



## Supplementary Material

# Effect of Dietary Protein: Energy Ratios on Nutrient Digestibility in *Labeo rohita* Fingerlings

Muhammad Javed Iqbal<sup>1,\*</sup>, Muhammad Afzal<sup>1</sup>, Khalid Abbas<sup>1</sup> and Muhammad Shahid<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Zoology, Wildlife and Fisheries, University of Agriculture, Faisalabad 38040

<sup>2</sup>Department of Biochemistry, University of Agriculture, Faisalabad 38040

**Supplementary Table I.- Chemical composition of the experimental diets (as dry matter basis).**

Protein (%)	24			26			28			30		
Energy (kcal/kg)	2400	2700	3000	2400	2700	3000	2400	2700	3000	2400	2700	3000
P/E (mg/kcal)	100.0	88.89	80.00	108.33	96.30	86.67	116.67	103.7	93.33	125.0	111.1	100.0
Diet ingredients (g/kg)	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	D12
Fish meal*	20	20	20	24	24	24	28	28	28	32	32	32
Soybean meal*	9	11	13	10	12	14	13	15	17	14	16	18
Canola meal*	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Sunflower meal*	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Corn gluten 60% *	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14
Wheat bran*	22	20	18	20	18	16	17	15	13	14	12	10
Rice polish*	10	8	6	9	7	5	6	4	2	5	3	1
Wheat flour*	9	7	5	7	5	3	6	4	2	5	3	1
Fish oil*	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Soya oil*	1	5	9	1	5	9	1	5	9	1	5	9
Minerals**	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Vitamins***	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Ascorbic acid	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Citric acid	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Additional chromic oxide 1 gram /100 g. Note: \* Fish meal, soybean meal, canola meal taken from Nishat poultry and fish feed mill (Faisalabad, Pakistan), sunflower meal, corn gluten meal, wheat bran, wheat flour, fish oil, soya oil purchased from Qaderi animal feed (Faisalabad, Pakistan). \*\* Minerals mixture (mg/kg diet) calcium, 155g; phosphorus, 135g; magnesium, 55g; sodium, 45g; Zinc, 3000 mg; manganese, 2000 mg; iron, 1000 mg; copper, 600 mg; cobalt, 40 mg; iodine, 40 mg; potassium, 2000 mg. \*\*\* Vitamins premix (mg / kg diet) vitamin A, 15 MIU; vitamin B<sub>1</sub>, 15000 mg; vitamin K, 34000 mg; vitamin B<sub>12</sub>, 9000 mg; vitamin D, 33 M IU; vitamin E, 6000 IU; vitamin B<sub>6</sub>, 4000 mg; vitamin C, 15000 mg; vitamin B<sub>3</sub>, 25000 mg; vitamin B<sub>2</sub>, 6000 mg; vitamin B<sub>7</sub>, 750 mg; vitamin B<sub>5</sub>, 10000 mg; † Protein to energy ratio in mg protein / kcal energy.

\* Corresponding author: [javed.zoologist@gmail.com](mailto:javed.zoologist@gmail.com)

