

鱼类对晶体氨基酸利用的研究进展

冷向军 李小勤 陈丙爱 王冠

(上海海洋大学省部共建水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 200090)

RECENT ADVANCE OF UTILIZING CRYSTALLINE AMINO ACIDS BY FISH

LENG Xiang-Jun, LI Xiao-Qin, CHEN Bing-Ai and WANG Guan

(Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Shanghai Ocean University, Ministry of Education, Shanghai 200090)

关键词: 鱼类; 晶体氨基酸; 利用

Key words: Fish; Crystalline amino acids; Utilization

中图分类号: S963.73 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2009)01-0119-05

随着鱼粉供应的紧张和价格的上扬, 有关植物蛋白源取代鱼粉的研究也逐渐增加, 与鱼粉等优质动物蛋白源相比, 植物蛋白源通常表现为某些必需氨基酸缺乏或不足, 如赖氨酸、蛋氨酸等, 因而向饲料中添加晶体氨基酸成为解决这一问题的有效途径。但是在水产饲料中添加晶体氨基酸的作用效果, 目前尚无定论, 研究和生产中对氨基酸的使用也存在许多模糊认识。本文就水产饲料中氨基酸的研究现状作一综述, 为晶体氨基酸在生产中的合理使用提供指导, 为鱼类的氨基酸营养研究提供思路。

1 添加氨基酸的理论基础

蛋白质的营养主要是氨基酸的营养, 动物对各种必需氨基酸的需要量之间存在一定的比例关系, 这种氨基酸组成比例完全满足动物需要的蛋白质称为理想蛋白。运用理想蛋白的核心问题是以第一限制性氨基酸为标准确定饲料蛋白质和氨基酸的水平。在动物养殖生产中, 赖氨酸、蛋氨酸通常是第一或第二限制性氨基酸。基于理想蛋白的理论, 添加晶体氨基酸以平衡饲料氨基酸组成、降低粗蛋白水平已在畜禽养殖生产中得到了广泛应用。研究和生产表明, 添加 0.1%—0.3% 晶体氨基酸, 可降低饲料粗蛋白水平 2%—4%, 大大降低了生产成本, 减少了排泄物中的氮含量, 取得了巨大的经济效益和社会效益。

2 水产饲料中添加氨基酸的作用效果

从理论上讲, 水产饲料中添加晶体氨基酸也可取得显著

的改善效果, 但在实际的研究和生产中, 水产饲料中添加氨基酸的效果并不理想, 并因种类的不同而不同, 甚至存在一些相反的报道。比较一致的看法是, 在鲢鳙鱼类饲料中添加晶体氨基酸较为有效, 而在虾类及无胃的鲤科鱼类饲料中添加晶体氨基酸则无效或效果不明显^[1]。

2.1 国外研究概况

国外关于鱼类饲料中添加晶体氨基酸的研究已有三十余年历史, 由于养殖品种的不同, 国外的研究主要集中在虹鳟、斑点叉尾鮰和鲤鱼方面。

对于以虹鳟为代表的鲢鳙鱼类, 目前普遍的看法是在其饲料中添加晶体氨基酸较为有效。在鱼粉含量仅 15.0% 的饲料中添加 0.4%—1.0% 晶体赖氨酸, 虹鳟的生长达到了与 32.1% 高鱼粉对照组基本一致的水平^[2]; 在蛋能比较低的饲料中 (16g DCP/MJ DE) 中补充晶体氨基酸, 可显著提高虹鳟的饲料效率和蛋白质效率, 降低 N 的水中排泄^[3]; Marku 的试验则证明了赖氨酸的硫酸盐与盐酸盐对虹鳟具有同等的有效性^[4]。

一些研究表明, 海水鱼类可有效利用饲料中的晶体氨基酸。大菱鲆幼鱼饲料中 19% 的完整蛋白可为晶体氨基酸代替而不会对鱼体生长产生不利影响^[5]; 对真鲷^[6]、五条鲈^[7]、尖吻鲈^[8]的研究也表明, 饲料中补充晶体赖氨酸、蛋氨酸, 可有效地促进其生长。

