

网络出版时间:2013-09-22 16:57

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20130922.1657.007.html>

不同钴源对草鱼生长性能、组织钴含量和 部分血清指标的影响

吴 凡,袁丹宁,文 华,蒋 明,刘 伟,田 娟

(中国水产科学研究院 长江水产研究所,湖北 武汉 430223)

【摘 要】 【目的】研究不同钴源对草鱼幼鱼生长性能、组织钴含量及部分血清指标的影响,筛选草鱼饲料中适宜的钴源。**【方法】**选取初始体质量为 (8.63 ± 1.14) g 的草鱼幼鱼,随机分成 4 组,每组设置 3 个重复,每个重复 40 尾,分别饲喂添加氯化钴、碳酸钴、乙酸钴和氧化钴 4 种钴源(钴的添加量为 0.20 mg/kg)的试验日粮,养殖 70 d 后,测定草鱼的生长性能、不同组织钴含量及部分血清指标。**【结果】**氯化钴组草鱼的特定生长率和体质量增加率显著高于氧化钴组和乙酸钴组,饲料系数显著低于氧化钴组和乙酸钴组,蛋白质效率显著高于乙酸钴组($P < 0.05$),不同钴源对草鱼的成活率无显著影响($P > 0.05$);氯化钴组草鱼的肝脏、肾脏和肌肉钴含量均最小,显著低于氧化钴组($P < 0.05$),不同钴源组间草鱼肠道钴含量无显著差异($P > 0.05$);血清 $V_{B_{12}}$ 和叶酸浓度均以氯化钴组最高,碳酸钴组稍低,氧化钴和乙酸钴组显著下降($P < 0.05$),4 个钴源组血清总蛋白质量浓度和葡萄糖浓度均未表现出显著差异($P > 0.05$)。**【结论】**氯化钴对草鱼生长性能、组织钴含量及血清指标的影响效果最为明显,其次为碳酸钴,两者均优于乙酸钴和氧化钴。

【关键词】 草鱼;钴;生长性能;组织钴含量;血清指标

【中图分类号】 S965.112.73

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2013)10-0009-05

Influence of cobalt sources on growth performance, Co concentration in tissues and serum parameters in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*)

WU Fan, YUAN Dan-ning, WEN Hua, JIANG Ming, LIU Wei, TIAN Juan

(Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan, Hubei 430223, China)

Abstract: 【Objective】 This experiment aimed at studying the effects of different Co sources on growth performance, Co concentration in tissues and serum parameters in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*), to screen the appropriate Co sources in the diet for grass carp. **【Method】** Co chloride, Co carbonate, Co acetate or Co oxide were added to the basal diet at the level of 0.20 mg/kg. Each experiment diet was randomly assigned to triplicate ($N=40$ fish/replicate) with initial body weights of (8.63 ± 1.14) g for 70 days. **【Result】** The juvenile grass carps fed with diets supplemented with Co chloride had significantly increase in weight gain rate (WGR), specific growth rate (SGR) and protein efficiency ratio (PER), and had significantly decrease in feed conversion rate (FCR) compared to the groups fed with diets supplemented with Co acetate or Co oxide ($P < 0.05$). There was no significant difference in survival rate among groups ($P > 0.05$). When the juveniles were fed with diet supplemented with Co chloride, Co concentra-

【收稿日期】 2012-12-06

【基金项目】 国家公益性行业(农业)科研专项(201003020)

【作者简介】 吴 凡(1981—),女,湖北荆州人,助理研究员,主要从事鱼类营养与饲料研究。E-mail: wufan58@126.com

【通信作者】 文 华(1965—),男,湖北荆州人,研究员,主要从事水产动物营养与饲料研究。E-mail: wenhua_hb@163.com

tions in liver,kidney and muscle were lower than the juveniles fed with diets supplemented with Co oxide ($P<0.05$). There was no significant difference in intestine Co concentration among groups ($P>0.05$). The concentration of serum Vitamin B₁₂ (V_{B₁₂}) was equivalent between Co chloride and Co carbonate groups, whereas in Co chloride group it was significantly higher than in Co acetate or Co oxide groups ($P<0.05$). The tendency of serum folic acid content was similar as serum content in these groups ($P<0.05$). However,serum concentrations of glucose and total protein could not be used to assess Co status ($P>0.05$).**【Conclusion】** Co chloride is more available than other three Co sources based on growth performance,Co concentration in tissues and serum parameters in juvenile grass carp.