0030-9923/2022/0001-0063 \$ 9.00/0

Copyright 2022 Zoological Society of Pakistan

**Supplementary Table II.- Proximate and mineral composition (%) of practical diets.**

Protein (%)	24			26			28			30				
	2400	2700	3000	2400	2700	3000	2400	2700	3000	2400	2700	3000		
Energy (kcal/kg)	2400	2700	3000	2400	2700	3000	2400	2700	3000	2400	2700	3000		
P/E (mg/kcal)	100.00	88.89	80.00	108.33	96.30	86.67	113.67	103.70	93.33	125.00	111.1	100.00		
Test diets	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	D12		
Dry matter (%)	91.07±0.01 <sup>b</sup>	91.36±0.01 <sup>ab</sup>	91.68±0.01 <sup>a</sup>	91.05±0.01 <sup>b</sup>	91.34±0.01 <sup>ab</sup>	91.31±0.03 <sup>ab</sup>	91.94±0.01 <sup>b</sup>	91.31±0.01 <sup>ab</sup>	91.64±0.02 <sup>a</sup>	90.89±0.01 <sup>b</sup>	91.34±0.01 <sup>ab</sup>	91.58±0.01 <sup>a</sup>		
Crude protein (%)	24.07±0.01 <sup>i</sup>	24.45±0.01 <sup>i</sup>	24.57±0.05 <sup>h</sup>	25.87±0.01 <sup>g</sup>	26.06±0.01 <sup>f</sup>	26.12±0.02 <sup>f</sup>	28.08±0.02 <sup>e</sup>	28.24±0.02 <sup>d</sup>	28.34±0.02 <sup>c</sup>	29.65±0.01 <sup>b</sup>	29.85±0.01 <sup>a</sup>	29.91±0.01 <sup>a</sup>		
Lipid (%)	11.74±0.01 <sup>i</sup>	15.06±0.01 <sup>e</sup>	18.29±0.05 <sup>a</sup>	11.16±0.01 <sup>i</sup>	14.43±0.01 <sup>e</sup>	17.64±0.04 <sup>b</sup>	10.34±0.01 <sup>k</sup>	13.61±0.08 <sup>f</sup>	16.87±0.01 <sup>e</sup>	9.75±0.05 <sup>i</sup>	13.07±0.03 <sup>g</sup>	12.27±0.01 <sup>d</sup>		
Gross energy (kcal/g)	2.45±0.01 <sup>c</sup>	2.72±0.01 <sup>b</sup>	2.98±0.005 <sup>a</sup>	2.84±0.01 <sup>c</sup>	2.73±0.01 <sup>c</sup>	2.97±0.01 <sup>a</sup>	2.51±0.003 <sup>c</sup>	2.75±0.08 <sup>b</sup>	3.02±0.03 <sup>a</sup>	2.55±0.01 <sup>c</sup>	2.79±0.04 <sup>b</sup>	3.05±0.03 <sup>a</sup>		
Ash (%)	6.75±0.01 <sup>e</sup>	6.56±0.02 <sup>f</sup>	6.37±0.01 <sup>g</sup>	7.03±0.01 <sup>d</sup>	6.83±0.03 <sup>e</sup>	6.61±0.01 <sup>f</sup>	7.43±0.01 <sup>b</sup>	6.96±0.02 <sup>d</sup>	6.83±0.04 <sup>e</sup>	7.59±0.01 <sup>a</sup>	7.22±0.01 <sup>c</sup>	7.07±0.01 <sup>d</sup>		
Calcium (%)	1.28±0.01 <sup>d</sup>	1.23±0.03 <sup>d</sup>	1.29±0.01 <sup>d</sup>	1.43±0.01 <sup>c</sup>	1.44±0.01 <sup>c</sup>	1.44±0.01 <sup>c</sup>	1.65±0.006 <sup>b</sup>	1.66±0.01 <sup>b</sup>	1.68±0.02 <sup>b</sup>	1.85±0.01 <sup>a</sup>	1.86±0.01 <sup>a</sup>	1.86±0.02 <sup>a</sup>		
