

饲料中补充赖氨酸和蛋氨酸对罗非鱼 生长和消化率的影响

于海瑞¹ 张琴^{2*} 姜燕³ 胡修贵³
刘世武¹ 李伟忠¹ 张保仁¹ 范晶晶¹ 崔英¹

¹ 潍坊学院生物与农业工程学院 山东省高校生物化学与分子生物学重点实验室(潍坊学院),
潍坊市生物工程技术研究中心, 261061)

² 广西壮族自治区海洋研究所 广西海洋生物技术重点实验室, 北海 536000)

³ 中国海洋大学教育部海水养殖重点实验室, 青岛 266003)

摘要 以初始体重 7.30 ± 0.12 g 的奥尼杂交罗非鱼幼鱼为对象, 在池塘内浮式网箱中进行为期 70 d 的养殖试验。试验配制 5 种等氮、等能、低鱼粉含量(2%)的实用饲料(D1~D5)。其中, D1 为对照组, 含有 30% 豆粕; 在 D2 里用花生粕蛋白替代 D1 中 50% 的豆粕蛋白; D3~D5 是在 Diet 2 的基础上分别添加 0.25% 晶体赖氨酸+0.05% 晶体蛋氨酸、0.25% 微囊赖氨酸+0.05% 微囊蛋氨酸、0.50% 微囊赖氨酸+0.10% 微囊蛋氨酸。饲料中添加 0.5% Cr₂O₃ 作为外源指示剂用于测定营养成分或能量的表观消化率。结果表明, 罗非鱼的成活率在各组之间差异不显著($P > 0.05$); 对照组与 D5 组罗非鱼的特定生长率差异不显著($P > 0.05$), 均显著高于其他三组($P < 0.05$), D2 组最低; D2 与 D3 组的饲料系数显著高于 D5 和对照组($P < 0.05$)。D5 和对照组的蛋白质效率显著高于 D2 与 D3 组($P < 0.05$); 罗非鱼的肥满度在对照组、D4 与 D5 组间差异不显著($P > 0.05$), 均显著高于 D2 与 D3 组($P < 0.05$); 罗非鱼的脏体比和肝体比在各组间差异不显著($P > 0.05$); 干物质、脂肪、总能及必需氨基酸的消化率在各组间差异不显著($P > 0.05$); 蛋白质的表观消化率在对照组、D4 与 D5 组之间无显著差异, 但均显著高于 D2 组($P < 0.05$); 花生粕替代豆粕及添加晶体或微囊氨基酸对罗非鱼体常规成分和必需氨基酸均无显著影响($P > 0.05$)。

关键词 罗非鱼 豆粕 花生粕 赖氨酸 蛋氨酸 生长 消化率

中图分类号 S963.8 文献标识码 A 文章编号 1000-7075(2012)04-0113-09

Effects of lysine and methionine supplements in diets on growth and digestibility of tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)

YU Hai-rui¹ ZHANG Qin^{2*} JIANG Yan³ HU Xiu-gui³ LIU Shi-wu¹
LI Wei-zhong¹ ZHANG Bao-ren¹ FAN Jing-jing¹ CUI Ying¹

¹ Key Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology in Universities of Shandong,

College of Biological and Agricultural Engineering, Weifang Bioengineering Technology Research Center, Weifang University, 261061)

² Key Laboratory of Marine Biotechnology of Guangxi, Guangxi Institute of Oceanology, Beihai 536000)

³ Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003)

ABSTRACT A 10-week feeding trial was conducted to study the effects of soybean meal sup-

山东省星火计划项目(2010XH0632)和潍坊市科技发展计划项目(201104048)共同资助

* 通讯作者。E-mail: celery996@yahoo.com.cn, Tel: (0779)2073536

收稿日期: 2011-08-14; 接受日期: 2011-10-21

作者简介: 于海瑞(1967-), 男, 博士, 主要从事水产动物营养与饲料学研究。E-mail: yhr6003@yahoo.com.cn, Tel: 13721989178

plemented replacement by peanut meal supplemented with lysine and methionine on growth, apparent digestibility coefficient (ADC) and body composition of juvenile hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) at initial mean body weight of 7.30 ± 0.12 g, which were stocked in floating net cages suspended in an earthen pond. Five isonitrogenous and isoenergetic experiment diets (D1~D5) were formulated with low fish meal content (2%). D1 was used as control containing 30% soybean meal (SBM). D2 was formulated with peanut meal (PNM) replacing 50% SBM protein. D3~D5 were formulated on the basis of D2 supplemented with crystalline lysine (0.25%) + methionine (0.05%), microencapsulated lysine (0.25%) + methionine (0.05%) or microencapsulated lysine (0.50%) + methionine (0.10%), respectively. Chromic oxide (0.5%) was added as an external indicator to determine the ADC for nutrient or energy of the experimental diets. The results showed that no significant difference ($P > 0.05$) were found among survival rates of the experimental diets. Specific growth rate (SGR) had no significant differences ($P > 0.05$) between the control and D5, which were significantly higher ($P < 0.05$) than the other three diets, and D2 resulted in the lowest SGR. Fish fed D2 and D3 had significantly higher ($P < 0.05$) feed conversion ratio than D5 and the control. Fish fed D5 and the control had significantly higher ($P < 0.05$) protein efficiency ratio than D2 and D3. Condition factor showed no significant difference ($P > 0.05$) among the D4, D5 and the control, which were significantly higher than D2 and D3 ($P < 0.05$). There were no significant differences ($P > 0.05$) in viscerasomatic index and hepato-somatic index between the experimental diets. ADCs of dry matter, crude lipid, gross energy and essential amino acid had no significant difference ($P > 0.05$) among the experimental diets. ADC of crude protein had no significant difference ($P > 0.05$) among the microencapsulated amino acid supplemented diets and the control, however, which were significantly higher ($P < 0.05$) than D2. Whole-body proximate and essential amino acid composition of the fish were not affected by replacement of SBM with PNM or supplement of crystalline or microencapsulated lysine and methionine. Compared to crystalline amino acid, the results indicated that dietary microencapsulated lysine and methionine supplements obviously improved the growth performance of juvenile tilapia and the ADC of dietary protein under the conditions of this experiment.