而在斑点叉尾鮰和鲤鱼方面的研究则结论并不一致: 在以花生粕、棉粕为主要蛋白源的饲料中添加晶体赖氨酸, 可有效改善斑点叉尾鮰生长性能^[9,10]; Dannie^[11]则进一步比较了斑点叉尾鮰对晶体赖氨酸和蛋白态赖氨酸的可利用性, 发现斑点叉尾鮰对蛋白态赖氨酸的利用率更高。但在

收稿日期: 2007-10-16; 修订日期: 2008-09-12

基金项目: 上海市重点学科建设项目 (Y1101); 上海市教委发展基金 (03-122) 资助

通讯作者: 冷向军 (1972—), 男, 汉族, 博士, 教授, 主要从事动物营养与饲料学研究。E-mail: xjleng@shfu.edu.cn

Meng, *et al.*^[12]、Wilson, *et al.*^[13]的试验中,饲料中添加晶体氨基酸对斑点叉尾鮰的生长并无改善;同样,在鲤鱼的研究也存在相反报道^[14-16]。

可见,即便是在国外,对于鱼类饲料中添加晶体氨基酸的作用效果,除鲑鳟鱼及海水鱼类外,仍未形成统一认识。

2.2 国内研究概况

在我国,养殖最为普遍的是鲤科鱼类,其中,草鱼、鲤鱼、鲫鱼在2004年的养殖产量分别达到369.84、236.68和194.58万吨^[17];就水产饲料的种类而言,以这3种鱼的饲料最为普遍。目前,国内有关水产饲料中晶体氨基酸使用的研究报道,也主要集中在以这3种鱼为代表的无胃鲤科鱼类方面。

2.2.1 添加晶体氨基酸基本无效的报道

一些研究表明,在饲料中添加晶体氨基酸对鱼类的生长基本无效。在粗蛋白24.8%、赖氨酸1.13%的饲料中添加0.4%晶体赖氨酸,日投饲2次,饲养平均体重为7.27g的草鱼种9周,草鱼的增重率、饲料系数无任何改善^[18];以菜粕、棉粕为主要原料的饲料中(粗蛋白32.2%,赖氨酸1.25%),添加晶体异亮氨酸0.21%或0.42%,对鲫鱼生长无改善^[19];冷向军^[20]在低赖氨酸(1.50%)、低蛋氨酸(0.49%)基础饲料中补充0.3%赖氨酸、0.1%蛋氨酸,在日投饲3次条件下,异育银鲫经28d饲养后的增重率分别为57.3%、61.3%,添加合成氨基酸尽管在数值上提高了增重率,但统计检验并无显著差异($p > 0.10$),表明添加晶体氨基酸对异育银鲫生长并无促进作用。

2.2.2 添加晶体氨基酸有效的报道

也有一些研究表明,在饲料中添加晶体氨基酸对鱼类具有促生长作用。蒋艾青等^[21]在鱼粉(35%)、豆饼(47.5%)型饲料中添加0.2%组氨酸(第一限制性氨基酸),在日投饲4次条件下,提高青鱼增重率11.2%,饲料系数降低0.24;在以鱼粉为主要蛋白源的饲料中添加晶体异亮氨酸0.42%,提高了鲫鱼增重率10%^[19];张满隆等的一系列试验则表明,在饲料中分别添加0.25%赖氨酸、0.2%蛋氨酸,可提高鲤鱼增重率19%、14.4%;在鲫鱼饲料中添加0.25%蛋氨酸,可降低饲料系数0.37,显著促进鲫鱼的生长^[22-24];朱世成等^[25]、刘长忠等^[26]也报道了饲料中添加晶体赖氨酸、蛋氨酸可改善鲫鱼的生长性能。

这些研究表明,即便是在无胃的鲤科鱼类,关于晶体氨基酸的作用效果仍然存在不同看法,也表明,影响晶体氨基酸作的效果的因素是复杂而多方面的,如基础饲料的组成,其中的必需氨基酸是否缺乏,是否平衡?投饲频率为多少?是否经过严格的统计检验等。

