

**FINAL REPORT OF
E-SCIENCE FUND**

**UNDERSTANDING CHEMICAL SENSITIVITY AND
PREFERENCE OF GROUPER TO AMINO ACIDS FOR
AQUAFEED DEVELOPMENT**

**PROJECT CODE
04-01-10-SF0191**

**SAGA CODE
SCF0084-SEA2012**

**PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

**PROJECT LEADER
ASSOC. PROF. DR. ROSSITA SHAPAWI**

**BORNEO MARINE RESEARCH INSTITUTE
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH
2012/2014**



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

SYNOPSIS

UNDERSTANDING CHEMICAL SENSITIVITY AND PREFERENCE OF GROUPER TO AMINO ACIDS FOR AQUAFEED DEVELOPMENT

Grouper aquaculture is expanding but most grouper farmers are challenged by high cost of feed input due to the dependency on the expensive fish meal. Soybean meal (SBM) has high potential to replace fish meal but at high inclusion levels, diets palatability is affected. The use of suitable feeding stimulant (via gustation) or attractant (via olfaction) in non-fish meal based diets might be able to increase feed intake. Amino acids and betaine are commonly used as feeding stimulant and attractant in aquaculture feeds. Unfortunately, little is known about the specific response of grouper to these substances. The present study aimed to investigate the chemical responses in the grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*) to feeding stimulant and attractant and evaluate its potential to promote the intake on SBM-based diets through an electrophysiology (Experiment 1), two behavioural (Experiments 2 & 3) and a feeding experiments (Experiment 4). In experiment 1, cysteine was determined as the most sensitive amino acid to the olfaction of grouper, followed by lysine and arginine at the concentration of 10^{-3} M through electro-olfactogram analysis. The threshold level of cysteine was also determined at 10^{-5} M. Experiment 2 was carried out to confirm the results of Experiment 1 through behavioural study. Cysteine yielded the highest frequency in both the swimming and food searching activities, indicating its suitability as food attractant. In this experiment, it was realized that olfaction may not play a very critical role in cultured grouper because they are visual feeder and food are always provided by the farmers. Besides, the decision in food ingestion is mediated by gustation. Consequently, identification of feeding stimulant instead of attractant is more appropriate for the cultured grouper. Therefore, Experiment 3 was conducted to study the taste effect of betaine and the preference for amino acids in tiger grouper using video recording and agar gel pellet as the delivery medium. It was determined that betaine functions best as a feed enhancer in grouper. Betaine itself has low palatability but it enhanced the flavour of the amino acids mixture (also low in palatability) and improved the intake of the agar gel pellet by the fish. Interestingly, only small amount of betaine was required to enhance the flavour of the amino acids mixture (betaine: amino acids mixture 1:4). Among all the amino acids tested, only amino acid A was properly ingested by the fish. The fish acceptance for the amino acid A did not change with growth. In fact, the taste sensitivity for amino acid A improved with the size of fish. In experiment 4, an 8-week feeding trial was conducted to evaluate the potential of betaine and mixture of the selected amino acids to promote intake of SBM-based diets in the grouper. Although the best performance was achieved by the fish fed control diet, supplementation of betaine and the amino acids mixture improved the feed intake and growth in fish fed SBM-based diets. The optimum supplementation level of betaine was also determined at 1.0% based on the higher feed intake and fish growth in this treatment. In addition, another two feeding experiments (Experiments 5 and 6) were conducted to further testify the effect of amino acid and feeding stimulant supplementations to promote feed intake of grouper on SBM-based diet. In Experiment 5, fermented soybean (*tempeh* - TMP) was used to replace SBM, and found that the optimum inclusion level of TMP was 40%, which was slightly higher than SBM (30%). Fish fed diet with 40% TMP protein generally attained less enteritis than those fed SBM-based diet but the feed intake was low. In Experiment 6, supplementations of feeding stimulant and essential amino acids were found to improve the feed intake, growth performance and feed utilization of grouper fed TMP-based diet, although the optimum supplementation level of feeding stimulant remained to be determined because the source and quality of soybean product can influence the diets palatability. In conclusion, narrow chemical sensitivity to spectrum of amino acids in the grouper is observed. The findings of the study suggest that the issue with low palatability in SBM-based diets in grouper aquaculture can be solved by the use of species-specific attractant and stimulant.