Key words:*Ctenopharyngodon idellus*;cobalt;growth performance;Co concentration in tissues;serum parameters

钴是动物必需的微量营养元素,是维生素 B₁₂ (V_{B₁₂})的构成成分,参与机体的造血过程;同时参与机体酶的组成和酶的活化,从而调节蛋白质、脂肪和碳水化合物等营养物质的代谢^[1]。水产动物缺钴时容易出现食欲减退、生长受阻、V_{B₁₂}合成下降、血红蛋白含量下降等症状^[2-3]。作为饲料添加剂的含钴化合物种类较多,研究不同钴源的生物学效应,对合理、有效地利用钴添加剂有重要意义。目前对不同钴源的利用研究多集中于反刍动物^[4-6],在水产动物上仅见对凡纳滨对虾有研究^[7]。草鱼作为我国重要的淡水养殖经济鱼类,其营养需要及饲料配方研制一直都是研究的热点。研究表明,草鱼饲料中钴的适宜添加量为 0.20 mg/kg,该剂量可使草鱼保持最佳的生长性能和组织钴累积水平^[8]。但截止目前,尚未见关于草鱼对不同形式钴源利用效果的研究报道。本试验将 4 种不同钴源以草鱼适宜需要量添加到饲料中,考察其对草鱼生长性能、组织钴沉积量和

部分血清指标的影响,探讨不同钴源对草鱼的营养效果,旨在为生产实践中选择适宜的钴源提供理论依据和技术参考。

1 材料与方法

1.1 试验饲料

分别以氯化钴 (CoCl₂ · 6H₂O)、碳酸钴 (CoCO₃)、乙酸钴 (Co(CH₃COO)₂ · 4H₂O)和氧化钴 (Co₃O₄)作为钴源配制 4 种饲料,基础饲料配方见表 1。以钴的添加量为 0.20 mg/kg 分别计算 4 种钴源的添加量,利用微晶纤维素作为载体分别配制成 4 种钴预混料,然后再与其他原料混合,用制粒机加工成 2 mm 粒径的颗粒饲料,常温风干,储存于一 20 ℃ 冰箱中备用。用火焰原子吸收光谱法 (GB/T 13884—2003)测定各组饲料中的钴含量,其含量在 0.20~0.22 mg/kg。

表 1 草鱼基础饲料配方及其营养水平

Table 1 Composition and nutrient level of basic diets for grass carp

成分 Ingredient	含量 Content	营养成分 Proximate composition	含量 Content
酪蛋白 Casein	400.0	粗蛋白质 Crude protein	369.1
明胶 Gelatin	60.0	粗脂肪 Crude lipid	87.6
糊精 Dextrine	340.0	粗灰分 Crude ash	64.3
鱼油 Fish oil	35.0	水分 Moisture	138.0
玉米油 Corn oil	35.0		
微晶纤维素 Micro-cellulose	60.0		
维生素预混料 Vitamin premix	10.0		
无机盐预混料 Vitamin premix	50.0		
氯化胆碱 Choline chloride	5.0		
钴预混料 Co premix	5.0		

注:维生素预混料向每 kg 基础饲料提供:维生素 A 4 500 IU,维生素 D 1 000 IU,维生素 E 100 mg,维生素 K₃ 5 mg,维生素 B₁ 10 mg,维生素 B₂ 20 mg,维生素 B₆ 10 mg,烟酸 150 mg,维生素 C 400 mg,泛酸钙 100 mg,叶酸 5 mg,生物素 1 mg,肌醇 500 mg,维生素 B₁₂ 0.05 mg;无机盐预混料采用获野珍吉的配方^[9],不添加钴。

Note:Vitamin premix provided per kilogram of basic diets:V_A 4 500 IU,V_D 1 000 IU,V_E 100 mg,V_{K₃} 5 mg,V_{B₁} 10 mg,V_{B₂} 20 mg,V_{B₆} 10 mg,niacin 150 mg,vitamin C 400 mg,calcium pantothenate 100 mg,folic acid 5 mg,biotin 1 mg,inositol 500 mg,V_{B₁₂} 0.05 mg;Mineral premix from Ogino^[9],no cobalt.

