

## ƯỚC TÍNH NHU CẦU AXIT AMIN THIẾT YẾU CỦA CÁ TRÊ LAI GIỐNG (*Clarias macrocephalus* x *C. gariepinus*) DỰA VÀO PROTEIN LÝ TƯỞNG

Nguyễn Duy Quỳnh Trâm<sup>1\*</sup>, Lê Đức Ngoan<sup>2</sup>, Jan Erik Lindberg<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Khoa Thủy sản, Trường Đại học Nông Lâm-Đại học Huế

<sup>2</sup>Khoa Chăn nuôi-Thú y, Trường Đại học Nông Lâm-Đại học Huế

<sup>3</sup>Khoa Chăn nuôi-Thú y, Đại học Khoa học Nông nghiệp Thụy Điển

Email\*: quynhtram2007@gmail.com

Ngày gửi bài: 27.02.2014

Ngày chấp nhận: 26.04.2014

### TÓM TẮT

Nhu cầu các axit amin thiết yếu của cá trê lai giống (*Clarias macrocephalus* x *C. gariepinus*) đã được ước tính dựa vào protein lý tưởng trên cơ sở xác định mức lysine tối ưu, thành phần và hàm lượng các axit amin trong mô toàn bộ cơ thể cá trê lai giống. Thí nghiệm đã được tiến hành trong bể kính thể tích 130 L, mỗi bể thả 30 cá giống ( $4,0 \pm 0,7$  g) nuôi với khẩu phần bán tinh khiết có năng lượng  $18,3 \text{ MJ GE kg}^{-1}$  và  $300 \text{ g CP kg}^{-1}$  thức ăn (CP-protein thô). Thí nghiệm có 6 nghiệm thức ứng với 6 mức lysine (40, 45, 50, 55, 60 và  $65 \text{ g kg}^{-1}$  CP) với 3 lần lặp. Kết quả cho thấy tăng khối lượng (WG) và tốc độ tăng trưởng đặc biệt (SGR) tăng theo mức lysine tăng trong khẩu phần ( $P < 0,05$ ). Thông qua phương trình đa thức bậc hai giữa WG với lysine, nhu cầu lysine được xác định là  $58,2 \text{ g kg}^{-1}$  CP. Nhu cầu các axit amin thiết yếu còn lại được ước tính dựa vào protein lý tưởng.

Từ khóa: Axit amin thiết yếu, lysine, protein lý tưởng, thành phần axit amin thiết yếu của cơ

### Dietary Essential Amino Acid Requirements of Fingerling Hybrid Catfish (*Clarias macrocephalus* X *C. gariepinus*) as Estimated by the Ideal Protein Approach

#### ABSTRACT

The requirement of essential amino acids (EAA) in hybrid catfish fingerling (*Clarias macrocephalus* x *C. gariepinus*) was estimated from the optimal dietary lysine requirement and the ideal EAA profile in catfish whole-body amino acid. Groups of 30 fish ( $4.0 \pm 0.7$  g) were stocked in triplicate in 130 L glass tanks and were fed semi-purified iso-nitrogenous diets ( $300 \text{ g crude protein (CP) kg}^{-1}$  and  $18.3 \text{ MJ gross energy (GE) kg}^{-1}$ ) with increasing levels of lysine (40, 45, 50, 55, 60 and  $65 \text{ g kg}^{-1}$  CP). The results showed that the live weight gain (WG) and specific growth rate (SGR) increased ( $P < 0.05$ ) with increasing dietary lysine level. Subjecting the data of WG to the second-order polynomial analysis, the requirement of dietary lysine was estimated and was found to be  $58.2 \text{ g kg}^{-1}$  of CP. Therefore, the dietary requirements of EAA were estimated using whole-body amino acid profile.

Keywords: Essential amino acids, ideal protein, lysine, whole body amino acid profile.

#### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá trê lai (*Clarias macrocephalus* x *C. gariepinus*) là một loài cá nuôi phổ biến ở Đông Nam Á bởi vì chúng có khả năng chịu đựng tốt với điều kiện môi trường nuôi, khả năng kháng bệnh tốt, sinh trưởng nhanh, nuôi được mật độ cao và chất lượng thịt thơm (Areerat, 1987; Ng and Chen, 2002). Tuy nhiên, những nghiên cứu

về nhu cầu axit amin của cá trê lai có rất ít công bố, ngoại trừ của Unprasert (1994) trích dẫn bởi Wilson (2002) và Singh and Khan (2007).

Lysine là một axit amin thiết yếu được quan tâm đặc biệt vì hàm lượng cao của nó trong thịt của nhiều loài cá nhưng axit amin này thường thiếu trong phần lớn các loại thức ăn (Wilson and Poe, 1985; NRC, 1993). Lysine có thể sử dụng như một axit amin chuẩn để xác

định nhu cầu các axit amin thiết yếu còn lại bằng việc sử dụng khái niệm protein lý tưởng (Baker and Han, 1994).

Thuật ngữ protein lý tưởng (ideal protein) chỉ ra rằng thành phần axit amin của cơ thể là phản ánh nhu cầu axit amin của động vật (Cole, 1978). Thuật ngữ này đã được chấp nhận và sử dụng trong nghiên cứu dinh dưỡng cá của Ogino (1980). Các kết quả nghiên cứu sau này chỉ ra rằng nhu cầu axit amin thiết yếu của cá hồi Atlantic và Rainbow trout tương quan chặt với thành phần axit amin thiết yếu của toàn bộ cơ thể (Wilson and Cowey, 1985) và thành phần axit amin thiết yếu được sử dụng để ước tính nhu cầu axit amin cho nhiều loài cá (Bicudo and Cyrino, 2009).

Nghiên cứu này được tiến hành nhằm xác định nhu cầu lysine và từ đó ước tính nhu cầu các axit amin thiết yếu còn lại thông qua thành phần axit amin thiết yếu của protein toàn bộ cơ thể cá trên lại.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được tiến hành từ tháng 12/2012 đến tháng 4/2013 tại khoa Thủy sản và khoa Chăn nuôi - Thú y, Trường đại học Nông Lâm - Đại học Huế.

Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên với 6 nghiệm thức ứng với 6 khẩu phần có các mức lysine khác nhau (40, 45, 50, 55, 60 và 65 g kg<sup>-1</sup> CP) và 3 lần lặp lại. Tổng số 16 đơn vị thí nghiệm và mỗi đơn vị thí nghiệm là 1 bể kính có dung tích 130 L. Mỗi bể kính nuôi 30 cá giống có khối lượng ban đầu 4,2 ± 0,7g. Các bể kính được nối với hệ thống cấp và thoát nước với tốc độ 6 L/phút.

Trong suốt thời gian thí nghiệm, nhiệt độ nước nằm trong giới hạn 22-26°C, hàm lượng N-NH<sub>3</sub> từ 0,1-0,3 mg L<sup>-1</sup>, pH 6,5-7, hàm lượng oxy hòa tan (DO) 5,5-6 mg L<sup>-1</sup> và nitrite không vượt quá 0,2 mg L<sup>-1</sup>. Cá nuôi trong điều kiện ánh sáng tự nhiên trong suốt thời gian thí nghiệm.

### 2.2. Khẩu phần và nuôi dưỡng

Các khẩu phần được phối hợp đồng nhất protein (300g CP kg<sup>-1</sup>) và năng lượng (18,3 MJ GE kg<sup>-1</sup>); sử dụng casein và gelatin làm nguồn cung cấp protein. Các khẩu phần có bổ sung hỗn hợp axit amin tinh khiết để đảm bảo cân đối với axit amin của cơ thể, ngoại trừ sự thay đổi mức lysine. Mức lysine thấp nhất và cao nhất trong thí nghiệm dựa vào kết quả phân tích thành phần axit amin thiết yếu của toàn bộ cơ thể cá. Giả thiết này dựa vào kết quả quan sát của Cowey and Tacon (1983) và Wilson and Poe (1985). Đó là quan hệ chặt chẽ giữa nhu cầu axit amin thiết yếu của cá và thành phần axit amin của cơ hoặc thân thịt xẻ.