KEY WORDS Tilapia Soybean meal Peanut meal Lysine Methionine
Growth Digestibility

近年来,由于鱼粉、豆粕等优质蛋白原料价格高涨,使得淡水鱼饲料配方中花生粕、菜粕和米糠粕等杂粕的比例偏高,从而导致饲料中赖氨酸和蛋氨酸等限制性氨基酸的缺乏,使饲料蛋白质效率降低并加剧了氮排泄对养殖环境的污染。单纯依靠不同蛋白源的互补配伍难以解决饲料中氨基酸的失衡问题。用理想蛋白模式设计饲料配方并补充晶体氨基酸,已在陆生动物生产上取得良好的效果(Baker 2009; Li *et al.* 2009)。但晶体氨基酸在水产动物的应用尚存争议。有研究认为,溶失性及与蛋白态氨基酸的不同步吸收是晶体氨基酸利用率较低的主要原因(Murai *et al.* 1982; Fox *et al.* 1995; Aoki *et al.* 2001)。然而,越来越多的研究证明,晶体氨基酸在某些水产动物饲料中的效果(Robinson 1991; Cheng *et al.* 2003; Nang Thu *et al.* 2007; 罗运仙等 2010; 王吉桥等 2010; 胡亮等 2011),尤其是经包被处理后的添加效果更为明显(Day *et al.* 2000; 张满隆等 2001; 刘永坚等 2002; Alam *et al.* 2005; 王冠等 2006; 邓君明等 2007; Zhou *et al.* 2007; 迟淑艳等 2010; 牛化欣等 2010; 谭芳芳等 2010; 王吉桥等 2010)。已有学者开展了晶体蛋氨酸对

罗非鱼生长和体组成影响的研究(El-Dahhar *et al.* 1993; Wu *et al.* 1998; Riche *et al.* 2001; Gonzalesden *et al.* 2007; 林仕梅等 2008; 侯鑫等 2009; 金胜洁等 2010)。朱选等(2009)发现,晶体赖氨酸和蛋氨酸对尼罗罗非鱼 *Oreochromis niloticus* 生长无影响,但经包膜后的促生长效果明显。以上研究结果差异可能与水产动物种类、氨基酸补充方式及投喂次数等存在差异有关(Zarate *et al.* 1999; 冷向军等 2005)。

赖氨酸和蛋氨酸分别是鱼类饲料中大多数植物蛋白原料的第一、二限制性氨基酸,对维持动物的正常生长、发育和神经系统的正常机能具有重要的作用(Hauler *et al.* 2001)。目前,基于饲料成本压力和豆粕、棉粕价格上涨等方面的因素,花生粕在罗非鱼等淡水鱼饲料中的用量加大;然而,花生粕的赖氨酸、蛋氨酸含量仅为豆粕的50%左右,大量使用势必加剧饲料中氨基酸不平衡。本研究评估在花生粕替代50%豆粕蛋白的饲料中分别添加晶体或微胶囊赖氨酸和蛋氨酸对奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)生长、消化率和体成分的影响,为氨基酸的有效利用提供科学依据。

1 材料与amp;方法

1.1 试验用氨基酸

本研究所用氨基酸由佛山市海纳川药业有限公司提供。其中,晶体赖氨酸为美国ADM公司生产的饲料级L-赖氨酸盐酸盐,有效含量为78.5%;晶体蛋氨酸为日本住友化学公司生产的饲料级DL-蛋氨酸,有效含量为99.0%;微囊赖氨酸和微囊蛋氨酸均由佛山市海纳川药业有限公司采用微胶囊(囊材以硬脂酸为主)工艺生产,有效含量分别为39.9%和49.8%。

1.2 试验饲料

参照罗非鱼的营养需要(NRC 1993)并结合国内实际生产情况设计饲料配方,配制成5种等氮(粗蛋白含量32%)、等能(总能为13 kJ/g)、低鱼粉含量(2%)的实用饲料(D1~D5)(表1)。其中,D1(对照组)含有30%豆粕,无花生粕;在D2里用花生粕蛋白替代D1中50%的豆粕蛋白,未补充赖氨酸和蛋氨酸;D3~D5是在D2的基础上分别添加0.25%晶体赖氨酸+0.05%晶体蛋氨酸、0.25%微囊赖氨酸+0.05%微囊蛋氨酸、0.50%微囊赖氨酸+0.10%微囊蛋氨酸。在饲料中添加0.5%的Cr₂O₃作为外源性指示剂用于测定营养成分或能量的表观消化率。试验饲料的必需氨基酸组成见表2。除晶体和微囊氨基酸外,所有原料均过40目筛,再将原料混合均匀,并加入卵磷脂、鱼油和豆油混匀,之后加水制成湿面团,用单螺杆膨化机(Q65型,广东省罗定市华强饲料膨化机械公司)将饲料制成2.0 mm×3.0 mm和3.5 mm×5.5 mm两种大小合适的颗粒,饲料调质温度控制在90~100℃。饲料颗粒于室内阴凉处风干后,保存在-20℃冰箱中备用。

1.3 试验用鱼与饲养管理

试验用奥尼杂交罗非鱼购自广州市番禺区农科所罗非鱼良种场,为当年人工培育的同一批苗种。鱼苗购回后暂养于佛山市南海区西桥镇一实际生产用养殖池塘(120 m×106 m×2.8 m)内的浮式网箱中。正式试验之前,试验鱼投喂商品饲料(含粗蛋白32.2%、粗脂肪4.5%)。经14d驯养后,正式养殖试验于2010年7月17日开始,挑选出健康、有活力、体重相近的罗非鱼幼鱼(7.30±0.12 g)600尾,随机分成5组,每组3个重复,共15个网箱(1.5 m×1.5 m×2.0 m),每个网箱放养罗非鱼40尾。试验为期70d,前35d投喂2.0 mm×3.0 mm规格饲料,之后投喂3.5 mm×5.5 mm规格饲料至养殖试验结束。每天投喂3次(7:30、13:00和17:30),饲料投喂量为鱼体重的3%~6%,根据鱼的摄食情况、体增重、水温和天气变化适当调整。饲养期间如有死鱼及时记录数量并称重。试验期间水温26.5~32.0℃,溶解氧大于5.0 mg/L。