Phosphorus (%)	0.68±0.004 <sup>d</sup>	0.68±0.002 <sup>d</sup>	0.67±0.005 <sup>d</sup>	0.73±0.003 <sup>c</sup>	0.72±0.003 <sup>c</sup>	0.72±0.002 <sup>c</sup>	0.80±0.001 <sup>b</sup>	0.80±0.001 <sup>b</sup>	0.80±0.004 <sup>b</sup>	0.87±0.01 <sup>a</sup>	0.87±0.001 <sup>a</sup>	0.87±0.001 <sup>a</sup>		
Sodium (%)	0.48±0.001 <sup>a</sup>	0.48±0.001 <sup>a</sup>	0.47±0.001 <sup>a</sup>	0.50±0.001 <sup>a</sup>	0.49±0.001 <sup>a</sup>	0.49±0.001 <sup>a</sup>	0.51±0.001 <sup>a</sup>	0.51±0.001 <sup>a</sup>	0.51±0.001 <sup>a</sup>	0.53±0.001 <sup>a</sup>	0.52±0.001 <sup>a</sup>	0.48±0.04 <sup>a</sup>		
Potassium (%)	0.67±0.009 <sup>f</sup>	0.68±0.011 <sup>ef</sup>	0.69±0.008 <sup>def</sup>	0.68±0.007 <sup>def</sup>	0.69±0.008 <sup>def</sup>	0.70±0.01 <sup>bcdef</sup>	0.72±0.004 <sup>abcd</sup>	0.73±0.010 <sup>abcd</sup>	0.74±0.009 <sup>ab</sup>	0.73±0.01 <sup>abc</sup>	0.74±0.01 <sup>ab</sup>	0.75±0.006 <sup>a</sup>		
Magnesium (%)	0.31±0.003 <sup>a</sup>	0.30±0.001 <sup>bc</sup>	0.29±0.001 <sup>de</sup>	0.31±0.002 <sup>ab</sup>	0.30±0.001 <sup>cd</sup>	0.29±0.001 <sup>cd</sup>	0.30±0.00 <sup>bc</sup>	0.29±0.00 <sup>def</sup>	0.28±0.001 <sup>f</sup>	0.29±0.002 <sup>cd</sup>	0.28±0.001 <sup>ef</sup>	0.27±0.004 <sup>g</sup>		
Iron (%)	1.15±0.004 <sup>f</sup>	1.14±0.001 <sup>f</sup>	1.14±0.001 <sup>f</sup>	1.52±0.003 <sup>ab</sup>	1.52±0.005 <sup>ab</sup>	1.51±0.002 <sup>b</sup>	1.43±0.005 <sup>c</sup>	1.53±0.009 <sup>ab</sup>	1.27±0.005 <sup>e</sup>	1.37±0.005 <sup>d</sup>	1.54±0.01 <sup>a</sup>	1.38±0.006 <sup>d</sup>		
Copper (%)	0.02±0.001 <sup>bc</sup>	0.02±0.001 <sup>d</sup>	0.02±0.001 <sup>bc</sup>	0.02±0.001 <sup>cd</sup>	0.02±0.001 <sup>b</sup>	0.02±0.001 <sup>bc</sup>	0.02±0.001 <sup>b</sup>	0.03±0.001 <sup>a</sup>	0.02±0.001 <sup>cd</sup>	0.02±0.001 <sup>bc</sup>	0.02±0.001 <sup>b</sup>	0.02±0.001 <sup>bc</sup>		
Manganese (%)	0.29±0.001 <sup>a</sup>	0.27±0.003 <sup>a</sup>	0.24±0.002 <sup>a</sup>	0.30±0.001 <sup>a</sup>	0.29±0.004 <sup>a</sup>	0.26±0.005 <sup>a</sup>	0.36±0.001 <sup>a</sup>	0.34±0.002 <sup>a</sup>	0.30±0.001 <sup>a</sup>	0.33±0.001 <sup>a</sup>	0.33±0.001 <sup>a</sup>	0.32±0.001 <sup>a</sup>		
Zinc (%)	0.28±0.006 <sup>b</sup>	0.27±0.001 <sup>b</sup>	0.27±0.001 <sup>b</sup>	0.27±0.001 <sup>b</sup>	0.27±0.001 <sup>b</sup>	0.27±0.001 <sup>b</sup>	0.28±0.001 <sup>b</sup>	0.29±0.001 <sup>a</sup>	0.29±0.002 <sup>a</sup>	0.29±0.001 <sup>a</sup>	0.29±0.001 <sup>a</sup>	0.29±0.001 <sup>a</sup>		
<b>Analysis of Variance (P value)</b>														
ANOVA	DM (%)	CP (%)	Lipid (%)	Gross energy (%)	Ash (%)	Ca (%)	P (%)	Na (%)	K (%)	Mg (%)	Cu (%)	Mn (%)	Zn (%)	Fe (%)