Phối trộn khẩu phần như sau: Tất cả nguyên liệu khô, trừ Carboxymethyl cellulose (CMC), được trộn kỹ lưỡng và sau đó trộn với dầu và thêm nước. Điều chỉnh pH hỗn hợp này đến 7 bằng dung dịch NaOH 6N (Ngamsnae et al., 1999). CMC được đun đến 80°C, trộn với hỗn hợp trên và điều chỉnh pH của hỗn hợp. Hỗn hợp này được chế biến thành viên (2mm) bằng máy đùn viên (của hãng Sheng Kiang, Trung Quốc) và sấy 60°C trong 16h; bảo quản ở nhiệt độ 4°C. Thành phần và giá trị dinh dưỡng của các khẩu phần được trình bày ở bảng 1.

Cho cá ăn 2 lần trong ngày (08:00h và 16:00h) với lượng ăn tương đương 5% khối lượng cơ thể.

### 2.3. Các chỉ tiêu nghiên cứu

Tốc độ tăng trưởng đặc biệt:  $SGR = 100 \times (\ln W_t - \ln W_0) / t$

Tỷ lệ tăng khối lượng:  $WG = [(W_t - W_0) / W_0] \times 100$ ; Trong đó,  $W_t$  khối lượng kết thúc,  $W_0$  là khối lượng ban đầu,  $t$  là số ngày thí nghiệm.

Tỷ lệ sống = [số lượng cá sống khi kết thúc/số lượng cá đưa vào thí nghiệm] x 100

Tỷ lệ A/E (từng EAA so với tổng EAA) = (mỗi EAA/tổng số EAA, bao gồm cysteine và tyrosine) x 1.000 (Arai, 1981).

Nhu cầu mỗi EAA = (nhu cầu lysine x tỷ lệ A/E của mỗi EAA)/A/E của lysine

**Bảng 1. Thành phần và giá trị dinh dưỡng của các khẩu phần (% tính theo chất khô)**

Thành phần	Mức lysine (g kg <sup>-1</sup> CP)					
	40	45	50	55	60	65
Casein <sup>1</sup>	16,5	16,5	16,5	16,5	16,5	16,5
Gelatin <sup>2</sup>	4,8	4,8	4,8	4,8	4,8	4,8
Dextrin <sup>3</sup>	38,0	38,0	38,0	38,0	38,0	38,0
α-Cellulose <sup>4</sup>	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5
Hỗn hợp EAA <sup>5</sup>	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Hỗn hợp NEAA <sup>6</sup>	9,2	9,0	8,9	8,7	8,5	8,3
Bổ sung lysine	0,0	0,2	0,3	0,5	0,7	0,9
Premix vitamin và khoáng <sup>7</sup>	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
Carboxymethyl cellulose	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Dầu cá	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
Dầu thực vật	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
Tổng	100	100	100	100	100	100
Lysine	1,2	1,35	1,5	1,65	1,8	1,95
CP tính toán	30,0	30,0	30,0	30,9	30,0	30,0
CP phân tích	29,8	29,9	30,2	29,6	30,2	30,2
GE (MJ kg <sup>-1</sup> )	18,5	18,3	18,3	18,4	18,3	18,4

Ghi chú: <sup>1</sup>Merck, KGaA (Đức); <sup>2</sup>Merck, KGaA (Đức); <sup>3</sup>Sigma (USA); <sup>4</sup>Sigma (Đức); <sup>5</sup>Hỗn hợp EAA - axit amin thiết yếu (g kg<sup>-1</sup> khẩu phần): leucine 12,1g, threonine 10,6g, tryptophan 0,2g; <sup>6</sup>Hỗn hợp NEAA - axit amin không thiết yếu (g kg<sup>-1</sup> khẩu phần): aspartic acid 40,6g, cystine 18,7g; <sup>7</sup>Premix vitamin và khoáng: vitamin A, 4.000.000UI; vitamin D<sub>3</sub>, 800.000UI; vitamin E, 8.500UI; vitamin K<sub>3</sub>, 750UI; vitamin B<sub>1</sub>, 375UI; vitamin C, 8.750UI; vitamin B<sub>2</sub>, 1.600mg; vitamin B<sub>6</sub>, 750mg; folic acid, 200mg; vitamin B<sub>12</sub>, 3.000mcg; biotin, 20.000mcg; methionine, 2.500mg; Mn, Zn, Mg, K và Na, 10mg.