1.2 试验鱼及其饲养管理

供试当年的草鱼鱼种,由长江水产研究所鱼类育种实验场繁育。正式试验前暂养于养殖缸中,药浴消毒,并用不添加钴源的基础饲料驯养 2 周,使之逐渐适应试验环境。正式试验时,先将试验鱼饥饿 24 h,选出体格健康、无畸形、体质量为 (8.63 ± 1.14) g 的草鱼幼鱼 480 尾,放养于 12 个 400 L 的养殖桶中,每桶 40 尾,然后随机分成 4 组,每组设 3 个重复,分别投喂 4 组试验饲料,按饱食量投喂,每天 3 次(09:00,13:00,17:00)投饵,每 2 周称体质量 1 次,养殖试验持续 70 d,每日记录水温、草鱼摄食及死亡情况。养殖试验期间,保持微流水(水源为曝气后的井水与湖水的混合水,供水量为 $0.5 \sim 2.0$ L/min),每天吸污换水,溶解氧不低于 5.0 mg/L,水温为 (25.2 ± 3.1) $^{\circ}\text{C}$,pH 约为 7.0。

1.3 取样与指标测定

养殖试验结束后空腹 24 h,测定每桶试验鱼的体质量,计算特定生长率 SGR (Special growth rate, %/d)、体质量增加率 WGR (Weight gain rate, %)及饲料系数 FCR (Feed conversion rate);统计各组鱼的死亡情况,计算成活率 SR (Survival rate, %);每桶随机取 3 尾鱼,用于全鱼粗蛋白含量的测定,计算蛋白质效率 PER (Protein efficiency ratio)。计算公式如下:

$$\text{SGR}=(\ln W_t-\ln W_0)/t\times 100\%,$$
$$\text{WGR}=(W_t-W_0)/W_0\times 100\%,$$
$$\text{FCR}=W_f/(TW_t-TW_0),$$
$$\text{PER}=(W_t-W_0)/(W_f\times N_p),$$
$$\text{SR}=N_f/N_i\times 100\%.$$

式中: W_t 为试验第 t 天时的体质量(g), W_0 为初始体质量(g), W_f 为投喂饲料总量, TW_t 为试验第 t

天时的鱼体总质量(g), TW_0 为试验初始时的鱼体总质量(g), N_p 为饲料中的蛋白含量, N_f 为终末尾数, N_i 为初始尾数。

每桶随机取 3 尾鱼解剖,取肝脏、肾脏、肠道和肌肉样品。肝脏与肾脏样品用无菌生理盐水清洗血污,肠道样品剪开后用无菌生理盐水冲洗内容物,然后以干净滤纸吸干水分,将 3 尾鱼的样品混合在一起,用于钴含量的测定。每桶随机取 6 尾鱼进行尾静脉采血,制备血清,用于血清指标的测定。采用凯氏定氮法^[10]测定饲料和全鱼的粗蛋白质含量,采用石墨炉原子吸收光谱法^[8]测定组织中钴的含量,采用 OLYMPUS AU600 型全自动生化分析仪分析血清中的 $V_{B_{12}}$ 、叶酸、血糖和总蛋白含量。

1.4 数据处理

各项试验数据均采用 STATISTICA 6.0 统计软件中的 one-way ANOVA 方差分析法进行分析,并采用 Duncan 氏多重比较法分析试验结果的差异显著性, $P<0.05$ 即认为有显著差异,所有试验数据用“平均值±标准偏差”表示。

2 结果与分析

2.1 不同钴源对草鱼幼鱼生长性能和饲料利用的影响

饲料中添加不同钴源对草鱼生长性能和饲料利用的影响见表 2。由表 2 可知,氯化钴组的特定生长率和体质量增加率均显著高于乙酸钴组和氧化钴组,饲料系数显著低于乙酸钴组和氧化钴组,蛋白质效率显著高于乙酸钴组($P<0.05$),碳酸钴组各指标与其他钴源组无显著差异,不同钴源对草鱼的成活率均无显著影响($P>0.05$)。

表 2 不同钴源对草鱼幼鱼生长性能和饲料利用的影响

钴源 Cobalt sources	初始体质量/g Initial weight	终末质量/g Final weight	体质量 增加率/% WGR	特定生长率/ (%·d ⁻¹) SGR	饲料系数 FCR	蛋白质效率 PER	成活率/% SR
CoCl ₂ ·6H ₂ O	7.86±1.30	36.20±3.31	372.05±19.44 a	2.19±0.13 a	1.30±0.08 a	2.03±0.03 a	87.46±11.77
CoCO ₃	8.57±0.73	36.65±4.53	330.96±32.53 ab	2.07±0.07 ab	1.38±0.09 ab	1.92±0.17 ab	86.71±2.85
Co(CH ₃ COO) ₂ ·4H ₂ O	8.83±0.69	33.47±3.23	278.89±29.39 b	1.90±0.11 bc	1.47±0.05 b	1.71±0.08 b	89.56±10.17
Co ₃ O ₄	9.26±1.69	33.66±0.88	272.19±70.55	1.86±0.10 cb	1.47±0.07 b	1.83±0.16 ab	88.85±9.70

注: 同列数据后标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下表同。
Notes: Values in same column with different letters mean significant differences ($P<0.05$). The same below.