Protein	<0.000	<0.008	<0.000	<0.000	<0.005	<0.000	<0.011	<0.001	>0.608	<0.000	<0.013	<0.000	<0.003	<0.000
Energy	>0.907	>0.71	<0.000	<0.003	<0.000	>0.739	<0.006	>0.326	<0.023	>0.584	>0.075	<0.001	<0.049	<0.025
Protein × Energy	>0.23	<0.005	<0.031	<0.000	>0.143	<0.002	<0.000	<0.004	>0.111	<0.033	<0.005	<0.001	<0.000	>0.346
P/E	>0.12	<0.004	<0.000	<0.000	<0.004	<0.000	<0.001	<0.004	>0.083	>0.172	<0.002	<0.000	<0.000	<0.000
<b>Pooled Values</b>														
24% protein	65.40 <sup>ab</sup>	82.97 <sup>b</sup>	88.99 <sup>ab</sup>	75.37 <sup>b</sup>	88.99 <sup>ab</sup>	80.15 <sup>b</sup>	77.85 <sup>b</sup>	78.85 <sup>a</sup>	88.47 <sup>a</sup>	90.62 <sup>ab</sup>	78.73 <sup>b</sup>	78.49 <sup>b</sup>	69.19 <sup>ab</sup>	84.00 <sup>b</sup>
26% protein	67.47 <sup>a</sup>	86.43 <sup>a</sup>	89.92 <sup>a</sup>	81.29 <sup>a</sup>	89.92 <sup>a</sup>	85.74 <sup>b</sup>	80.16 <sup>ab</sup>	78.08 <sup>a</sup>	89.13 <sup>a</sup>	91.33 <sup>a</sup>	87.30 <sup>a</sup>	81.27 <sup>a</sup>	72.58 <sup>a</sup>	82.52 <sup>a</sup>
28% protein	61.90 <sup>bc</sup>	84.76 <sup>ab</sup>	87.21 <sup>b</sup>	76.01 <sup>b</sup>	87.21 <sup>b</sup>	85.32 <sup>a</sup>	78.43 <sup>ab</sup>	68.10 <sup>b</sup>	88.93 <sup>a</sup>	89.72 <sup>bc</sup>	79.28 <sup>b</sup>	83.30 <sup>a</sup>	69.52 <sup>ab</sup>	71.32 <sup>b</sup>
30% protein	60.43 <sup>c</sup>	85.34 <sup>ab</sup>	84.69 <sup>c</sup>	81.74 <sup>a</sup>	84.69 <sup>c</sup>	82.53 <sup>b</sup>	80.75 <sup>a</sup>	70.76 <sup>b</sup>	89.81 <sup>a</sup>	88.98 <sup>c</sup>	78.21 <sup>b</sup>	82.18 <sup>a</sup>	66.99 <sup>b</sup>	80.51 <sup>a</sup>
240 kcal DE	63.68 <sup>a</sup>	85.10 <sup>a</sup>	84.11 <sup>c</sup>	77.29 <sup>b</sup>	84.11 <sup>c</sup>	83.10 <sup>a</sup>	78.10 <sup>b</sup>	73.93 <sup>a</sup>	87.96 <sup>b</sup>	90.22 <sup>a</sup>	83.91 <sup>a</sup>	82.49 <sup>a</sup>	68.21 <sup>b</sup>	77.64 <sup>b</sup>
270 kcal DE	64.11 <sup>a</sup>	84.49 <sup>a</sup>	88.51 <sup>b</sup>	78.20 <sup>b</sup>	88.51 <sup>b</sup>	83.47 <sup>a</sup>	78.93 <sup>ab</sup>	72.65 <sup>a</sup>	88.82 <sup>ab</sup>	90.32 <sup>a</sup>	80.85 <sup>a</sup>	81.74 <sup>a</sup>	69.37 <sup>ab</sup>	79.81 <sup>ab</sup>
300 kcal DE	63.61 <sup>a</sup>	85.04 <sup>a</sup>	90.50 <sup>a</sup>	80.32 <sup>a</sup>	90.50 <sup>a</sup>	83.74 <sup>a</sup>	80.86 <sup>a</sup>	76.02 <sup>a</sup>	90.48 <sup>a</sup>	89.95 <sup>a</sup>	77.87 <sup>a</sup>	79.71 <sup>b</sup>	71.15 <sup>a</sup>	81.31 <sup>a</sup>