1.4 样品收集与分析方法

1.4.1 氨基酸的溶失率

取蒸馏水100 ml,分别加入3.00 g晶体或微囊氨基酸,摇匀后于28℃水浴中静置10 min,过滤取上清液,

表1 试验饲料配方及营养组成(%干物质)

Table 1 Formulation and proximate composition of the experimental diets (% dry matter)

原料 Ingredients	D1	D2	D3	D4	D5
豆粕 Soybean meal ¹	30.0	15.0	15.0	15.0	15.0
花生粕 Peanut meal ²		15.5	15.5	15.5	15.5
晶体赖氨酸 Crystalline lysine			0.25		
晶体蛋氨酸 Crystalline methionine			0.05		
微囊赖氨酸 Microencapsulated lysine				0.25	0.5
微囊蛋氨酸 Microencapsulated methionine				0.05	0.1
鱼粉 Fish meal	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
菜籽粕 Rapeseed meal	23.0	23.0	23.0	23.0	23.0
次粉 Wheat middlings	25.0	25.0	25.0	25.0	25.0
米糠粕 Rice bran meal	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0
啤酒酵母 Beer yeast	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
鱼油 Fish oil	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
大豆磷脂 Soy lecithin	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
沸石粉 Zeolite powder	2.72	2.22	1.92	1.92	1.62
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
矿物质预混料 Mineral premix ³	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
维生素预混料 Vitamin premix ⁴	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
氯化胆碱 Choline chloride	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
乙氧基喹啉 Ethoxyquin	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
三氧化二铬 Cr ₂ O ₃	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
营养组成 Proximate composition					
粗蛋白 Crude protein	32.31	32.12	32.65	32.50	32.57
粗脂肪 Crude lipid	4.70	4.47	4.51	4.62	4.77
灰分 Ash	6.35	6.27	6.46	6.28	6.22
总能 Gross energy(MJ/kg)	13.28	13.16	13.20	13.22	13.29

注:1. 含有 49.81%粗蛋白、2.22%粗脂肪、3.06%赖氨酸和 0.71%蛋氨酸(%干物质)

2. 含有 48.23%粗蛋白、2.47%粗脂肪、1.53%赖氨酸和 0.32%蛋氨酸(%干物质)

3. 每千克矿物质预混料含有:CoSO₄·4H₂O,0.15 g;CuSO₄·5H₂O,5.0 g;FeSO₄·7H₂O,50.0 g;KCl,50.0 g;KI,0.1g;MgSO₄·2H₂O,101.7 g;MnSO₄·4H₂O,18.0 g;NaCl,80.0 g;Na₂SeO₃·H₂O,0.05 g;ZnSO₄·7H₂O,30.0 g

4. 每千克维生素预混料含有:VA 棕榈酸盐,3 000 000 IU;VD₃,1 200 000 IU;DL-α生育酚,80.0 g;甲萘醌,8.0 g;硫胺-HCl,10.0 g;核黄素,10.0 g;D-泛酸钙,20.0 g;吡哆醇-HCl,8.0 g;肌醇,200.0 g;D-生物素,1.5 g;叶酸,3.0 g;氨基苯酸,10.0 g;烟酸,20.0 g;VB₁₂,0.02 g;维生素 C 多聚磷酸酯(35%),50.0 g

Notes:1. Containing 49.81% crude protein,2.22% crude lipid,3.06% lysine and 0.71% methionine (% dry matter)

2. Containing 48.23% crude protein,2.47% crude lipid,1.53% lysine and 0.32% methionine (% dry matter)

3. Containing the following in mineral premix (per kg): CoSO₄·4H₂O,0.15 g;CuSO₄·5H₂O,5.0 g;FeSO₄·7H₂O,50.0 g;KCl,50.0 g;KI,0.1g;MgSO₄·2H₂O,101.7 g;MnSO₄·4H₂O,18.0 g;NaCl,80.0 g;Na₂SeO₃·H₂O,0.05 g;ZnSO₄·7H₂O,30.0 g.

4. Containing the following in vitamin premix (per kg): Retinal palmitate,3 000 000 IU;VD₃,1 200 000 IU; DL-α-tocopherol acetate,80.0 g; Menadione,8.0 g;Thiamin-HCl,10.0 g;Riboflavin,10.0 g;D-calcium pantothenate,20.0 g;Pyridoxine-HCl,8.0 g;Meso-inositol,200.0 g;D-biotin,1.5 g;Folic acid,3.0 g;Para-aminobenzoic acid,10.0 g;Niacin,20.0 g;Cyanocobalamin,0.02 g;Ascorbyl polyphosphate (35%),50.0 g

表2 试验饲料的必需氨基酸组成(%饲料蛋白)

Table 2 Essential amino acid (EAA) composition of the experimental diets (% dietary protein)

必需氨基酸 EAA	D1	D2	D3	D4	D5
赖氨酸 Lysine	5.17	4.58	5.24	4.92	5.19
蛋氨酸 Methionine	1.58	1.46	1.53	1.51	1.60
精氨酸 Arginine	6.59	7.16	6.98	6.89	6.79
组氨酸 Histidine	2.57	2.40	2.39	2.31	2.33
异亮氨酸 Isoleucine	4.18	3.99	4.07	4.25	4.10
亮氨酸 Leucine	7.34	6.88	6.98	6.83	7.02
苯丙氨酸 Phenylalanine	4.70	4.89	4.75	4.86	4.74
苏氨酸 Threonine	3.90	3.61	3.61	3.55	3.65
缬氨酸 Valine	4.86	4.73	4.78	4.83	5.04

注:因为酸水解,色氨酸未检测。与表5、表6同

Notes: Tryptophan was not determined due to acid hydrolysis. The same as in Table 5 and Table 6

采用茚三酮法(罗运仙等 2010)测定溶失于水中的氨基酸量,计算溶失率。

1.4.2 粪便收集

参照 Austreng(1978)的挤压法收集粪便:在投喂罗非鱼 6 h 后,将其从网箱中捞出,用丁香酚(1:10 000)麻醉,用柔软的纱布擦干并置于解剖盘中,轻轻挤压鱼体腹侧,然后在肛门前 3 cm 处轻轻挤压其两侧,收集粪便至称量瓶并保存于-20 ℃冰箱中待测。