3 水产饲料中添加晶体氨基酸的作用效果不佳的原因

3.1 氨基酸的酸碱性及适口性

在早期关于氨基酸需要量的研究中,多采用纯化日粮添加晶体氨基酸的混合物,对受试氨基酸设置不同的添加浓度,根据生长反应,从而得出该种氨基酸的需要量。但是研

究者发现,在此类试验中,对于鲤鱼、斑点叉尾鮰^[27],只有以氢氧化钠中和氨基酸混合物的酸性后,该类试验才可正常进行;同时还发现,以晶体氨基酸作为唯一蛋白源的试验鱼,其生长次于饲料中包含完整蛋白的对照鱼。对于这种现象的解释,一种理论认为,氨基酸混合物进入鱼体消化道后,改变了消化道的酸碱性,影响了营养物质的消化吸收,这对于无胃的鲤鱼(调节肠道pH的能力较弱)尤为明显;另一种理论认为,氨基酸混合物的酸碱性无疑会对饲料的适口性产生影响,调节其pH可改善其适口性。

晶体氨基酸对饲料酸碱性和适口性的影响,在纯化日粮中表现较为明显,但在实用饲料中,由于通常只补充1—2种限制性氨基酸,添加量甚微,一般为0.1%—0.3%,不会对饲料酸碱性和适口性产生显著影响,因而不会是影响水产饲料中添加晶体氨基酸作用效果不佳的主要原因。

3.2 氨基酸的水中溶失

氨基酸均具有一定的水中溶解性,因而以晶体形式添加到饲料中,在投入水中到为鱼类所摄食的这段时间内,存在水中溶失的可能。刘永坚等^[18]在实用基础饲料中分别添加0.4%晶体赖氨酸或包膜赖氨酸,取10g饲料置于100mL水中10min,包膜氨基酸组的赖氨酸溶失率为 $(4.81 \pm 0.8)\%$,而晶体氨基酸组的赖氨酸溶失率高达 $(13.22 \pm 3.5)\%$;Wilson, *et al.*在斑点叉尾鮰^[13]、Chhom, *et al.*在范氏对虾^[28]的试验中均观察到试验饲料中结晶氨基酸溶失于水中而导致生长差的现象。

由此可见,晶体氨基酸的水中溶失是客观存在的。对于抱食咀嚼的虾蟹类、摄食缓慢的鱼类,饲料中添加的晶体氨基酸在水中的溶失更为显著;再考虑到生产中养殖水体中的水流、搅动等因素,更加剧了晶体氨基酸的溶失。

3.3 氨基酸的吸收不同步

对于水产饲料中添加晶体氨基酸的作用效果不佳问题,目前一种普遍的看法认为:晶体氨基酸的吸收速度较快,而饲料中的蛋白质需分解为氨基酸或小肽后才可被吸收,造成二者吸收的不同步,由于氨基酸合成蛋白质必需按一定比例方可进行,且水生动物储存游离氨基酸的能力甚低,导致先吸收的晶体氨基酸不能用于合成蛋白质(从蛋白质来源的氨基酸尚未被吸收)而直接排泄或代谢;此外,添加的游离氨基酸还影响其他必需氨基酸吸收的同步化,使得氨基酸间得不到平衡互补,从而影响游离氨基酸乃至整个蛋白质的利用率。

冷向军等^[29]试验表明,摄食基础饲料的鲫鱼血液氨基酸水平在摄食后3—5h出现吸收峰高值,而添加0.2%晶体赖氨酸和0.08%晶体蛋氨酸后,氨基酸的吸收峰值提前;在刘永坚等^[18]的试验中,草鱼摄食纯化饲料后的血液必需氨基酸水平在3—5h达到高峰,而实用饲料组在1—3h达到高峰,补充结晶赖氨酸后,吸收不同步;斑点叉尾鮰摄食含晶体赖氨酸的饲料后,其胃食糜中赖氨酸与指示剂(三氧化二铬)之比随食后时间的延长而减少,而摄食含蛋白态赖氨酸的饲料后,该比值不随时间延长而改变,表明晶体赖氨酸具有更高的吸收速度和更快的胃通过时间^[30]。

