Food Technology*. 36: 61-73.
3. Cho, S.H., Lee, S.M. and Lee, J.H., 2005. Effect of dietary protein and lipid levels on growth and body composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus L.*) reared under optimum salinity and temperature conditions. *Aquaculture Nutrition*. 11: 235-240.
4. Rønnestad, L., Conceição, L.E., Aragão, C. and Dinis, M. T., 2000. Free amino acids are absorbed faster and assimilated more efficiently than protein in postlarval Senegal sole (*Solea senegalensis*). *The Journal of nutrition*. 130: 2809-2812.
5. Wilson, R.P., 2002. Amino acid and priteins. USA.
6. Mai, K., Wan, J., Ai, Q., Xu, W., Liufu, Z., Zhang, L., Zhang, C. and Li, H., 2006. Dietary methionine requirement of large yellow croaker, (*Pseudosciaena crocea* R.). *Aquaculture*. 253: 564-572.
7. Small, B.C. and Soares, J.J.H., 2000. Quantitative dietary lysine requirement of Juvenile striped bass *Moron saxatilis*. *Aquaculture Nutrition*. 6: 207-212.
8. Imanpoor, M.R., Mohseni, M. and Karaminasab, M., 2020. Evaluation of phytase supplementation on the replacement of fish with soy flour on growth indices and some blood and biochemical parameters of serum free salmon (*Salmo trutta caspius*). *Journal of Animal Environment*. 11(4): 177-186. (In Persian)
9. AOAC. 1995. Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemists International. 4nd edition. Arlington, VA, USA. 634 P.
10. Akbary, P. and Namdar Ali Sofi, G., 2020. Effect of different levels of *Salicornia* sp. plant extract on growth performance and body chemical compositions of grey mullet, *Mugil cephalus* Linnaeus 1758. *Journal of Animal Environment*. 11(4): 177-186. (In Persian)
11. Li, P., Mai, K.S., Trushenski, J. and Wu, G.Y., 2009. New developments in fish amino acid nutrition: towards functional and environmentally oriented aquafeeds. *Amino Acids*. 37: 43-53.
12. Zhou, F., Shao, Q. j., Xiao, J.X., Peng, X., Ngandzali, B.O., Sun, Z. and Ng, W.K., 2011. Effects of dietary arginine and lysine levels on growth performance, nutrient utilization and tissue biochemical profile of black sea bream, (*Acanthopagrus schlegelii*), fingerlings. *Aquaculture*. 319: 72-80.
13. Xie, F., Ai, Q., Mai, K., Xu, W. and Wang, X., 2012. Dietary lysine requirement of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*, Richardson 1846) larvae. *Aquaculture Res*. 43: 917-928.
14. Beyrami, N., Zakeri, M., Kochanian, P., Yavari, V. and Mohammadi Azarm, H., 2016. Effects of supplementation of amino acids, lysine and methionine on growth performance and feed utilization of Sobaity sea bream juveniles, *Sparidentex hasta*. *Journal of Marine Science and Technology*. 15(3): 89-104. (In Persian)