

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2016.15351

蛋氨酸钴对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼生长、矿物元素沉积及肝脏酶活力的影响

刘云^{1,2}, 王际英², 李宝山², 乔洪金², 柳旭东³, 郝甜甜³, 王晓艳^{1,2}

1. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306;

2. 山东省海洋生态修复重点实验室, 山东省海洋资源与环境研究院, 山东 烟台 264006;

3. 山东升索渔用饲料研究中心, 山东 烟台 265500

摘要: 在基础饲料中添加不同梯度的蛋氨酸钴(CoMet), 制成钴含量分别为 0.30 mg/kg、1.75 mg/kg、3.42 mg/kg、6.73 mg/kg、12.56 mg/kg、25.50 mg/kg 的 6 组实验饲料(记作 D1、D2、D3、D4、D5、D6 组), 饲喂初始体重(60.02±0.42) g 的珍珠龙胆石斑鱼(*Epinephelus lanceolatus* ♂×*E. fuscoguttatus* ♀)幼鱼 8 周, 研究蛋氨酸钴对其生长、矿物元素沉积和肝脏酶活力的影响。结果表明, 随饲料中蛋氨酸钴含量的增加, 实验鱼增重率(WGR)和特定生长率(SGR)均先升后降, D3 组显著高于其他组($P<0.05$); 饲料系数(FCR)先降后升, D3、D4 组显著低于其他组($P<0.05$)。蛋氨酸钴对肌肉水分和灰分含量均无显著影响($P>0.05$); 粗蛋白含量呈降低的趋势, D5、D6 组显著低于 D1~D4 组($P<0.05$), 但二者之间无显著差异($P>0.05$); 粗脂肪含量先降后升, D4 组显著低于其他组($P<0.05$), D6 组显著高于其他组($P<0.05$)。肝脏、肠道、脊椎骨及肌肉钴含量均随饲料中蛋氨酸钴的增加而显著增加($P<0.05$); 全鱼钴沉积率呈先升高后平稳的趋势, D1 组显著低于其他组($P<0.05$)。肝脏铁、铜和锌含量随饲料中蛋氨酸钴的增加呈先升后降的趋势; 肝脏锰含量显著降低($P<0.05$)。随饲料中蛋氨酸钴的增加, 肝脏谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)活力先升后降, D5 组显著高于其他组($P<0.05$); D5、D6 组肝脏丙二醛(MDA)含量显著低于其他组($P<0.05$); 肝脏精氨酸酶(DArg)活力随饲料中蛋氨酸钴的增加显著升高($P<0.05$); D4~D6 组肝脏羧肽酶 A(CPA)活力显著高于 D1~D3 组($P<0.05$), 但三组之间无显著差异($P>0.05$)。本实验条件下, 以 SGR 为评价指标, 经折线回归分析, 珍珠龙胆石斑鱼幼鱼对钴的最适需求量为 3.25 mg/kg, 即 53.28 mg(CoMet)/kg(饲料)。

关键词: 珍珠龙胆石斑鱼; 蛋氨酸钴; 生长; 微量元素; 酶活力

中图分类号: S963

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2016)03-0574-10

钴(cobalt)是鱼类必需矿物元素之一, 是 VB₁₂ 重要的活性部分(约占 VB₁₂ 的 4.5%)^[1]。钴有促生长^[2]、造血^[3]、提高繁殖力^[4]和免疫力^[4]等功能, 钴还能以辅酶的形式激活精氨酸酶、羧肽酶 A 等酶的活性, 改善糖和氮的吸收以促进动物生长^[5]。已有研究表明, 点带石斑鱼(*Epinephelus malabaricus*)^[6]、真鲷(*Pagrosomus major*)^[7]、牙鲆(*Para-*

lichthys olivaceus)^[8]对钴的需求量分别为 10 mg/kg、4.3 mg/kg、2.23 mg/kg, 造成差异的原因除了与鱼种、生长阶段和评价指标等因素有关外, 与微量元素形式也密切相关。蛋氨酸钴(cobalt methionine)是一种新型氨基酸螯合剂, 蛋氨酸与钴的螯合比为 2 : 1, 通过氨基酸胞饮式吸收, 缓解微量元素之间吸收的竞争拮抗, 不但大大提高了

收稿日期: 2015-09-08; 修订日期: 2015-10-29.