氨基酸被不同步吸收入体内后,对于不符合比例要求的氨基酸,其命运通常是通过鳃、肾排泄或被氧化分解。Murai, *et al.*^[16]发现,鲤鱼摄食以晶体氨基酸作为蛋白源的饲料后,24h内有36%的氨基酸通过鳃或肾排入养殖水体;摄食晶体氨基酸和酪蛋白混合物作为蛋白源的饲料,或以酪蛋白、明胶为蛋白源的饲料,其排入水体中的氨基酸分别为12.8%、1%;Liou^[31]的研究也表明了斑节对虾摄食以晶体氨基酸或酪蛋白为蛋白源的饲料24h后尿中氨基酸排泄量的巨大差异,前者的尿中氨基酸损失量平均为6%,其中组氨酸达17.6%,是酪蛋白饲料组的362.4倍。

由上可见,由于氨基酸吸收不同步造成的氨基酸浪费(未用于构建机体组织)是巨大的,这是水产饲料中添加晶体氨基酸效果不佳的重要原因。

3.4 其他原因

晶体氨基酸的作用效果还与其基础饲料的营养组成有着密切关系,特别是氨基酸是否平衡,所补充的氨基酸是否是第一限制性氨基酸。涂永峰等^[19]在以菜粕、棉粕为主要原料的基础饲料中添加晶体异亮氨酸0.21%、0.42%,对鲫鱼生长无改善;但在以血粉为主要蛋白源的饲料中添加晶体异亮氨酸0.42%,鲫鱼增重率提高了10%。分析其原因,以菜粕、棉粕为主要原料的饲料中通常赖氨酸为第一限制性氨基酸,而血粉中异亮氨酸严重缺乏。所以,原料组成不同,第一限制性氨基酸不同,因而补充晶体氨基酸的效果也不同。

此外,添加晶体氨基酸的作用效果还与鱼的种类及其消化道结构特点有一定关系。本实验室比较了鲤鱼、罗非鱼对饲料中添加晶体氨基酸的利用效果,发现添加晶体氨基酸对鲤鱼的生长性能基本无改善,但显著促进了罗非鱼的生长;二者摄食后的血清游离氨基酸浓度变化也表现出不同的特点。出现这种差异的一个重要事实是鲤鱼属无胃鱼类,而罗非鱼则具有一个较为发达的胃。胃的存在,对食物具有储存和向肠道缓慢释放的作用,因而在一定程度上缓解了晶体氨基酸与蛋白态氨基酸吸收不同步的矛盾^[32]。目前还缺乏对更多种类、具不同消化道结构特点鱼类对晶体氨基酸利用的比较研究,因而还难以确定晶体氨基酸的作用效果与鱼消化道结构特点的必然关系,这尚有待于进一步研究。

4 改善水产饲料中添加晶体氨基酸作用效果的途径

从氨基酸作用效果不佳的原因来看,主要是由氨基酸的吸收速度过快导致的吸收不同步和水中溶失造成的。针对这两种主要原因,可以采用提高投饲频率和对氨基酸进行缓释处理等方法予以解决。

4.1 提高投饲频率

分析前人关于水产饲料中晶体氨基酸作用效果的报道,可以发现,投饲频率是影响其作用效果的重要因素。在刘永坚等^[18]、冷向军等^[20]、陈丙爱等^[33]关于晶体氨基酸添加基本无效的报道中,投饲频率为2—3次/日;在蒋艾青等^[21]、涂永峰等^[19]、张满隆等^[22—24]、高玉杰^[34]关于晶体氨基酸添

加有效的报道中,投饲频率均为4次/日。

投饲频率的提高,本身即有利于改善鱼类生长性能,这在Zhou, *et al.*试验中已有报道^[35],但在该试验中,投饲频率的提高,伴随着采食量的增加,这是异育银鲫生长性能改善的重要因素(可能不是唯一因素)。为此,冷向军^[20]考察了在采食量保持一致的情况下,投饲频率对晶体氨基酸作用效果的影响,在日投饲频率为2次/日、3次/日的条件下,在低蛋白(32.3%)、低赖氨酸(1.5%)、低蛋氨酸(0.49%)饲料中补充晶体赖氨酸0.3%、蛋氨酸0.1%对异育银鲫的生长并无改善作用,但当投饲频率增加到4次/日后,异育银鲫的生长得到显著改善,增重率提高12.5% ($p < 0.05$)。提高投饲频率,缩短投饲间隔后,可以使前次投饲时所产生的血液氨基酸依然保持在一个较高的水平,后一次投饲产生的血液氨基酸峰值可与前次产生一定程度的叠加,使晶体氨基酸与其他来源于饲料蛋白态的氨基酸产生一定互补,从而改善晶体氨基酸的作用效果。