Data are mean of triplicate. Means same column sharing a same superscript letter are not significantly different by Tukey's test ( $p > 0.05$ ).

**Supplementary Table III.- Analyzed nutrient composition (%) of faces of practical diets fed to *L. rohita* fingerlings.**

Diet No. (P/E) ratio	Dry matter (%)	Crude protein (%)	Lipid (%)	Ash (%)	Gross energy(kcal/g)
D1 (24/2400)	91.07±0.006 <sup>bc</sup>	10.52±0.006 <sup>e</sup>	4.92±0.003 <sup>c</sup>	3.10±0.005 <sup>c</sup>	1.57±0.005 <sup>a</sup>
D2(24/2700)	91.47±0.003 <sup>ab</sup>	12.72±0.018 <sup>d</sup>	5.31±0.014 <sup>a</sup>	2.79±0.006 <sup>e</sup>	2.05±0.012 <sup>b</sup>
D3(24/3000)	91.47±0.013 <sup>ab</sup>	12.83±0.005 <sup>d</sup>	4.87±0.015 <sup>c</sup>	3.04±0.025 <sup>cd</sup>	2.41±0.008 <sup>a</sup>
D4(26/2400)	91.16±0.015 <sup>abc</sup>	11.82±0.006 <sup>ef</sup>	4.37±0.028 <sup>e</sup>	2.71±0.014 <sup>ef</sup>	1.58±0.013 <sup>de</sup>
D5(26/2700)	91.44±0.011 <sup>ab</sup>	14.52±0.017 <sup>b</sup>	4.96±0.023 <sup>c</sup>	2.57±0.023 <sup>e</sup>	1.89±0.030 <sup>c</sup>
D6(26/3000)	91.39±0.343 <sup>ab</sup>	13.50±0.009 <sup>c</sup>	5.18±0.053 <sup>b</sup>	3.47±0.046 <sup>e</sup>	1.36±0.016 <sup>f</sup>
D7(28/2400)	90.74±0.017 <sup>c</sup>	11.51±0.056 <sup>f</sup>	4.85±0.013 <sup>cd</sup>	2.64±0.006 <sup>de</sup>	2.01±0.029 <sup>b</sup>
D8(28/2700)	91.43±0.012 <sup>ab</sup>	15.01±0.264 <sup>a</sup>	4.74±0.014 <sup>d</sup>	2.98±0.017 <sup>d</sup>	1.61±0.036 <sup>de</sup>
D9(28/3000)	91.42±0.014 <sup>ab</sup>	9.88±0.0321 <sup>h</sup>	3.91±0.012 <sup>f</sup>	3.38±0.017 <sup>ab</sup>	1.68±0.017 <sup>d</sup>
D10(30/2400)	91.06±0.006 <sup>bc</sup>	7.48±0.0338 <sup>i</sup>	5.20±0.016 <sup>ab</sup>	3.31±0.005 <sup>b</sup>	1.32±0.005 <sup>fg</sup>
D11(30/2700)	91.33±0.006 <sup>ab</sup>	8.72±0.033 <sup>i</sup>	4.96±0.012 <sup>c</sup>	3.45±0.017 <sup>a</sup>	1.58±0.017 <sup>de</sup>
D12(30/3000)	91.58±0.023 <sup>a</sup>	12.13±0.051 <sup>e</sup>	5.12±0.005	3.30±0.014 <sup>b</sup>	1.26±0.014 <sup>e</sup>
<b>PSE</b>					
<b>Two-way ANOVA</b>					
Protein	> 0.27	< 0.000	< 0.000	< 0.000	< 0.000
Energy	< 0.00	< 0.000	< 0.000	< 0.000	< 0.000
Protein × Energy	> 0.19	< 0.000	< 0.000	< 0.000	< 0.000
<b>Pooled values</b>					
24% protein	91.34 <sup>a</sup>	12.02 <sup>a</sup>	5.03 <sup>a</sup>	2.97 <sup>b</sup>	2.01 <sup>a</sup>
26% protein	91.33 <sup>a</sup>	12.28 <sup>a</sup>	4.83 <sup>ab</sup>	2.92 <sup>b</sup>	1.61 <sup>bc</sup>
28% protein	91.19 <sup>a</sup>	12.13 <sup>a</sup>	4.50 <sup>b</sup>	3.01 <sup>b</sup>	1.76 <sup>ab</sup>
30% protein	91.32 <sup>a</sup>	9.44 <sup>b</sup>	5.09 <sup>a</sup>	3.35 <sup>a</sup>	1.38 <sup>c</sup>
240 kcal DE	91.01 <sup>b</sup>	10.33 <sup>b</sup>	4.84 <sup>a</sup>	2.94 <sup>b</sup>	1.62 <sup>a</sup>
270 kcal DE	91.42 <sup>a</sup>	12.74 <sup>a</sup>	4.99 <sup>a</sup>	2.95 <sup>b</sup>	1.78 <sup>a</sup>
300 kcal DE	91.47 <sup>a</sup>	12.08 <sup>a</sup>	4.77 <sup>a</sup>	3.30 <sup>a</sup>	1.68 <sup>a</sup>

Data are mean of triplicate. Means same column sharing a same superscript letter are not significantly different by Tukey s test (p > 0.05).