#### 2.4. Phân tích axit amin trong mô toàn bộ cơ thể cá

Cá trê lai giống với các kích cỡ khác nhau được thu hoạch trong khoảng tháng 3-7/2012. Mỗi nhóm kích cỡ được thu 100-120 con, sau đó loại bỏ toàn bộ đường tiêu hóa, rửa sạch và đem nghiền mịn. Mẫu được sấy ở nhiệt độ 60°C và bảo quản ở nhiệt độ 4°C để phân tích nitơ (N) và thành phần axit amin.

#### 2.5. Phân tích hóa học

Thành phần hóa học thức ăn và thịt cá được phân tích theo các phương pháp chuẩn (AOAC 1990); Phân tích vật chất khô bằng sấy khô mẫu ở 105°C trong 24 giờ; CP (N x 6,25) và chất béo thô bằng phương pháp Soxhlet; khoáng tổng số bằng cách nung mẫu ở 550-600°C trong 3 giờ. Năng lượng thô (GE -gross energy) được xác định bằng bomb-calorimeter tự động (Calorimeter Parr 6300,

USA). Phân tích axit amin trong casein, gelatine và protein cơ thể cá bằng phương pháp sắc ký lỏng cao áp-HPLC (Amino Quant, 1990). Mẫu phân tích axit amin được chuẩn bị theo mô tả của Ngoan et al. (2000) nhưng không phân tích axit amin tryptophan.

#### 2.6. Phân tích số liệu thống kê

Tất cả số liệu được xử lý thống kê theo phân tích phương sai (ANOVA) trên mô hình tương quan tuyến tính GLM bằng phần mềm Minitab 16.1.1 (2010). So sánh giá trị trung bình của các cặp nghiệm thức bằng phương pháp Tukey với khoảng tin cậy 95% (P = 0,05). Nhu cầu lysine được ước tính dựa vào tăng khối lượng-WG trên mô hình tương quan đa thức bậc hai (the second-order polynomial model):  $Y=a+bX+cX^2$  (Zeitoun et al.,1976).

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Sinh trưởng và nhu cầu lysine

Các chỉ tiêu sinh trưởng và tỷ lệ sống của cá được trình bày ở bảng 2. Số liệu cho thấy, tỷ lệ sống cao (85,6-90%) và không sai khác thống kê giữa các nghiệm thức ( $P>0,05$ ). WG và SGR tăng khi tăng mức lysine trong khẩu phần từ 45-50 g  $\text{kg}^{-1}$  CP ( $P<0,05$ ). Tuy nhiên, khi mức lysine tăng trên 50 g  $\text{kg}^{-1}$  CP, WG và SGR không bị ảnh hưởng ( $P>0,05$ ). WG và SGR của cá ăn khẩu phần có mức lysine thấp nhất cho kết quả kém nhất.

Ở nghiên cứu này, không có sự sai khác về tỷ lệ chết của cá hay biểu hiện các triệu chứng bệnh do thiếu dinh dưỡng, đặc biệt là thiếu lysine như Tacon (1992) thông báo. Giảm WG ở mức lysine cao hơn nhu cầu có thể do ảnh hưởng xấu (tương tác lysine-arginine) do dư thừa lysine tự do ở mức ăn này (Wilson, 2002). Kaushik và Fauconneau (1984) nghiên cứu trên cá hồi cho thấy sự tồn tại đối lập về trao đổi chất giữa lysine và arginine. Các tác giả nhận thấy, tăng mức lysine khẩu phần ảnh hưởng đến hàm lượng ure và arginine trong huyết tương cũng như sự bài tiết ammonia. Thừa lysine làm giảm sự phân giải arginine.