4.2 氨基酸的缓释处理

4.2.1 氨基酸缓释处理的方法

为减少晶体氨基酸在水中的溶失,延缓晶体氨基酸在肠道中的吸收速度,可对晶体氨基酸进行缓释处理,这是一种将限制性氨基酸包膜或微胶囊化的技术,采用成膜材料把固体或液体包覆形成微小粒子,使被包被物质缓慢释放。传统的微胶囊制备方法从原理上大致可分为化学方法、物理方法和物理化学方法三类。化学方法建立在化学反应的基础上,主要利用单体小分子发生聚合反应生成高分子成膜材料并将囊心包覆,主要有界面聚合、原位聚合等方法;根据物理化学原理制备微胶囊的技术包括水相分离法(又分为复合凝聚法和简单凝聚法)、油相分离法、熔化分散冷凝法等;利用物理机械的方法则包括锅包法、喷雾法、包结络合法等。目前,微胶囊的制备应用已在医药、食品及饲料工业(如包被维生素等)中得到了较为广泛的应用,但微胶囊氨基酸和包被氨基酸在水产饲料中的研究、应用则不多。

4.2.2 缓释处理氨基酸的作用效果

刘永坚等^[18]在实用饲料中分别添加0.4%晶体氨基酸和包膜赖氨酸,10min后测定赖氨酸的水中溶失率,包膜赖氨酸溶失率为 $(4.81 \pm 0.8)\%$,而晶体赖氨酸的溶失率高达 $(13.22 \pm 3.5)\%$;王冠^[36]分别以蛋白质、脂肪、碳水化合物包膜赖氨酸、蛋氨酸,其水中溶失率仅相当于晶体氨基酸的23.8%—37.1%,其中以硬化油脂包被氨基酸的水中溶失率较低;将晶体或包膜赖氨酸、蛋氨酸按1.45%、1.21%添加到基础饲料后,在水中浸泡15min条件下,赖氨酸、蛋氨酸的水中溶失率分别为138、120mg/100g饲料(晶体氨基酸组)和90、81mg/100g饲料(包膜氨基酸组)^[37]。可见,晶体氨基酸经包膜处理后,其水中溶失率大为减少。

氨基酸经包膜后,在消化道中需先经过包膜材料的崩解才可被吸收,因而其吸收速度降低,可在一定程度上缓解游离氨基酸与蛋白态氨基酸吸收不同步的矛盾。Segovia-Quintero^[38]分别以含晶体蛋氨酸、甘油三棕榈酸酯、聚乙烯化

合物(TPA)包膜氨基酸(均以 S^{35} 标记)饲料投饲罗非鱼,发现食后不同时间段内的肝、肾、肌肉、血液 S^{35} 丰度在包膜氨基酸组显著低于晶体氨基酸组,表明晶体氨基酸经TPA包膜后降低了在肠道的吸收速度;刘永坚等^[18]、冷向军等^[29]、陈丙爱等^[33]的试验也证明了晶体氨基酸经包膜处理后,其在血液的吸收峰值出现了不同程度延迟。

在添加缓释氨基酸对鱼类生长的影响方面,已有一些研究报道。Murai, *et al.*^[39]以晶体氨基酸混合物和明胶为蛋白源分别饲养鲤鱼种、斑点叉尾鮰鱼种6尾,鱼体增重率仅为60.7%、38.7%,但对晶体氨基酸混合物以酪蛋白包膜后,鱼体增重率则上升到264.7%、107.8%;在全植物蛋白饲料中添加0.36%缓释赖氨酸,饲养鲤鱼种76d,其增重率、饲料系数可达到与含4%鱼粉饲料组基本一致水平^[40];刘永坚等^[18]在实用饲料中添加包膜赖氨酸0.4%,草鱼种增重率从192.3%提高到222.0%,而添加0.4%晶体赖氨酸则无改善;在基础饲料中分别添加以硬化油脂、明胶包被的赖氨酸0.23%、蛋氨酸0.10%,异育银鲫鱼种增重率较对照组提高18.6%、17.9%^[34];在日本对虾基础饲料(对照组)中补充晶体或包膜赖氨酸、蛋氨酸1.45%、1.21%,养殖42d后的增重率分别为194%、204%、271%,显示出添加包膜氨基酸对生长的显著改善效应^[37]。