**Supplementary Table IV.- Analyzed minerals composition (%) of faces of practical diets fed to *L. rohita* fingerlings.**

Diet No. (P/E)	Na (%)	K (%)	P (%)	Ca (%)	Mg (%)	Zn (%)	Cu (%)	Mn (%)	Fe (%)
D1(24/2400)	0.35±0.006 <sup>a</sup>	0.27±0.003 <sup>a</sup>	0.55±0.005 <sup>a</sup>	0.65±0.006 <sup>b</sup>	0.08±0.0006 <sup>a</sup>	0.22±0.005 <sup>ab</sup>	0.01±0.0004 <sup>a</sup>	0.22±0.006 <sup>ab</sup>	0.64±0.056 <sup>ab</sup>
D2 (24/2700)	0.24±0.026 <sup>a</sup>	0.24±0.039 <sup>a</sup>	0.44±0.033 <sup>ab</sup>	0.75±0.049 <sup>ab</sup>	0.08±0.0003 <sup>ab</sup>	0.19±0.035 <sup>b</sup>	0.01±0.003 <sup>a</sup>	0.19±0.000 <sup>ab</sup>	0.32±0.055 <sup>b</sup>
D3 (24/3000)	0.30±0.060 <sup>a</sup>	0.18±0.010 <sup>a</sup>	0.36±0.006 <sup>b</sup>	0.87±0.050 <sup>ab</sup>	0.08±0.0003 <sup>ab</sup>	0.24±0.029 <sup>ab</sup>	0.01±0.0002 <sup>a</sup>	0.20±0.038 <sup>ab</sup>	0.62±0.113 <sup>ab</sup>
D4 (26/2400)	0.45±0.055 <sup>a</sup>	0.29±0.055 <sup>a</sup>	0.52±0.038 <sup>ab</sup>	0.73±0.065 <sup>ab</sup>	0.08±0.0009 <sup>ab</sup>	0.26±0.001 <sup>ab</sup>	0.01±0.0003 <sup>a</sup>	0.29±0.029 <sup>a</sup>	0.63±0.093 <sup>ab</sup>
D5 (26/2700)	0.40±0.074 <sup>a</sup>	0.25±0.004 <sup>a</sup>	0.49±0.035 <sup>ab</sup>	0.65±0.078 <sup>b</sup>	0.08±0.0003 <sup>ab</sup>	0.23±0.012 <sup>ab</sup>	0.01±0.0003 <sup>a</sup>	0.19±0.034 <sup>b</sup>	0.74±0.060 <sup>a</sup>
D6 (26/3000)	0.21±0.029 <sup>a</sup>	0.19±0.009 <sup>a</sup>	0.46±0.072 <sup>ab</sup>	0.88±0.052 <sup>ab</sup>	0.08±0.0003 <sup>ab</sup>	0.22±0.005 <sup>ab</sup>	0.01±0.0004 <sup>a</sup>	0.21±0.028 <sup>ab</sup>	0.64±0.064 <sup>ab</sup>
D7 (28/2400)	0.45±0.013 <sup>a</sup>	0.21±0.007 <sup>a</sup>	0.44±0.022 <sup>ab</sup>	0.69±0.037 <sup>b</sup>	0.08±0.0003 <sup>ab</sup>	0.26±0.006 <sup>ab</sup>	0.01±0.0001 <sup>a</sup>	0.17±0.001 <sup>ab</sup>	0.86±0.033 <sup>a</sup>
D8 (28/2700)	0.44±0.125 <sup>a</sup>	0.21±0.024 <sup>a</sup>	0.43±0.023 <sup>ab</sup>	0.74±0.057 <sup>ab</sup>	0.08±0.0003 <sup>ab</sup>	0.22±0.007 <sup>ab</sup>	0.01±0.0003 <sup>a</sup>	0.20±0.006 <sup>b</sup>	0.75±0.115 <sup>ab</sup>
D9 (28/3000)	0.40±0.046 <sup>a</sup>	0.20±0.007 <sup>a</sup>	0.47±0.007 <sup>ab</sup>	0.68±0.029 <sup>b</sup>	0.08±0.003 <sup>ab</sup>	0.26±0.003 <sup>ab</sup>	0.02±0.0003 <sup>a</sup>	0.13±0.022 <sup>b</sup>	0.70±0.118 <sup>ab</sup>