Tương quan giữa WG (Y,%) với mức lysine (x,% CP) khẩu phần là tương quan đa thức (Đồ thị 1). Phương trình tương quan như sau:

$$Y = -0,8088x^2 + 94,19x - 2347,7 \quad (R^2 = 80\%; P = 0,001)$$

Từ phương trình tương quan, nhu cầu lysine được xác định là 58,2g  $\text{kg}^{-1}$  protein. Kết quả của nghiên cứu này nằm trong giới hạn các

nghiên cứu trước đây trên nhiều loài cá (NRC, 1993; Wilson, 2002). Nhu cầu lysine đối với cá da trơn châu Phi là 57 g  $\text{kg}^{-1}$  CP (Fagbenro et al., 1998a). Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu này cao hơn một số kết quả đã công bố. Wilson và Poe (1985) cho biết, nhu cầu lysine của cá da trơn là 51 g  $\text{kg}^{-1}$  CP; trong khi Unprasert (1994) trích dẫn bởi Wilson (2002) công bố nhu cầu lysine của trê lai *Clarias* là 48 g  $\text{kg}^{-1}$  CP.

Sự sai khác về nhu cầu lysine do sự khác biệt về di truyền giữa các loài (Akiyama et al., 1997), nhưng có thể do phương pháp nghiên cứu khác nhau, như là lượng protein, nguồn protein và axit amin chuẩn đã được sử dụng và mức năng lượng khẩu phần (Forster and Ogata, 1998; Simmons et al., 1999; De Silva et al., 2000). Mặt khác, sự khác nhau về kích cỡ cá, tuổi, chế độ nuôi và môi trường nuôi cũng dẫn đến sai khác về kết quả (Kim et al., 1992). Cuối cùng, mô hình tương quan sử dụng để ước tính nhu cầu lysine cũng ảnh hưởng đến kết quả (Shearer, 2000; Montes-Girao and Fracalossi, 2006).

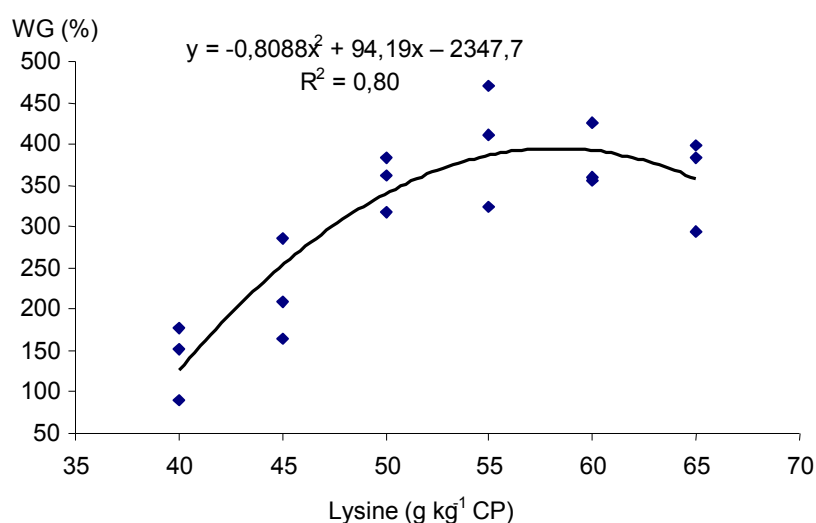
Ở nghiên cứu này, mô hình tương quan đa thức đã được sử dụng để tính toán tương quan giữa WG với mức lysine khẩu phần. Mô hình này đã được kiểm chứng (Shearer, 2000) và đã cho thấy phù hợp nhất dựa trên phân tích sai khác (residual analysis). Phương trình này đã được nhiều tác giả sử dụng và coi là có sai số ít nhất (Wilson, 2002). Thực tế cho thấy, cá ăn khẩu phần có mức lysine thấp nhất cho WG và SGR thấp nhất. Tương tự, cá ăn khẩu phần có mức lysine cao nhất làm giảm WG và SGR một cách tương ứng.