2.2 不同钴源对草鱼幼鱼组织钴含量的影响

各试验组鱼体肝脏、肾脏、肌肉和肠道的钴含量见表 3。由表 3 可见,4 种组织中钴含量均表现出氯化钴组<碳酸钴组<乙酸钴组<氧化钴组的趋势;

氧化钴组肝脏、肾脏和肌肉中的钴含量显著高于氯化钴组,其余组间无显著差异;不同钴源组草鱼肠道的钴含量无显著差异($P>0.05$)。

表 3 不同钴源对草鱼幼鱼肝脏、肾脏、肌肉和肠道中钴含量的影响

Table 3 Effect of different Co sources on Co contents in liver,kidney,muscle and intestine of juvenile grass carp

钴源 Cobalt sources	肝脏 Liver	肾脏 Kidney	肌肉 Muscle	肠道 Intestine
CoCl ₂ · 6H ₂ O	0.48±0.02 a	0.61±0.06 a	0.53±0.04 a	0.41±0.03
CoCO ₃	0.52±0.01 ab	0.63±0.06 ab	0.54±0.04 ab	0.42±0.03
Co(CH ₃ COO) ₂ · 4H ₂ O	0.58±0.07 ab	0.68±0.08 ab	0.59±0.04 ab	0.45±0.04
Co ₃ O ₄	0.64±0.10 b	0.72±0.04 b	0.61±0.02 b	0.48±0.06

2.3 不同钴源对草鱼幼鱼部分血清指标的影响

由表 4 可知,血清中的 V_{B₁₂} 浓度,以氯化钴组显著高于乙酸钴组和氧化钴组($P<0.05$),碳酸钴组与乙酸钴组无显著差异($P>0.05$),但显著高于氧化钴组($P<0.05$);血清中的叶酸浓度,以氯化钴组

显著高于其他各试验组($P<0.05$),碳酸钴组显著高于氧化钴组和乙酸钴组($P<0.05$);血清葡萄糖浓度和总蛋白质量浓度在各钴源组间差异均不显著($P>0.05$)。

表 4 不同钴源对草鱼幼鱼血清指标的影响

Table 4 Effect of different Co sources on serum parameter of the juvenile grass carp

钴源 Cobalt sources	V _{B₁₂} /(pmol · L ⁻¹) Vitamin B ₁₂	叶酸/(μmol · L ⁻¹) Folic acid	葡萄糖/(mmol · L ⁻¹) Glucose	总蛋白/(g · L ⁻¹) Total protein
CoCl ₂ · 6H ₂ O	191.65±33.16 a	15.92±1.01 a	4.95±0.41	24.80±0.72
CoCO ₃	175.53±30.73 ab	14.50±0.33 b	5.30±0.87	24.17±0.31
Co(CH ₃ COO) ₂ · 4H ₂ O	129.17±12.17 bc	12.95±0.54 c	5.27±0.66	26.17±0.50
Co ₃ O ₄	120.20±2.97 c	12.75±0.44 c	4.89±0.53	25.80±0.75

3 讨 论

钴是动物体内不可缺少的重要微量元素,除参与 V_{B₁₂} 的合成外,还参与机体的氮吸收及血红蛋白和肌红蛋白的合成^[11]。有研究表明,牙鲈幼鱼饲料中钴的适宜添加量为 0.8 mg/kg^[12]。在中国,对虾饲料中添加 50~75 mg/kg 的钴可以促进生长^[13]。以特定生长率和肾脏钴含量为评价指标时,草鱼幼鱼饲料中钴的添加量以 0.20 mg/kg 为宜^[8]。本试验将饲料中钴的添加量设计为 0.20 mg/kg,以此剂量添加 4 种不同的钴源,经过 10 周的养殖,各钴源对草鱼生长的影响表现出明显差异,添加氯化钴的试验组草鱼生长性能优于其他钴源组,主要表现为特定生长率最高,饲料系数最低,且与乙酸钴组和氧化钴组存在显著差异,表明氯化钴在草鱼促生长方面明显优于乙酸钴和氧化钴。氯化钴组的蛋白质效率也最高,说明氯化钴可能通过提高饲料的蛋白质利用率来提高草鱼幼鱼的生长性能和饲料利用。