1.4.3 分析方法

饲养试验结束,停食 24 h 后对每个网箱里的鱼进行计数并称重。从每箱中随机选取 3 尾鱼放入-20 ℃冰箱保存,用于鱼体成分分析。另从每箱中随机取 10 尾鱼测量体长、体重,计算肥满度;将鱼体解剖,取其内脏团、肝胰脏,称重,计算脏体比和肝体比。

饲料、鱼体和粪便样品的常规成分分析均采用 AOAC(1995)的方法。其中,水分的测定是将样品置于 105 ℃烘箱中烘干至恒重;粗蛋白的测定采用凯氏定氮法(Kjeltec 2300, Sweden);粗脂肪的测定采用索氏抽提仪(B-801, Buchi, Switzerland)测定;粗灰分的测定采用高温炉中(550 ℃)灰化法。能量的测定采用 Parr 1281 型自动氧弹仪(Parr, Moline, IL, USA);氨基酸的测定采用日立 835-50 型高速氨基酸分析仪(Hitachi Ltd, Tokyo, Japan)。饲料和粪便中铬的测定采用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES, VISTA-MPX, VARIAN, USA)。

1.5 计算与统计分析

$$\text{存活率}(\%) = 100 \times N_f / N_i$$

$$\text{特定生长率}(SGR, \%/d) = 100 \times (\ln W_f - \ln W_i) / d$$

$$\text{饲料系数}(FCR) = I / (W_f - W_i + W_d)$$

$$\text{蛋白质效率}(PER) = 100 \times (W_f - W_i + W_d) / (I \times P_c)$$

$$\text{肥满度}(CF, \%) = 100 \times W_f / L_f$$

$$\text{脏体比}(VSI, \%) = 100 \times W_{iv} / W_f$$

$$\text{肝体比}(HIS, \%) = 100 \times W_{fbp} / W_f$$

式中, N_f 和 N_i 分别为罗非鱼在试验终末和初始时的尾数; W_f 、 W_{iv} 、 W_{fbp} 、 W_i 和 W_d 分别为鱼的终末体重、终末内脏重、终末肝胰脏重、初始体重和试验期间死鱼体重(g); I 为摄食的饲料干重(g); P_c 为饲料的蛋白质含量; L_f 为鱼的终末体长(cm); d 为试验天数。

试验饲料干物质、营养成分(蛋白质、脂肪和必需氨基酸)及能量表观消化率的计算公式参照 Maynard (1969):

$$\text{饲料干物质的表观消化率}(ADC) = 100 \times (1 - \text{饲料中 Cr 含量} / \text{粪便中 Cr 含量})$$

$$\text{营养成分或能量的表观消化率} = 100 \times [1 - (\text{饲料中 Cr 含量} \times \text{粪便营养成分或能量含量}) / (\text{粪便中 Cr 含量} \times \text{饲料营养成分或能量含量})]$$

所得数据以平均数±标准差表示。所有百分比数据在分析前进行反正弦转换。以 SPSS 11.5 for Windows 软件进行单因素方差分析(ANOVA)和多重比较,显著性水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 晶体和微囊氨基酸的溶失率

晶体赖氨酸和蛋氨酸的水中溶失率分别为 77.26% 和 65.19% (表 3), 但经微囊包被后, 其溶失率显著降低 ($P < 0.05$), 仅为 19.22% 和 14.78%。

表 3 晶体与微囊氨基酸在水中 10 min 的溶失率 (%)

Table 3 Leaching rate of crystalline and microencapsulated amino acids in water for 10 minutes (%)

氨基酸 Amino acid	晶体形式 Crystalline form	微囊形式 Microencapsulated form
赖氨酸 Lysine	77.26 ± 1.79 ^a	19.22 ± 0.45 ^b
蛋氨酸 Methionine	65.19 ± 0.88 ^a	14.78 ± 0.57 ^b

注:表中数据表示为平均值±标准差($n=3$),同一行中相同的上标字母表示差异不显著($P>0.05$)

Note: Means ± S. D. ($n=3$) with the same superscript letter in the same row are not significantly different, determined by Tukey's test ($P>0.05$)

2.2 对罗非鱼成活率和生长的影响

试验期间,各试验组罗非鱼的成活率均在95%以上(表4),组间无显著差异($P>0.05$)。对照组罗非鱼的SGR最高,但与D5组差异不显著($P>0.05$);D2组罗非鱼的SGR最低,但与D3组差异不显著($P>0.05$),二者均显著低于D4、D5和对照组($P<0.05$);D4组罗非鱼的SGR显著低于D5组($P<0.05$)。FCR在D2与D3组之间差异不显著($P>0.05$),D4组的FCR显著低于D2组($P<0.05$),但与D3组差异不显著($P>0.05$),三者均显著高于对照组和D5组($P<0.05$)。PER的变化趋势与FCR相反,D4组的PER显著高于D2组($P<0.05$),但与D3组差异不显著($P>0.05$),三者均显著低于对照组和D5组($P<0.05$)。

对照组罗非鱼的肥满度最高,显著高于D2和D3组($P<0.05$),但与D4和D5组之间差异不显著($P>0.05$),而D3、D4与D5组之间无显著差异。罗非鱼的脏体比和肝体比在各组之间差异不显著($P>0.05$)。

表4 各试验组罗非鱼的成活率和生长性能

Table 4 Survival and growth performance of tilapia (*O. niloticus*×*O. aureus*) fed the experimental diets

项目	Items	D1	D2	D3	D4	D5
成活率	Survival rate (%)	98.33±3.54	95.83±1.77	96.67±3.54	95.83±1.77	97.5±3.54
初始体重	Initial body weight (g)	7.30±0.12	7.30±0.12	7.30±0.12	7.30±0.12	7.30±0.12
终末体重	Final body weight (g)	161.71±2.10 ^a	141.93±2.65 ^c	145.52±3.26 ^c	152.06±1.86 ^b	158.15±2.66 ^a
特定生长率	SGR (%/d)	4.43±0.02 ^a	4.23±0.03 ^c	4.27±0.04 ^c	4.34±0.02 ^b	4.39±0.02 ^a
饲料系数	FCR	1.10±0.02 ^c	1.30±0.02 ^a	1.26±0.05 ^{ab}	1.21±0.02 ^b	1.14±0.02 ^c
蛋白质效率	PER	2.80±0.06 ^a	2.39±0.04 ^c	2.47±0.10 ^{bc}	2.58±0.05 ^b	2.73±0.06 ^a
肥满度	CF (%)	4.35±0.09 ^a	4.05±0.07 ^b	4.08±0.13 ^b	4.17±0.08 ^{ab}	4.23±0.10 ^{ab}
脏体比	VSI (%)	10.46±0.12	10.83±0.19	10.71±0.28	10.58±0.26	10.50±0.21
肝体比	HSI (%)	2.07±0.09	2.27±0.08	2.23±0.08	2.13±0.13	2.15±0.05