可见,氨基酸经缓释处理后,显著改善了鱼类的生长性能,其原因在于减少了氨基酸的水中溶失,延缓氨基酸在肠道中的吸收。

5 小结

总的来看,水产饲料中添加晶体氨基酸的作用效果与水产动物的种类、饲料的组成、投饲频率等许多因素有关,提高投饲频率和进行缓释处理可有效改善晶体氨基酸的作用效果。但是,对于鱼类对饲料中添加晶体氨基酸具有不同的生长反应,即为什么有的鱼类如虹鳟等可有效利用饲料中添加的晶体氨基酸,而有的鱼类如鲤鱼等则难以有效利用,目前尚无定论。是否晶体氨基酸对鱼类的作用效果与其消化道结构特点存在某种联系,也尚有待于进一步研究。此外,在今后的研究中,应该加强同位素技术等手段的应用,以便更清楚地说明摄食的晶体或包膜氨基酸的代谢和去处,这将有助于进一步了解鱼类对晶体氨基酸的利用能力。

参考文献:

- [1] Li A J. Aquatic Animal Nutrition and Feeds [M]. Agricultural Press of China 1996 [李爱杰. 水产动物营养与饲料学. 中国农业出版社. 1996]
- [2] Cheng Z J, Ronald W H, James L U. Effect of lysine supplementation in plant protein-based diets on the performance of rainbow trout and apparent digestibility coefficients of nutrients [J]. *Aquaculture*, 2003, **215**: 255—265
- [3] Takeshi Y, Tsuyoshi S, Hirofumi F. Essential amino acid supplementation to fish meal-based diets with low protein to energy ratios improves the protein utilization in juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Aquaculture*, 2005, **246**: 379—391
- [4] Markus R, Friedeman B, Zoltan G, *et al*. Availability and utilization of free lysine in rainbow trout 2. Comparison of L-Lysine HCl and L-Lysine sulphate [J]. *Aquaculture*, 2000, **187**: 177—183
- [5] Helena P, Aires O T. The effect of dietary protein replacement by crystalline amino acid on growth and nitrogen utilization of turbot *Scophthalmus maximus* juveniles [J]. *Aquaculture*, 2005, **250**: 755—764
- [6] Takagi S, Shimeno S, Hosokawa H, *et al*. Effect of lysine and methionine supplementation to a soy protein concentrate diet for red sea bream *Pagrus major* [J]. *Fish Sci*, 2001, **67**: 1088—1096
- [7] Watanabe T, Aoki H, Watanabe K, *et al*. Quality evaluation of different types of non-fish meal diets for yellow tail [J]. *Fish Sci*, 2001, **67**: 461—469
- [8] Williams K, Barlow C, Rodgers L. Efficacy of crystalline and protein-bound amino acids for amino acid enrichment of diets for barramundi/Asian seabass (*Lates calcarifer* Bloch) [J]. *Aquaculture Research*, 2001, **32**: 415—429
- [9] Robinson E H, Wilson R P, Poe W E. Re-evaluation of the lysine requirement and lysine utilization by fingerling channel catfish [J]. *J Nutr*, 1980, **110**: 2313—2316
- [10] Robinson E H. Improvement of cottonseed meal protein with supplemental lysine in feeds for channel catfish [J]. *J. Appl Aquaculture*, 1994, **1**(2): 1—14
- [11] Dannie D Z, and Richard T L. Free lysine is utilized for growth less efficiently than protein-bound lysine in practical diets by young channel catfish [J]. *Aquaculture*, 1997, **150**: 87—100
- [12] Meng H L, Edwin H R. Effect of supplemental lysine and methionine in low protein diets on weight gain and body composition of young channel catfish [J]. *Aquaculture*, 1998, **163**: 297—307
- [13] Wilson R P, Poe W E, Robinson E H. Leucine, isoleucine, valine and histidine of fingerling channel catfish [J]. *J Nutr*, 1980, **110**: 627—630
- [14] Viola S, Lahav E. Effect of lysine supplementation in practical cap feeds on total protein sparing and reduction of pollution [J]. *Israeli J Aquaculture*, 1991, **43**: 112—118
- [15] Violas S, Mokad Y, Arieli Y S. Effect of soybean proceeding methods on the growth of cap [J]. *Aquaculture*, 1983, **32**: 27—38
- [16] Murai T, Ogata H, Takeuchi T, *et al*. Composition of free amino acid in excretion of cap fed amino acid diets and casein-gelatin diets [J]. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 1984, **50**(11): 1957
- [17] Fisheries department of Agriculture Ministry, P. R. C. Statistics Annals of Chinese Fisheries Beijing: Agricultural Press of China 2004 [中华人民共和国农业部渔业局. 中国渔业统计年鉴. 北京:中国农业出版社. 2004]
- [18] Liu Y J, Tian L X, Liu D H, *et al*. Influence of practical diet supplementation with free or coated lysine on the growth, plasma free amino acids and protein synthesis rates in the muscle of