许多研究表明,饲料中某种矿物元素含量会影响机体组织中该元素的沉积量,肝脏和肾脏是其主要代谢器官,受饲料含量的影响较大,一般与饲料添加量呈正相关^[14-16]。董晓慧等^[7]研究表明,凡纳滨对虾肝胰腺的钴含量随着饲料中钴添加量的增加而升高;刘伟等^[3]对尼罗罗非鱼的研究也有相似结果。本试验将相同剂量的钴以不同的钴源形式添加

到草鱼饲料中,检测了肝脏、肾脏、肌肉和肠道中钴的含量,结果表明,各试验组草鱼肠道中的钴含量低于其他 3 种组织,说明钴在草鱼肠道组织中蓄积较少。有研究表明,鱼类肠道中的微生物群落能够利用钴合成 V_{B₁₂}^[17],这可能是肠道钴含量低于其他组织的主要原因。而 4 种组织的钴含量最低值都出现在氯化钴组,其肝脏、肾脏和肌肉钴含量显著低于氧化钴组,这可能与氯化钴生物活性高、代谢利用好、合成 V_{B₁₂} 的效率较高有关。对点带石斑鱼的研究表明,饲料钴含量从 0.05 mg/kg 增加到 20.7 mg/kg 时,石斑鱼血浆和肝脏中的 V_{B₁₂} 含量也随之升高,说明饲料中钴含量与 V_{B₁₂} 的合成存在剂量效应^[18]。本试验中氯化钴组的血清 V_{B₁₂} 浓度显著高于氧化钴组,说明氯化钴组利用钴合成了更多的 V_{B₁₂},但这是不是导致其组织中钴蓄积量降低的原因,还需要进一步研究。

钴主要通过 V_{B₁₂} 在体内发挥生物学效应,V_{B₁₂} 参与体内一碳基团的代谢,是传递甲基的辅酶。当 V_{B₁₂} 缺乏时,细胞内 N⁵-甲基四氢叶酸不能转变成其他活性形式的四氢叶酸,从而导致叶酸的功能性缺乏^[19],因此,血液中的 V_{B₁₂} 和叶酸含量被用于评价钴的营养状况^[20]。本试验中氯化钴组的叶酸浓度最高,碳酸钴组次之,乙酸钴和氧化钴组最低,V_{B₁₂} 浓度表现出与叶酸基本一致的变化规律,说明草鱼利用氯化钴产生 V_{B₁₂} 的效率较高,促进了 N⁵-甲基四氢叶酸甲基转

移酶的活性;氧化钴产生 $V_{B_{12}}$ 和叶酸的效率则相对较低。在 $V_{B_{12}}$ 作用下,甲基丙二酰辅酶 A 变位酶催化甲基丙二酰辅酶 A 转变成琥珀酰辅酶 A,给丙酸供能,最终转变为葡萄糖。本研究中各试验组血糖未表现出明显差异,可能有两方面的原因:一是 4 组钴源均提供给草鱼最适的需要量,从一定程度上保障了血糖的稳定;二是试验周期的影响,有研究表明,血糖在钴摄入不足的后期才出现变化^[21]。