**Bảng 2. Tăng khối lượng (WG), tốc độ tăng khối lượng (SGR) và tỷ lệ sống của cá trê lai (*Clarias macrocephalus* x *C. gariepinus*) ăn các khẩu phần có mức lysine khác nhau<sup>1</sup>**

	Mức lysine (g $\text{kg}^{-1}$ CP)						SEM <sup>2</sup>
	40	45	50	55	60	65	
Khối lượng ban đầu (g)	4,12 <sup>a</sup>	4,10 <sup>a</sup>	4,43 <sup>a</sup>	4,08 <sup>a</sup>	4,28 <sup>a</sup>	4,14 <sup>a</sup>	0,14
Khối lượng kết thúc (g)	9,8 <sup>b</sup>	13,5 <sup>b</sup>	20,1 <sup>a</sup>	20,3 <sup>a</sup>	20,5 <sup>a</sup>	19,0 <sup>a</sup>	1,10
WG (%)	139 <sup>c</sup>	220 <sup>bc</sup>	354 <sup>ab</sup>	401 <sup>a</sup>	380 <sup>a</sup>	358 <sup>ab</sup>	30,7
SGR (%)	1,54 <sup>c</sup>	2,06 <sup>bc</sup>	2,70 <sup>ab</sup>	2,87 <sup>a</sup>	2,80 <sup>a</sup>	2,71 <sup>ab</sup>	0,15
Tỷ lệ sống (%)	85,6 <sup>a</sup>	90,0 <sup>a</sup>	88,9 <sup>a</sup>	86,6 <sup>a</sup>	90,0 <sup>a</sup>	88,8 <sup>a</sup>	2,83

Ghi chú: <sup>1</sup> Giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Trong cùng hàng, giá trị có số mũ khác nhau có sai khác thống kê ( $P<0,05$ ).

<sup>2</sup>SEM: Sai số của giá trị trung bình.



**Đồ thị 1. Ước tính nhu cầu lysine cho cá trê lai *Clarias* dựa vào tăng khối lượng (WG) sử dụng mô hình tương quan đa thức**

Nhiều nghiên cứu chỉ rõ rằng, thiếu lysine làm giảm tính ngon miệng dẫn đến giảm lượng ăn vào, giảm hiệu suất sử dụng thức ăn và sinh trưởng chậm ở nhiều loài cá, ví dụ: cá da trơn châu Phi (Fagbenro et al., 1998b), cá da trơn nước ngọt (Tantikitti and Chimsung, 2001), cá chép Ấn Độ (Ahmed and Khan, 2004) và cá vược mồm rộng (Dairiki et al., 2007).

### 3.2. Thành phần axit amin của toàn cơ thể, tỷ số A/E và ước tính nhu cầu axit amin thiết yếu cho cá trê lai

Thành phần axit amin thiết yếu của cá được phân tích ở phòng thí nghiệm và tỷ số A/E được

tính toán dựa vào công thức ở mục 2.3. Từ đó, nhu cầu từng axit amin thiết yếu được tính toán dựa vào nhu cầu lysine và thành phần axit amin của cơ thể. Số liệu được trình bày ở bảng 3.

Số liệu ở bảng 3 cho thấy, hàm lượng lysine trong toàn bộ cơ thể thấp (45,3) hơn leucine (65,5) và arginine (50,7 g kg<sup>-1</sup> CP). Tỷ số A/E giao động 41-178; Trong đó, leucine có giá trị cao nhất (178) và thấp nhất ở methionine (41). Nhu cầu các axit amin thiết yếu dao động 19,1-84 g kg<sup>-1</sup> CP hay 5,7-25,2 g kg<sup>-1</sup> thức ăn cho cá trê lai *Clarias*.

Thuật ngữ protein lý tưởng để xác định nhu cầu axit amin thiết yếu khi biết nhu cầu của

**Bảng 3. Thành phần axit amin, tỷ số A/E và ước tính nhu cầu axit amin thiết yếu**

	Thành phần axit amin		A/E	Nhu cầu (g kg <sup>-1</sup> CP)
	(g kg <sup>-1</sup> CP)	Lysine		
Arginine	50,7	112	138	65,0
Histidine	19,7	44	54	25,3
Threonine	40,6	90	111	52,1
Leucine	65,5	145	178	84,0
Isoleucine	38,5	85	105	49,4
Lysine	45,3	100	123	58,1
Methionine	14,9	33	41	19,1
Phenylalanine + Tyrosine	53,8	119	146	69,0
Valine	38,4	85	105	49,3

một trong số các axit thiết yếu đó đã được sử dụng nhiều trên các nghiên cứu về cá (Wilson, 2002). Nhiều tác giả đã đề xuất sử dụng thành phần axit amin thiết yếu của cơ hoặc toàn bộ cơ thể để làm protein chuẩn (protein lý tưởng) (Ketola, 1982; Cowey and Luquet, 1983). Ở nghiên cứu này, thành phần axit amin thiết yếu của toàn bộ cơ thể đã được sử dụng như protein lý tưởng (Bảng 3).