基金项目: 国家海洋公益性行业专项(201205025, 201205028); 国家海洋生物产业水生动物营养与饲料研发创新示范平台项目(201501005); 国家自然科学基金青年科学基金项目(31201973).

作者简介: 刘云(1991-), 男, 硕士研究生, 从事水生动物营养与饲料科学研究. E-mail: 13391335139@163.com

通信作者: 王际英, 研究员. E-mail: ytwjy@126.com

钴离子的吸收利用率, 还能提高其他微量元素的吸收。鱼的中肠呈碱性, 无机微量元素在碱性条件下溶解度较低, 从而降低了其消化吸收率^[9], 而氨基酸微量元素可直接被吸收^[10]。已有研究表明, 鱼类对有机形式微量元素的利用率高于无机形式微量元素^[10-11]。

珍珠龙胆石斑鱼(*Epinephelus lanceolatu* ♂ × *E. fuscoguttatus* ♀) 隶属于鲷科(Serranidae)、石斑鱼属(*Epinephelus*), 是由鞍带石斑鱼(*E. lanceolatu*) 和棕点石斑鱼(*E. fuscoguttatus*) 杂交而来, 具有生长快速、抗病力强、经济价值高等优势。目前尚未见其钴需求量的研究报道, 因此本研究通过在其饲料中添加不同梯度的蛋氨酸钴, 研究对其生长、矿物元素沉积及肝脏酶活力的影响, 以期为蛋氨酸钴在其饲料中的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验饲料及制备

以鱼粉、酪蛋白为主要蛋白源, 鱼油为主要脂肪源, 设计粗蛋白含量约 51%、粗脂肪含量约 13%的基础饲料。在基础饲料中依次添加 0、1.25 mg/kg、2.5 mg/kg、5 mg/kg、10 mg/kg、20 mg/kg(以钴计) 的蛋氨酸钴(CoMet, 钴含量 6.10%, 化学工业饲料添加剂工程技术中心提供), 制成钴含量为 0.30 mg/kg、1.75 mg/kg、3.42 mg/kg、6.73 mg/kg、12.56 mg/kg、25.50 mg/kg(分别记作 D1、D2、D3、D4、D5、D6 组) 的实验饲料, 实验饲料组成及营养水平见表 1。准确称量各种原料混匀, 加蒸馏水混匀后, 制成直径为 4 mm 和 6 mm 的颗粒饲料, 电热风干、冷却, 封装后保存备用。

表 1 实验饲料组成及营养水平
Tab. 1 Composition and nutrient levels of the experimental diets

项目 item	%干重% dry weight					
	组别 group					
	D1	D2	D3	D4	D5	D6
鱼粉 fish meal	34	34	34	34	34	34
酪蛋白 casein	30	30	30	30	30	30
鱼油 fish oil	7	7	7	7	7	7
α-淀粉 alpha-starch	15	15	15	15	15	15
微晶纤维素 microcrystalline cellulose	8.9500	8.9480	8.9459	8.9418	8.9337	8.9174
大豆卵磷脂 soybean lecithin	1	1	1	1	1	1
氯化胆碱 choline chloride	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
复合维生素 ¹⁾ vitamin mix ¹⁾	1	1	1	1	1	1
无钴复合矿物质 ²⁾ Co-free mineral mix ²⁾	1	1	1	1	1	1
羧甲基纤维素钠 sodium carboxymethylcellulose	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
诱食剂 attractant	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
抗氧化剂 antioxidant	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
蛋氨酸钴/(mg·kg ⁻¹) CoMet	0	20.49	40.98	81.97	163.93	327.87
合计 total	100	100	100	100	100	100
粗蛋白 crude protein	51.42	51.46	51.55	51.39	51.20	50.86
粗脂肪 crude lipid	13.28	13.36	13.50	13.29	13.28	13.81
钴含量/(mg·kg ⁻¹) cobalt content	0.30	1.75	3.42	6.73	12.56	25.50