- Ctenopharyngodon idellus* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2002, **26**(3): 252—258 [刘永坚, 田丽霞, 刘栋辉, 等. 实用饲料补充结晶或包膜氨基酸对草鱼生长、血清游离氨基酸和肌肉蛋白质合成率的影响. 水产学报, 2002, **26**(3): 252—258]
- [19] Tu Y F, Ye Y T, Song D J, *et al* The growth improvement of adding free amino acids to feed crucian carp [J]. *Shandong Fisheries*, 2004, **21**(11): 41—43 [涂永锋, 叶元士, 宋代军, 等. 游离异亮氨酸对鲫的促生长作用. 齐鲁渔业, 2004, **21**(11): 41—43]
- [20] Leng X J, Wang G Effect of feeding frequency on feeding allogynogenetic crucian carp with diets added with crystalline amino acids [J]. *Feed Research*, 2005, **12**: 50—52 [冷向军, 王冠. 投饲频率对异育银鲫饲料中添加晶体氨基酸的影响. 饲料研究, 2005, **12**: 50—52]
- [21] Jiang A Q, Wang X H. An experiment of adding histimine in diet to feed black carp [J]. *Fisheries of China*, 2002, (2): 67, 73 [蒋艾青, 王晓华. 青鱼饲料中添加组氨酸的试验. 中国水产, 2002, (2): 67, 73]
- [22] Zhang M L, Feng L Z An experiment of adding methioine in diet to feed common carp [J]. *Hebei Fisheries*, 2002, **12**(2): 32—33 [张满隆, 冯丽芝. 鲤鱼饲料中添加蛋氨酸的应用试验. 河北渔业, 2002, **12**(2): 32—33]
- [23] Zhang M L, Feng L Z An experiment of adding lysine in diet to feed common carp [J]. *Feed Research*, 2001, (6): 31—32 [张满隆, 冯丽芝. 鲤鱼饲料中添加赖氨酸的试验. 饲料研究, 2001, (6): 31—32]
- [24] Zhang M L, Deng L. The use of methioine in diet of crucian carp [J]. *Feed Research*, 2001, (5): 26—27 [张满隆, 邓理. 蛋氨酸在鲫鱼饲料中的作用. 饲料研究, 2001, (5): 26—27]
- [25] Zhu S C, Feng X W, Duan M, *et al* An experiment of adding lysine in diets to feed crucian carp [J]. *Feed Research*, 1999, (4): 5—6 [朱世成, 冯现维, 段铭, 等. 配合饲料中添加赖氨酸饲养鲫鱼的试验. 饲料研究, 1999, (4): 5—6]
- [26] Liu C Z, Zhou K Y. Effect of adding amino acids to decrease protein level on growth of crucian carp [J]. *Feed Industry*, 2001, **22**(6): 9—11 [刘长忠, 周克勇. 添加晶体氨基酸降低蛋白质水平对鲫鱼生产性能的影响. 饲料工业, 2001, **22**(6): 9—11]
- [27] Wilson R P. Amino and protein [A]. In: Halver J E (Eds), *Fish nutrition* (2nd ed) [M]. London: Academic Press Limited 1988, 138—139
- [28] Chhom L. Effect of dietary ph on amino acid utilization by shrimp [A]. In: *Advance of the studies on nutrition of finfish and shellfish* [M]. Guangzhou: Zhongshan University Publishing House 1995, 287—300
- [29] Leng X J, Wang G, Li X Q, *et al* Supplemental effects of crystalline or coated amino acids on growth performance and serum free amino acids of allogynogenetic crucian carp [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2007, **31**(6): 763—768 [冷向军, 王冠, 李小勤, 等. 饲料中添加晶体或包膜氨基酸对异育银鲫生长和血清游离氨基酸水平的影响. 水产学报, 2007, **31**(6): 743—748]