SINOPSIS

Akuakultur kerapu sedang berkembang tetapi kebanyakan penternak menghadapi cabaran kos makanan yang tinggi disebabkan kebergantungan terhadap tepung ikan yang mahal. Tepung kacang soya (SBM) mempunyai potensi yang tinggi untuk menggantikan tepung ikan tetapi pada tahap penggantian yang tinggi ia boleh mengurangkan penerimaan ikan terhadap makanan tersebut. Penggunaan perangsang (melalui deria rasa) atau penyedap (melalui deria bau) makanan ke dalam diet yang bukan berasaskan tepung ikan berkemungkinan untuk meningkatkan pengambilan makanan. Asid amino dan betaine merupakan perangsang dan penyedap makanan yang biasa digunakan dalam makanan akuakultur. Malangnya, tidak banyak yang diketahui berkenaan respon spesifik kerapu terhadap bahan-bahan ini. Kajian ini dijalankan untuk menyiasat respon kimia kerapu harimau (*Epinephelus fuscoguttatus*) terhadap bahan perangsang dan penyedap dan menilai potensi bahan tersebut untuk menggalakan pengambilan makanan berasaskan SBM. Dalam eksperimen 1, sistein telah ditentukan sebagai asid amino yang paling sensitif terhadap deria bau kerapu, diikuti oleh lisin dan arginin dalam kepekatan $10^{-3}M$ melalui analisa elektro-olfaktogram. Ambang kepekatan sistein untuk membangkitkan gerak balas daripada deria bau juga telah ditentukan pada $10^{-5}M$. Eksperimen 2 dijalankan untuk mengesahkan keputusan yang diperolehi dalam Eksperimen 1 melalui kajian perlakuan. Sistein menghasilkan kekerapan yang paling tinggi dalam kedua-dua aktiviti berenang dan mencari makanan. Dalam eksperimen ini, disadari bahawa deria bau mungkin tidak memainkan peranan yang terlalu penting kepada kerapu yang diternak untuk mencari makanan kerana kerapu mengesan makanan melalui penglihatan dan makanan sentiasa dibekalkan oleh penternak. Selain itu, keputusan akhir untuk menelan makanan adalah dibantu oleh deria rasa. Oleh itu, Eksperimen 3 dijalankan untuk mengkaji kesan rasa betaine dan keenderungan terhadap asid amino pada kerapu melalui rakaman video dan penggunaan pelet agar gel sebagai medium perantara. Betaine berfungsi dengan baik sebagai penambah perisa makanan untuk kerapu. Tahap kesedaran betaine adalah rendah tetapi ia meningkatkan rasa campuran asid amino (juga rendah tahap kesedaran) dan pengambilan pelet agar gel oleh ikan. Menariknya, hanya sedikit kandungan betaine memadai untuk menambah-baik rasa campuran asid amino (betaine: campuran asid amino 1:4). Antara semua asid amino yang diuji, hanya asid amino A telah dimakan dengan sempurna oleh ikan. Keutamaan ikan kepada asid amino A tidak berubah dengan tumbesaran. Di samping itu, kepekaan rasa terhadap asid amino A meningkat dengan saiz ikan. Dalam Eksperimen 4, satu percubaan pemberian makanan selama 8 minggu telah dijalankan untuk menilai potensi betaine dan campuran asid amino terpilih untuk menggalakan pengambilan makanan berasaskan tepung kacang soya oleh ikan kerapu. Walaupun prestasi terbaik dicapai oleh ikan yang diberi diet kawalan, penambahan betaine dan campuran asid amino boleh meningkatkan pengambilan makanan dan tumbesaran ikan yang diberi diet berasaskan tepung kacang soya. Kandungan betaine yang optimum juga telah ditentukan pada 1.0% berdasarkan kepada pengambilan makanan dan tumbesaran ikan yang lebih tinggi di dalam rawatan ini. Sebagai tambahan, dua percubaan pemberian makanan telah dijalankan untuk menguji kesan penambahan perangsang untuk menggalakan pengambilan diet berasaskan tepung kacang soya. Dalam Eksperimen 5, tempeh telah digunakan untuk menggantikan tepung kacang soya dan didapati bahawa tahap penggunaan optimumnya dalam makanan adalah 40%, berbanding dengan kacang soya yang hanya pada 30%. Secara umum, ikan yang diberi makanan yang mengandungi 40% tempeh mempunyai enteritis yang kurang serius tetapi kadar pengambilan makanan adalah rendah. Dalam Eksperimen 6, adalah didapati bahawa penambahan perangsang dan asid amino perlu dalam diet yang mengandungi 40% tempeh boleh meningkatkan pengambilan, penggunaan makanan, dan tumbesaran ikan walaupun tahap optimum perangsang masih perlu dikaji kerana asal dan kualiti kacang soya boleh mempengaruhi kesedaran makanan. Sebagai kesimpulan, sensitiviti kerapu terhadap asid amino adalah terhad. Keputusan kajian ini mencadangkan penggunaan perangsang dan penyedap dapat mengatasi masalah penerimaan ikan terhadap diet berasaskan tepung kacang soya di dalam akuakultur kerapu.