#### 4. KẾT LUẬN

Từ các kết quả nghiên cứu trên cho thấy nhu cầu lysine cho cá trê lai (*C. macrocephalus* x *C. gariepinus*) là 58,2 g kg<sup>-1</sup> CP. Nhu cầu các axit amin thiết yếu còn lại đã được tính theo nhu cầu lysine thích hợp sử dụng tỷ lệ các axit amin thiết yếu của toàn bộ cơ thể cá như protein lý tưởng.

#### LỜI CẢM ƠN

Các tác giả cảm ơn Cơ quan hợp tác phát triển quốc tế Thụy Điển (Sida-SAREC) đã tài trợ cho nghiên cứu và phòng phân tích thức ăn-Viện Chăn nuôi quốc gia đã tiến hành phân tích axit amin của thức ăn và cá.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ahmed I. and Khan M. A. (2004). Dietary lysine requirement of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). *Aquaculture* (235): 499-511.
- Akiyama T., Oohara I. and Yamamoto T. (1997). Comparison of essential amino acid requirements with A/E ratio among fish species (review paper). *Fisheries science* (63): 963-970.
- Amino Quant (1990). Operator's handbook. HP No 01090 90025. Hewlett packard Company. Printed in the Federal Republic of Germany.
- AOAC (1990). Association of Official Analytical Chemists 15<sup>th</sup> ed., Washington DC, USA.
- Areerat S. (1987). *Clarias* culture in Thailand. *Aquaculture* (63): 355-362.
- Arai, S.A. (1981). "A purified test diet for coho salmon, *Onchorhynchus kituch*, fry". *Nippon Suisan Gakkaishi* 47: 547-550.
- Baker D. H. and Han Y. (1994). Ideal Amino Acid Profile for Chicks During the First Three Weeks Posthatching. *Poultry Science* (73): 1441-1447.
- Bicudo A. J. and Cyrino J. E. P. (2009). Estimating Amino Acid Requirement of Brazilian Freshwater Fish from Muscle Amino Acid Profile. *Journal of the World Aquaculture Society* 40 (6): 818-823
- Cole D. J. A. (1978). Amino acid nutrition of the pig. *In* Recent advances in animal nutrition (Haresing, W and Lewis D eds.), pp. 59-72. Butterworth, London, UK.
- Cowey C. B. and Luquet P. (1983). Physiological basis of protein requirements of fishes. Critical analysis of allowances. *In* Proceedings of the IV International Symposium on Protein Metabolism and Nutrition, 5-9 September, pp. 365-384. INRA, France.
- Cowey C. B. and Tacon A. G. J. (1983). Fish nutrition relevant to invertebrates. Proceedings, Second International Conference on Aquaculture Nutrition: Biochemical and Physiological Approaches to Shellfish Nutrition. G. D. Pruder, C. J. Langdon and D. E. Conklin, Louisiana State University of Continuing Education, Baton Rouge, LA: 13-30.
- Dairiki J. K., Dias C. T. S. and Cyrino J. E. P. (2007). Lysine requirement of large mouth bass, *Micropterus salmoides*: a comparison of methods of analysis of dose-response trials data. *Halver* 19, 1-27.
- De Silva S. S., Gunasekera R. M. and Gooley G. (2000). Digestibility and amino acid availability of three protein-rich ingredient-incorporated diets by Murray cod *Maccullochella peelii peelii* (Mitchell) and the Australian short fin eel *Anguilla australis* Richardson. *Aquaculture research* (31): 19-205.
- Fagbenro O. A., Balogun A. M., Fasakin E. A. and Bello-Olusoji O. A. (1998a). Dietary Lysine Requirement of the African Catfish, *Clarias gariepinus*. *Journal of Applied Aquaculture* 8(2): 71-77.
- Fagbenro O. A., Balogun A. M. and Fasakin E. A. (1998b). Dietary Methionine Requirement of the African Catfish, *Clarias gariepinus*. *Journal of Applied Aquaculture* (8): 47-54.
- Forster I. and Ogata H. Y. (1998). Lysine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* and juvenile red sea bream *Pagrus major*. *Aquaculture* (161): 131-142.
- Kaushik S. J. and Fauconneau B. (1984). Effects of lysine administration on plasma arginine and on some nitrogenous catabolites in rainbow trout. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* (79): 459-462.
- Ketola H. G. (1982). Amino acid nutrition of fishes: Requirements and supplementation of diets. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 73(1): 17-24