注:表中数据表示为平均值±标准差($n=3$),同一行中相同的上标字母表示差异不显著($P>0.05$)

Notes: Means±S.D. ($n=3$) with the same superscript letter in the same row are not significantly different, which was determined by Tukey's test ($P>0.05$)

2.3 对消化率的影响

对照组和D5组干物质的表观消化率均高于另外3组(表5),但各组之间差异不显著($P>0.05$)。对照组蛋白质的表观消化率最高,但与D4和D5组之间无显著差异,三者均显著高于D2组($P<0.05$),D3组与其他各组之间差异不显著($P>0.05$)。D2组脂肪的表观消化率最高,对照组最低,但在各组之间差异不显著($P>0.05$)。总能的表观消化率在各组之间无显著差异($P>0.05$)。

必需氨基酸的表观消化率在各组之间差异不显著($P>0.05$)。其中,赖氨酸和亮氨酸的消化率略高于其他必需氨基酸。

2.4 对罗非鱼体成分的影响

花生粕替代豆粕及添加晶体或微囊氨基酸对罗非鱼体的水分、粗蛋白、粗脂肪和灰分含量均无显著影响($P>0.05$)(表6)。但D2组罗非鱼的粗蛋白较其他组略有降低,而脂肪则略有提高。罗非鱼体的必需氨基酸含量在各组之间差异不显著($P>0.05$)。

表5 各试验组罗非鱼对饲料干物质、粗蛋白、粗脂肪、能量和必需氨基酸的表现消化率(%)

Table 5 Apparent digestibility coefficients (ADCs) of dry matter, crude protein, crude lipid, gross energy and essential amino acids for tilapia (*O. niloticus*×*O. aureus*) fed the experimental diets (%)

项目	Items	D1	D2	D3	D4	D5
干物质	Dry matter	74.63±1.48	71.37±1.12	72.20±0.80	72.89±1.21	74.11±1.43
粗蛋白	Crude protein	85.20±1.15 ^a	82.57±0.51 ^b	83.70±0.72 ^{ab}	84.83±0.78 ^a	84.77±0.91 ^a
粗脂肪	Crude lipid	87.60±2.23	91.66±2.52	88.47±2.10	88.17±1.84	89.33±1.36
总能	Gross energy	80.27±1.66	82.15±1.91	83.70±2.53	79.93±2.31	80.06±1.52
赖氨酸	Lysine	91.75±0.27	89.56±0.41	89.68±0.54	90.15±0.24	90.76±0.35
蛋氨酸	Methionine	89.58±0.37	87.77±0.28	89.23±0.43	88.46±0.46	90.11±0.50
精氨酸	Arginine	87.68±0.36	88.12±0.32	88.57±0.55	88.91±0.49	88.64±0.37
组氨酸	Histidine	86.63±0.46	86.82±0.52	85.97±0.40	85.54±0.65	85.77±0.39
异亮氨酸	Isoleucine	88.19±0.51	86.90±0.46	86.15±0.43	87.91±0.37	87.78±0.62
亮氨酸	Leucine	90.88±0.79	91.78±0.57	90.91±0.55	91.03±0.56	91.62±0.62
苯丙氨酸	Phenylalanine	87.49±0.54	87.97±0.45	87.03±0.40	88.29±0.47	87.80±0.59
苏氨酸	Threonine	85.10±0.50	83.73±0.33	83.25±0.52	83.97±0.44	84.01±0.48
缬氨酸	Valine	87.92±0.39	88.80±0.42	88.40±0.62	87.51±0.48	88.16±0.30

注:表中数据表示为平均值±标准差($n=3$),同一行中相同的上标字母表示差异不显著($P>0.05$)

Notes: Means ± S. D. ($n=3$) with the same superscript letter in the same row are not significantly different, which was determined by Tukey's test ($P>0.05$)

表6 试验结束时各试验组罗非鱼体常规成分和必需氨基酸组成

Table 6 Whole-body proximate and essential amino acid composition of tilapia (*O. niloticus*×*O. aureus*) fed the experimental diets for 10 weeks

项目	Items	D1	D2	D3	D4	D5
常规成分 (%湿重)	Proximate composition (% wet weight)					
水分	Moisture	73.32±0.79	74.31±0.90	73.67±1.19	73.76±0.51	73.51±1.22
粗蛋白	Crude protein	17.09±0.36	16.53±0.19	16.73±0.15	16.77±0.21	16.93±0.25
粗脂肪	Crude lipid	4.60±0.19	5.02±0.13	4.83±0.15	4.71±0.26	4.87±0.28
灰分	Ash	3.91±0.23	4.35±0.25	4.42±0.30	4.51±0.27	4.37±0.15
必需氨基酸组 成(%蛋白)	Essential amino acids profile (% protein)					
赖氨酸	Lysine	8.70±0.11	8.38±0.13	8.59±0.17	8.40±0.21	8.57±0.29
蛋氨酸	Methionine	1.79±0.04	1.75±0.05	1.72±0.07	1.77±0.05	1.74±0.03
精氨酸	Arginine	5.00±0.13	5.12±0.22	5.10±0.16	5.18±0.24	5.08±0.20
组氨酸	Histidine	2.17±0.07	2.08±0.11	2.14±0.05	2.24±0.09	2.22±0.08
异亮氨酸	Isoleucine	4.28±0.12	4.27±0.15	4.33±0.13	4.35±0.18	4.17±0.16
亮氨酸	Leucine	6.01±0.15	5.93±0.19	5.78±0.26	5.95±0.17	6.02±0.24
苯丙氨酸	Phenylalanine	2.75±0.18	2.69±0.09	2.77±0.22	2.80±0.11	2.77±0.08
苏氨酸	Threonine	3.62±0.16	3.62±0.15	3.51±0.17	3.60±0.07	3.61±0.16
缬氨酸	Valine	4.03±0.19	3.95±0.26	3.93±0.09	3.86±0.18	3.87±0.25