本试验结果表明,氯化钴对草鱼幼鱼生长性能、组织钴含量及血液指标的作用效果最为明显,是最佳钴源,其次为碳酸钴,两者均明显优于乙酸钴和氧化钴。

【参考文献】

- [1] McDowell L R. Minerals in animal and human nutrition [M]. 2nd edition. Amsterdam, Netherlands: Academic Press, 2003: 277-296.
- [2] Hertz Y, Madar Z, Hepr B, et al. Glucose metabolism in the common carp (*Cyprinus carpio* L.); The effects of cobalt and chromium [J]. Aquaculture, 1989, 76: 255-267.
- [3] 刘 伟, 文 华, 蒋 明, 等. 尼罗罗非鱼幼鱼饲料中钴需要量的研究 [J]. 湖北农业科学, 2011, 50(19): 4021-4025.
Liu W, Wen H, Jiang M, et al. Dietary cobalt requirements of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2011, 50(19): 4021-4025. (in Chinese)
- [4] Kawashima T, Henry P R, Ammerman C B, et al. Bioavailability of cobalt sources for ruminants; 2. Estimation of the relative value of reagent grade and feed grade cobalt sources from tissue cobalt accumulation and Vitamin B_{12} concentrations [J]. Nutrition Research, 1997, 17: 957-974.
- [5] Kawashima T, Henry P R, Bates D G, et al. Bioavailability of cobalt sources for ruminants. 3: *In vitro* ruminal production of vitamin B_{12} and total corrinoids in response to different cobalt sources and concentrations [J]. Nutrition Research, 1997, 17: 975-987.
- [6] 王润莲, 朱晓萍, 张玉枝, 等. 不同钴源对肉羊 $V_{B_{12}}$ 营养状况的影响及其生物学效应 [J]. 中国农业大学学报, 2006, 11(4): 37-41.
Wang R L, Zhu X P, Zhang Y Z, et al. Influence of cobalt sources on $V_{B_{12}}$ status and their biological functions in sheep [J]. Journal of China Agricultural University, 2006, 11(4): 37-41. (in Chinese)
- [7] 董晓慧, 杨原志, 郑石轩, 等. 不同形式钴对凡纳滨对虾生长和组织钴含量的影响 [J]. 湛江海洋大学学报, 2006, 26(6): 8-12.
Dong X H, Yang Y Z, Zheng S X, et al. Effect of cobalt sources and its supplemental level on growth of *Penaeus vannamei* and Co concentration in selected organs of the shrimp [J]. Journal of Zhanjiang Ocean University, 2006, 26(6): 8-12. (in Chinese)
- [8] 袁丹宁, 文 华, 蒋 明, 等. 草鱼幼鱼对饲料中钴的需要量 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2009, 37(5): 74-80, 88.
- [9] 获野珍吉. 鱼类的营养与饲料 [M]. 北京: 海洋出版社, 1987: 325-326.
Ogino Z J. Fish nutrition and feed [M]. Beijing: China Ocean Press, 1987: 325-326. (in Chinese)
- [10] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. 中华人民共和国国家标准食品卫生检验方法理化部分(一) [M]. 北京: 中国标准出版社, 2004: 27-46.
Ministry of Health of the People's Republic of China, Standardization Administration of the People's Republic of China. Standard methods of food hygienic analysis-physical and chemical section of the People's Republic of China (I) [M]. Beijing: China Standard Press, 2004: 27-46. (in Chinese)
- [11] Watanabe T, Kiron V, Satoh S. Trace minerals in fish nutrition [J]. Aquaculture, 1997, 151(1/2/3/4): 185-207.
- [12] 魏万权, 李爱杰, 李德尚. 牙鲆幼鱼饲料中锰、钴适宜添加量的初步研究 [J]. 浙江海洋学院学报: 自然科学版, 2001, 20(s1): 83-87.
Wei W Q, Li A J, Li D S. Preliminary studies on optimal supplement of manganese and cobalt in the diet for young founder, *Paralichthys olivaceus* [J]. Journal of Zhejiang Ocean University: Natural Science, 2001, 20(s1): 83-87. (in Chinese)
- [13] 梁德海, 刘发义, 孙 凤, 等. 中国对虾对 Co 需要量的研究 [J]. 海洋科学, 1991(3): 12-14.
Liang D H, Liu F Y, Sun F, et al. Cobalt requirements of *Penaeus chinensis* [J]. Marine Science, 1991(3): 12-14. (in Chinese)
- [14] 王维娜, 王安利, 刘存岐, 等. 饵料的铜含量对中国对虾生长及其体内铜、锌和铁含量的影响 [J]. 水产学报, 1997(3): 258-262.
Wang W N, Wang A L, Liu C Q, et al. Effects of copper concentrations in diets on the growth and copper, zinc and iron contents of *Penaeus chinensis* [J]. Journal of Fisheries of China, 1997(3): 258-262. (in Chinese)
- [15] 郭志勋, 陈毕生, 徐力文, 等. 饲料铜的添加量对南美白对虾生长、血液免疫因子及组织铜的影响 [J]. 中国水产科学, 2003, 10(6): 526-528.
Guo Z Q, Chen B S, Xu L W, et al. Effects of dietary copper on growth, immunological factors and tissue copper in *Litopenaeus vannamei* [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2003, 10(6): 526-528. (in Chinese)
- [16] 周立斌, 王安利, 马细兰, 等. 饲料中铁对美国红鱼 (*Sciaenops ocellatus*) 生长和免疫的影响 [J]. 海洋与湖沼, 2009, 40(5): 663-668.
Zhou L B, Wang A L, Ma X L, et al. Effects of dietary iron on growth and immune response of red drum *Sciaenops ocellatus* [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2009, 40(5): 663-668. (in Chinese)