- Khan M. A. and Jafri A. K. (1993). Quantitative dietary requirement for some indispensable amino acids in the Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton) fingerling. *Journal of Aquaculture in the Tropics* (8): 67-80.
- Kim K. I., Kayes T. B. and Amundson C. H. (1992). Requirements for lysine and arginine by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* (106): 333-344
- Montes-Girao P. J. and Fracalossi D. M. (2006). Dietary Lysine Requirement as Basis to Estimate the Essential Dietary Amino Acid Profile for Jundiá, *Rhamdia quelen*. *Journal of the World Aquaculture Society* (37): 388-396.
- Ng W. K. and Chen M. L. (2002). Replacement of Soybean Meal with palm Kernel Meal in Practical Diets for Hybrid Asian-African Catfish, *Clarias macrocephalus* x *C. gariepinus*. *Journal of Applied Aquaculture* (12): 67-76.
- Ngamsnae P., De Silva S.S. & Gunasekera R.M. (1999). Arginine and phenylalanine requirement of juvenile silver perch *Bidyanus bidyanus* and validation of the use of body amino acid composition for estimating individual amino acid requirements. *Aquaculture Nutrition*, 5, 173-180.
- Ngoan L. D., Lindberg J. E., Ogle B. and Thomke S. (2000). Anatomical proportions and chemical and amino acid composition of common shrimp species in Central Vietnam. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* (13): 1422-1428.
- NRC (1993). *Nutrient Requirements of Fish*, National Academy Press, Washington, D.C., USA.
- Ogino C. (1980). Protein Nutrition in Fish.9. Requirements of Carp and Rainbow-Trout for Essential Amino-Acids. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* (46): 171-174.
- Shearer (2000) Experimental design, statistical analysis and modelling of dietary nutrient requirement studies for fish: a critical review. *Aquaculture Nutrition* (6): 91-102.
- Simmons L., Moccia R. D., Bureau D. P., Sivak J. G. and Herbert K. (1999). Dietary methionine requirement of juvenile Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.). *Aquaculture nutrition* (5): 93-100.
- Singh S. and Khan M. A. (2007). Dietary arginine requirement of fingerling hybrid Clarias (*Clarias gariepinus* x *Clarias macrocephalus*). *Aquaculture research* (38): 17-25.
- Tacon A. G. J. (1992). Nutritional fish pathology. Morphological signs of nutrient deficiency and toxicity in farmed fish. *FAO Fish Technical Paper*. No. 330.
- Tantikitti C. and Chimsung N. (2001). Dietary lysine requirement of freshwater catfish (*Mystus nemurus* Cuv. and Val.). *Aquaculture research* (32) 135-141.
- Wilson R. P. (2002). Amino Acids and Proteins. *In Fish Nutrition*, 3<sup>rd</sup> ed (Halver, J E and Hardy R W eds.), pp. 143-178. Academic Press, London.
- Wilson R. P. and Cowey C. B. (1985). Amino acid composition of whole body tissue of rainbow trout and Atlantic salmon. *Aquaculture* (48) 373-376.
- Wilson R. P. and Poe W. E. (1985). Relationship of whole body and egg essential amino acid patterns to amino acid requirement patterns in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology* (80B): 385-388.
- Zeitoun, I.H., Ullrey D.E., Magee, W.T. (1976). "Quantifying nutrient requirements of fish". *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 33: 167-172.