注:表中数据表示为平均值±标准差($n=3$),同一行中相同的上标字母表示差异不显著($P>0.05$)

Notes: Means ± S. D. ($n=3$) with the same superscript letter in the same row are not significantly different, which was determined by Tukey's test ($P>0.05$)

3 讨论

3.1 对罗非鱼生长性能的影响

饲料蛋白质的品质决定于其中所含氨基酸之间的平衡情况,一种蛋白质中氨基酸的平衡性越差,则动物对其利用率也越低(Halver *et al.* 2002; Wu 2009; Li *et al.* 2011)。本研究中,花生粕替代 50% 豆粕蛋白改变了饲料必需氨基酸的比例,显著降低了罗非鱼生长速度和对饲料的蛋白质效率,表明花生粕的品质次于豆粕。林仕梅等(2008)发现,饲料中花生粕替代 100% 豆粕蛋白时奥尼罗非鱼的生长性能和蛋白质效率明显下降。叶元土等(2005)对草鱼 *Ctenopharyngodon idellus* 的研究也得出相似的结论。Khan 等(2003)认为,花生粕中赖氨酸、蛋氨酸的不足及所含抗营养因子是导致野鲮 *Labeo rohita* 生长速度和饲料利用下降的主要原因。

本研究中,赖氨酸和蛋氨酸经微囊包被后明显提高了罗非鱼的生长速度和蛋白质效率,表明罗非鱼能有效利用微囊氨基酸。这与朱选等(2009)的研究结果相一致。Zhou 等(2007)在饲料中添加 0.16% 包膜赖氨酸,发现建鲤 *Cyprinus carpio* (Var. Jian) 的增重率显著高于未经包膜的对照组。刘永坚等(2002)研究发现,补充 0.4% 包膜赖氨酸(有效含量 30.0%) 组草鱼的增重率、蛋白质效率、血清中必需氨基酸的平衡指数和蛋白质合成率明显优于不补充赖氨酸和补充 0.4% 晶体赖氨酸(有效含量 79.0%) 组。饲料中添加包膜赖氨酸或同时补充包膜赖氨酸、蛋氨酸和苏氨酸显著提高了刺参 *Apostichopus japonicus* (Selenka) 的生长速度(王吉桥等 2009、2010)。Alam 等(2005)在日本对虾 *Marsupenaeus japonicus* 饲料中按最适氨基酸比例同时补充包膜赖氨酸及蛋氨酸,促生长效果优于同时补充晶体赖氨酸和蛋氨酸、或者单独补充晶体赖氨酸或蛋氨酸。研究表明,晶体氨基酸在胃肠道中停留的时间短于蛋白结合态氨基酸(Zarate *et al.* 1997),但经包膜后可减少其在水中的溶失和延缓在鱼肠道中的吸收速度(Manuel *et al.* 2004)。晶体氨基酸经包被处理后在草鱼和鲤鱼 *Cyprinus carpio* 血液的吸收峰值出现了不同程度的延迟(刘永坚等 1999、2002; 冷向军等 2010)。本研究虽未测定血清游离氨基酸的浓度变化,但从试验结果看,与晶体状赖氨酸和蛋氨酸相比,有效添加量仅为其 50% 的微囊化赖氨酸和蛋氨酸对罗非鱼的促生长效果和蛋白质效率更加明显,由此推测微囊化氨基酸在鱼体肠道内的释放速度得到延缓,从而促进了其与饲料中结合态氨基酸的同步吸收,提高了微囊氨基酸的利用效率,有利于蛋白质合成。本研究中,D5 组的效果明显优于 D4 组,表明饲料中微囊氨基酸的补充量不同会影响饲料中必需氨基酸的平衡,进而影响罗非鱼的蛋白质效率。此外,包被材料或包被工艺不同,氨基酸在水中的溶失率和在水产动物肠道内的释放速度也不同,进而影响了蛋白质效率和生长性能。氨基酸经琼脂包膜后溶失率低于用羧甲基纤维素包膜(Teshima 1993)。本研究选用由硬脂酸包被的微囊氨基酸,其在水中的溶失率显著低于晶体状氨基酸,与郑宗林等(2009)、冷向军等(2010)和谭芳芳等(2010)的研究结果一致。邓君明等(2007)比较了醋酸纤维酯、玉米醇溶蛋白、卡拉胶和棕榈酸甘油酯分别包被晶体氨基酸对牙鲆 *Paralichthys olivaceus* 生长的影响,发现以棕榈酸甘油酯包被的促生长效果最好。因此,为提高晶体氨基酸的利用率,有必要进一步研究选择合适的包被材料以降低晶体氨基酸的水中溶失率和提高已吸收氨基酸合成蛋白质的效率(赵红霞等 2009)。

3.2 对消化率的影响

氨基酸的添加是以饲料中氨基酸平衡为基础的。目前,对于水产动物,多数研究集中在评估第一限制性氨基酸的补充效果,而对于比较补充第一限制性氨基酸与同时补充两种以上限制性氨基酸对消化率的影响报道不多。周贤君等(2006)发现,饲料中补充晶体赖氨酸对异育银鲫 *Carassius auratus gibelio* 蛋白质的表观消化率无明显影响。王吉桥等(2010)对刺参的研究表明,饲料中同时补充包膜赖氨酸、蛋氨酸和苏氨酸与同时补充包膜赖氨酸和蛋氨酸或只补充包膜赖氨酸相比对干物质和脂肪的消化率无显著影响,但显著提高了刺参对蛋白质的消化率。本研究中,补充晶体氨基酸对蛋白消化率均有不同程度的提高,但补充微囊氨基酸的效果比晶体氨基酸效果更明显,这可能与饲料中必需氨基酸的平衡以及氨基酸经包被后与饲料中结合态氨基酸在消化道内消化吸收的同步性得到改善有关。