- [30] Zarate D D, Lovell R T, Payne M. Effects of feeding frequency and rate of stomach evacuation on utilization of dietary free and protein-bound lysine for growth by channel catfish *Ictalurus punctatus* [J]. *Aquaculture Nutrition*, 1999, **5**: 17—22
- [31] Liou C H, Lin S C, Cheng J H. Urinary amino acid excretion by marine shrimp, *Penaeus monodo*, in response to orally administered intact protein and crystalline amino acids [J]. *Aquaculture*, 2005, **248**: 35—40
- [32] Chen B A. Comparison of utilizing crystalline amino acids for common carp and tilapia [D]. Thesis for Master of Science, Shanghai Fisheries University. 2007 [陈丙爱. 鲤鱼、罗非鱼对晶体氨基酸利用的比较研究. 上海水产大学硕士论文. 2007]
- [33] Chen B A, Leng X J, Li X Q, *et al* Study on the effect of crystalline or coated amino acids for *Cyprinus carpio* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2008, **32**(5): 774—778 [陈丙爱, 冷向军, 李小勤, 等. 晶体或包膜氨基酸对鲤鱼的作用效果研究. 水生生物学学报, 2008, **32**(5): 774—778]
- [34] Gao Y J. Effect of adding lysine on growth of common carp [J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2002, **33**(6): 437—438 [高玉杰. 饲料中添加赖氨酸对鲤鱼生长的影响. 沈阳农业大学学报, 2002, **33**(6): 437—438]
- [35] Zhou Z, Cui Y, Xie S, *et al* Effect of feeding frequency on growth, feed utilization, and size variation of juvenile gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) [J]. *J. Appl. Ichthyol*, 2003, **19**: 244—249
- [36] Wang G, Leng X J, Li X Q, *et al* Effects of adding coated amino acids in diet on growth and body composition of allogynogenetic crucian carp [J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2006, **15**(6): 365—369 [王冠, 冷向军, 李小勤, 等. 饲料中添加包膜氨基酸对异育银鲫生长和体成分的影响. 上海水产大学学报, 2006, **15**(3): 365—369]
- [37] Alam M S, Teshima S, Koshio S, *et al* Supplemental effects of coated methioine and /or lysine to soy protein isolate diet for juvenile kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus* [J]. *Aquaculture*, 2005, **248**: 13—19
- [38] Segovia-Quintero M A, Robert C R. Coating crystalline methionine with tripalmitin-polyvinyl alcohol slows its absorption in intestine of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* [J]. *Aquaculture*, 2004, **238**: 355—367
- [39] Murai T, Akiyama T, Nose T. Effect of casein coating on utilization of dietary amino acids by fingerling carp and channel catfish [J]. *Bulletion of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 1982, **48**(6): 787—792
- [40] Yan J, Yang Z L, Liu C H. The use of slowly-released lysine in feed of common carp [J]. *Feed Research*, 2004, (7): 36—37 [阎军, 杨子龙, 刘春海. 缓释赖氨酸在鲤鱼饲料中的应用. 饲料研究, 2004, (7): 36—37]