D10(30/2400)	0.27±0.060 <sup>a</sup>	0.19±0.001 <sup>a</sup>	0.41±0.008 <sup>ab</sup>	0.97±0.006 <sup>a</sup>	0.08±0.0003 <sup>ab</sup>	0.28±0.005 <sup>a</sup>	0.01±0.0006 <sup>a</sup>	0.17±0.005 <sup>b</sup>	0.87±0.065 <sup>a</sup>
D11(30/2700)	0.44±0.035 <sup>a</sup>	0.21±0.003 <sup>a</sup>	0.45±0.003 <sup>ab</sup>	0.84±0.034 <sup>ab</sup>	0.08±0.0003 <sup>b</sup>	0.26±0.006 <sup>ab</sup>	0.01±0.002 <sup>a</sup>	0.18±0.009 <sup>b</sup>	0.55±0.004 <sup>ab</sup>
D12(30/3000)	0.25±0.030 <sup>a</sup>	0.19±0.002 <sup>a</sup>	0.34±0.079 <sup>b</sup>	0.79±0.052 <sup>ab</sup>	0.08±0.003 <sup>ab</sup>	0.26±0.004 <sup>ab</sup>	0.01±0.005 <sup>a</sup>	0.16±0.006 <sup>b</sup>	0.76±0.051 <sup>a</sup>
<b>PSE</b>									
<b>Two-way ANOVA</b>									
Protein	< 0.04	< 0.04	< 0.04	< 0.003	< 0.03	< 0.004	< 0.02	< 0.001	< 0.004
Energy	< 0.03	< 0.01	< 0.03	> 0.19	< 0.01	< 0.03	> 0.31	< 0.03	< 0.02
Protein× Energy	> 0.08	< 0.02	> 0.09	< 0.003	> 0.52	> 0.36	> 0.10	> 0.05	> 0.05
<b>Pooled values</b>									
24% protein	0.30 <sup>b</sup>	0.23 <sup>ab</sup>	0.45 <sup>ab</sup>	0.76 <sup>b</sup>	0.08 <sup>a</sup>	0.22 <sup>b</sup>	0.01 <sup>ab</sup>	0.20 <sup>ab</sup>	0.53 <sup>b</sup>
26% protein	0.35 <sup>ab</sup>	0.24 <sup>a</sup>	0.49 <sup>a</sup>	0.75 <sup>b</sup>	0.08 <sup>ab</sup>	0.24 <sup>ab</sup>	0.01 <sup>b</sup>	0.23 <sup>a</sup>	0.67 <sup>ab</sup>
28% protein	0.43 <sup>a</sup>	0.21 <sup>ab</sup>	0.45 <sup>ab</sup>	0.70 <sup>b</sup>	0.08 <sup>ab</sup>	0.25 <sup>ab</sup>	0.01 <sup>a</sup>	0.16 <sup>b</sup>	0.77 <sup>a</sup>
30 % protein	0.32 <sup>ab</sup>	0.19 <sup>b</sup>	0.40 <sup>b</sup>	0.87 <sup>a</sup>	0.08 <sup>b</sup>	0.26 <sup>a</sup>	0.01 <sup>ab</sup>	0.17 <sup>b</sup>	0.73 <sup>a</sup>
2400 kcal DE	0.38 <sup>a</sup>	0.24 <sup>a</sup>	0.48 <sup>a</sup>	0.76 <sup>a</sup>	0.08 <sup>a</sup>	0.25 <sup>a</sup>	0.01 <sup>a</sup>	0.75 <sup>a</sup>	0.75 <sup>a</sup>
2700 kcal DE	0.38 <sup>a</sup>	0.23 <sup>ab</sup>	0.45 <sup>ab</sup>	0.74 <sup>a</sup>	0.08 <sup>b</sup>	0.23 <sup>b</sup>	0.01 <sup>a</sup>	0.59 <sup>ab</sup>	0.59 <sup>b</sup>
3000 kcal DE	0.29 <sup>a</sup>	0.19 <sup>b</sup>	0.41 <sup>b</sup>	0.80 <sup>a</sup>	0.08 <sup>b</sup>	0.24 <sup>ab</sup>	0.01 <sup>a</sup>	0.68 <sup>b</sup>	0.68 <sup>ab</sup>

Data are mean of triplicate. Means same column sharing a same superscript letter are not significantly different by Tukey s test (p > 0.05).