3.3 对罗非鱼体成分的影响

本研究中,花生粕替代50%豆粕蛋白对罗非鱼常规成分及必需氨基酸均无显著影响;补充晶体或微囊氨基酸组鱼体的粗蛋白含量有所升高,脂肪有所降低,表明饲料中补充氨基酸有提高鱼体肌肉蛋白沉积的趋势,这与消化率的结果相一致。饲料中花生粕替代全部豆粕蛋白时罗非鱼(林仕梅等 2008)和草鱼(叶元土等 2005)的体蛋白、脂肪和灰分无明显变化。王吉桥等(2009)对刺参的研究也得出相似的结论。饲料中补充0.2%蛋氨酸对罗非鱼的常规成分和氨基酸组成不产生影响(刘永坚等 2002)。朱选等(2009)认为饲料中氨基酸的补充量波动不大是对鱼体氨基酸组成无明显影响的主要原因。胡亮等(2011)发现饲料中同时补充晶体赖氨酸、蛋氨酸和苏氨酸(有效补充量分别为0.45%、0.41%和0.15%以上时)能显著提高花鲈 *Lateolabrax japonicus* 的蛋白和脂肪含量。这些结果的差异可能是由于鱼的品种、饲料配方结构、氨基酸补充的种类和比例及研究条件不同等因素所致。

4 结论

本研究条件下,饲料中花生粕替代50%豆粕蛋白时,罗非鱼的特定生长率和蛋白质效率显著降低,而饲料系数显著增高。饲料中补充0.25%晶体赖氨酸和0.05%蛋氨酸后,罗非鱼的生长性能和饲料效率无明显改善作用。补充微囊的赖氨酸和蛋氨酸显著提高了罗非鱼的生长速度和其对饲料的蛋白质效率及饲料蛋白的表观消化率,其中补充0.5%微囊赖氨酸和0.1%微囊蛋氨酸可达到与对照组一致的生长效果。

参 考 文 献

- 王冠,冷向军,李小勤,胡斌,王文龙. 2006. 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, 15 (3): 365~369
- 王吉桥,张坤,姜玉声,张剑诚. 2010. 在无藻粉饲料中添加包膜氨基酸对幼刺参生长、消化和免疫指标的影响. 海洋科学, 34 (9): 36~43
- 王吉桥,蒋湘辉,姜玉声,张剑诚. 2009. 在饲料中添加包膜赖氨酸对仿刺参幼参生长、消化和体成分的影响. 水产科学, 28 (5): 241~245
- 王吉桥,程爱香,闫有利,李文宽,闫彦春,祁彩霞. 2010. 混合植物蛋白添加晶体氨基酸替代鱼粉的饲料对花骨鱼种生长和免疫指标的影响. 水产学杂志, 23 (1): 15~23
- 牛化欣,过世东. 2010. 肉骨粉添加微胶囊蛋氨酸替代鱼粉对凡纳滨对虾生长、饲料表观消化率及体成分的影响. 海洋科学, 34 (3): 15~20
- 邓君明,麦康森,艾庆辉,张文兵,王小洁,谭北平. 2007. 不同氨基酸包被方法对牙鲆生长及血浆生化指标的影响. 动物营养学报, 19 (6): 706~713
- 叶元土,蔡春芳,蒋蓉,丁晓峰,伍代勇,郭建林,王永玲,曾端,张宝彤. 2005. 鱼粉、豆粕、菜粕、棉粕、花生粕对草鱼生长和生理机能的影响. 饲料工业, 26 (12): 17~21
- 朱选,曹俊明,许丰孟,陈水春,赵红霞,蓝汉斌. 2009. 饲料中添加赖氨酸及蛋氨酸对罗非鱼生长的影响. 食品与生物技术学报, 28 (4): 466~473
- 刘永坚,田丽霞,刘栋辉,梁桂英,赵小奎,朱选,阳会军,关国强. 2002. 实用饲料补充晶体或包膜赖氨酸对草鱼生长、血清晶体氨基酸和肌肉蛋白质合成率的影响. 水产学报, 26 (3): 252~258
- 刘永坚,刘栋辉,田丽霞,曹俊明. 1999. 草鱼饲料中结晶和包膜赖氨酸的生物效应. 水产学报, 23 (S1): 51~56
- 迟淑艳,林黑着,谭北平,董晓慧,杨奇慧,刘泓宇. 2010. 低鱼粉饲料中添加微胶囊或晶体蛋氨酸对凡纳滨对虾消化酶活性的影响. 现代农业科技, 11: 308~310
- 冷向军,王冠. 2005. 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, 12: 50~52
- 冷向军,罗运仙,李小勤,吴小凤,程思. 2010. 饲料中添加晶体或微囊氨基酸对鲤生长性能的影响. 动物营养学报, 22 (6): 1599~1606
- 张满隆,何小慧. 2001. 鲤鱼饲料中添加赖氨酸的试验. 饲料研究, 6: 31~32
- 林仕梅. 2009. 奥尼罗非鱼对植物蛋白源利用及提高利用率途径的研究. 见: 中国海洋大学硕士研究生学位论文
- 林仕梅,麦康森,谭北平. 2008. 实用饲料中添加结晶蛋氨酸对罗非鱼生长、体组成的影响. 水生生物学报, 32 (5): 741~749
- 罗运仙,谢骏,吕利群,冷向军,李小勤,吴小凤,李忠铭. 2010. 饲料中补充晶体或微囊赖氨酸对草鱼生长和血浆总游离氨基酸的影响. 水产学报, 34 (3): 466~473
- 金胜洁,刘永坚,田丽霞,阳会军,梁桂英. 2010. 不同蛋白水平下添加晶体氨基酸对罗非鱼生长和饲料利用的影响. 水产学报, 34 (9): 1429~1438
- 周贤君,解启超,谢从新,雷武,朱晓鸣. 2006. 异育银鲫幼鱼对饲料中赖氨酸的利用及需要量研究. 水生生物学报, 30 (3): 247~255
- 郑宗林,宋宏斌,赵永志,戴业岭,袁丹,闫修君. 2009. 不同缓释处理氨基酸在异育银鲫饲料中的利用效率研究. 饲料工业, 30 (8): 28~30
- 胡亮,薛敏,王彬,吴秀峰,郑银桦,王嘉. 2011. 晶体氨基酸提高混合动物蛋白替代花鲈饲料中鱼粉的潜力. 水产学报, 35 (2): 268~275
- 赵红霞,曹俊明,朱选,陈水春. 2009. 水产动物对饲料中晶体氨基酸利用的研究进展. 现代渔业信息, 24 (2): 3~7
- 侯鑫,梁桂英,阳会军,刘永坚,田丽霞. 2009. 杂交罗非鱼饲料中豆粕、发酵豆粕和晶体氨基酸替代鱼粉的研究. 南方水产, 5 (2): 28~33

- 谭芳芳,叶元土,肖顺应,马红,李宾. 2010. 补充微囊赖氨酸和蛋氨酸对草鱼生长性能的影响. 动物营养学报, 22(3):804~810
- Alam, M. S., Teshima, S., Koshio, S., Ishikawa, M., Uyan, O., Hector, L., Hernandez, H., and Michael, F. R. 2005. Supplemental effects of coated methionine and/or lysine to soy protein isolate diet for juvenile kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus*. Aquaculture, 248(1-4):13~19
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1995. Official Methods of Analysis of Official Analytical Chemists International, 16th Ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA
- Aoki, H., Akimoto, A., and Watanabe, T. 2001. Periodical changes of plasma free amino acid levels and feed digesta in yellowtail after feeding non-fishmeal diets with or without supplemental crystalline amino acids. Fisheries Science, 67(4):614~618
- Austreng, E. 1978. Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from different segments of the gastrointestinal tract. Aquaculture, 13(3):265~272
- Baker, D. H. 2009. Advances in protein-amino acid nutrition of poultry. Amino Acids, 37(1):29~41
- Cheng, Z. J., Hardy, R. W., and Usry, J. L. 2003. Effect of lysine supplementation in a plant protein-based diets on the performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and apparent digestibility coefficients of nutrients. Aquaculture, 215(1-4):255~265
- Day, O. J., and Plaseencia Gonzalez, H. Q. 2000. Soybean protein concentrate as a protein source for turbot *Scophthalmus maximus* L. Aquaculture Nutrition, 6(4):221~228
- El-Dahhar, A. A., and El-Shazly, K. 1993. Effect of essential amino acids (methionine and lysine) and treated oil in fish diet on growth performance and feed utilization of Nile tilapia, *Tilapia nilotica* (L.). Aquaculture and Fisheries Management, 24(6):731~739
- Fox, J. M., Lawrence, A. L., and Li-Chan, E. 1995. Dietary requirement for lysine by juvenile *Penaeus vannamei* using intact and amino acid sources. Aquaculture, 131(3-4):279~290
- Gonzales, J. M., Hutson, A. H., Rosinski, M. E., Brown, P. B., Wu, Y. V., and Powless, P. F. 2007. Evaluation of fish meal-free diets for first feeding Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Journal of Applied Aquaculture, 19(3):89~99
- Halver, J. E., and Hardy, R. W. 2002. Fish nutrition (3rd edition). Academic Press, New York, 824
- Hauler, R. C., and Carter, C. G. 2001. Reevaluation of the quantitative dietary lysine requirements of fish. Reviews in Fisheries Science, 9(3):133~163
- Khan, M. A., Jafri, A. K., Chadha, N. K., and Usmani, N. 2003. Growth and body composition of rohu (*Labeo rohita*) fed diets containing oil-seed meals; partial or total replacement of fish meal with soybean meal. Aquaculture Nutrition, 9(6):391~396
- Li, P., Mai, K., Trushenski, J., and Wu, G. Y. 2009. New developments in fish amino acid nutrition; towards functional and environmentally oriented aquafeeds. Amino Acids, 37(1):43~53
- Li, X. L., Rezaei, R., Li, P., and Wu, G. Y. 2011. Composition of amino acids in feed ingredients for animal diets. Amino Acids, 40(4):1159~1168
- Manuel, A. S. Q., and Reigh, R. C. 2004. Coating crystalline methionine with tripalmitin polyvinyl alcohol slows its absorption in the intestine of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture, 238(1-4):355~367
- Maynard, L. A., and Loosli, J. K. 1969. Animal Nutrition, 6th Edition. McGraw-Hill, New York, NY
- Murai, T., Akiyama, T., and Ogata, H. 1982. Effect of coating amino acids with casein supplemented to gelatin diet on plasma free amino acids of carp. Bulletin of the Japanese Society Science Fisheries, 48:703~710
- Nang Thu, T. T., Parkouda, C., Saeger, S., Larondellea, Y., and Rollin, X. 2007. Comparison of the lysine utilization efficiency in different plant protein sources supplemented with L-lysine HCl in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. Aquaculture, 272(1-4):477~488
- NRC (National Research Council). 1993. Nutrient requirements of fish. National Academy Press, Washington D. C.
- Riche, M., Trotter, N. L., Ku, P. K., and Garling, D. L. 2001. Apparent digestibility of crude protein and apparent availability of individual amino acids in tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed phytase pretreated soybean meal diets. Fish Physiology and Biochemistry, 25(3):181~194
- Robinson, E. H. 1991. Improvement of cottonseed meal protein with supplemental lysine in feeds for channel catfish. Journal of Applied Aquaculture, 1(2):1~14
- Teshima, S., Kanazawa, A., Ishikawa, M. et al. 1993. Metabolism of dietary crystalline amino acids in Tilapia. In: Collie, M. R. and McVey, J. P. (Eds.) Proceedings of the 20th US - Japan Symposium on Aquaculture Nutrition, NOAA, US Department of Commerce, 73~83
- Wu, G. Y. 2009. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. Amino Acids, 37(1):1~17
- Wu, Y. V., Rosati, R. R., and Brown, P. B. 1998. Effects of lysine on growth of tilapia fed diets rich in corn gluten meal. Cereal Chemistry, 75(6):771~774
- Zarate, D. D., and Lovell, R. T. 1997. Bioavailability of free vs. protein bound lysine in practical diets for young channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Aquaculture, 159(1-2):87~100
- Zarate, D. D., and Lovell, R. T. 1999. 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*. Aquaculture Nutrition, 5(1):17~22
- Zhou, X. Q., Zhao, C. R., and Lin, Y. 2007. Compare the effect of diet supplementation with uncoated or coated lysine on juvenile Jian Carp (*Cyprinus carpio* Var. Jian). Aquaculture Nutrition, 13(6):457~461