注: 1) 复合维生素(mg/kg): 维生素 A 38.0, 维生素 D₃ 13.2, 维生素 E 210.0, 维生素 K₃ 10, 硫胺素 115.0, 核黄素 380.0, 盐酸吡哆醇 88.0, 泛酸 368.0, 烟酸 1030.0, 生物素 10.0, 叶酸 20.0, 维生素 B₁₂ 1.3, 肌醇 4000.0, 抗坏血酸 500.0; 2) 无钴复合矿物质(mg/kg): 氯化钠 100.0, 氯化钾 3020.5, 硫酸铝钾 11.3, 七水硫酸锌 363.0, 五水硫酸铜 8.0, 七水硫酸镁 3568.0, 四水硫酸锰 65.1, 亚硒酸钠 2.3, 碘化钾 7.5, 氟化钠 4.0, 二水合磷酸二氢钠 25558.0, 乳酸钙 15978.0, 五水合柠檬酸铁 1523.0。

Note: 1) Vitamin mix (mg/kg): vitamin A 38.0, vitamin D₃ 13.2, vitamin E 210.0, vitamin K₃ 10, thiamin 115.0, riboflavin 380.0, pyridoxine HCl 88.0, pantothenic acid 368.0, niacin acid 1030.0, biotin 10.0, folic acid 20.0, vitamin B₁₂ 1.3, inositol 4000.0, ascorbic acid 500.0; 2) Co-free mineral mix (mg/kg): NaCl 100.0, KCl 3020.5, KAl(SO₄)₂ 11.3, ZnSO₄·7H₂O 363.0, CuSO₄·5H₂O 8.0, MgSO₄·7H₂O 3568.0, MnSO₄·4H₂O 65.1, Na₂SeO₃ 2.3, KI 7.5, NaF 4.0, NaH₂PO₄·2H₂O 25558.0, Ca-lactate 15978.0, FeC₆H₅O₇·5H₂O 1523.0。

1.2 饲养管理

实验鱼购自莱州明波水产有限公司, 养殖实验在山东省海洋资源与环境研究院东营实验基地循环水养殖系统中进行。实验开始前, 800 尾实验鱼暂养于水深 55 cm 的蓝色圆柱形桶(直径 90 cm、高 60 cm)中, 使其适应养殖环境及实验饲料, 期间投喂 D1 组饲料。21 d 后挑选大小均匀、体质健壮的幼鱼 360 尾随机置于 18 个实验桶内, 每桶 20 尾, 每组饲料投喂 3 桶。每天投喂两次(8:30, 16:30), 投饵量为鱼初始体重的 1.5%, 并根据摄食情况调整投饵量。投饵 0.5 h 后, 从桶下排水口排出残饵, 并记录残饵量。养殖期间控制水流速 2 L/min、盐度 29~32、水温(26±1)℃、溶氧>7 mg/L、氨氮<0.10 mg/L、pH 7.80±0.20, 养殖 8 周。

1.3 样品采集

实验前随机取 5 尾用于初始鱼分析。实验结束后, 禁食 24 h, 称总重。实验鱼用 MS-222 (10 mg/L) 麻醉后, 每桶随机取 15 尾, 测体重、体长。其中 5 尾用作全鱼分析, 剩余 10 尾分离内脏, 取肠道、肝, 分离背肌, 将解剖后的鱼微波炉煮后取脊椎骨。所有样品-20℃保存, 待测。

1.4 样品分析

1.4.1 指标计算

增重率(WGR, %)=(终末体重-初始体重)/初始体重×100;

特定生长率(SGR, %/d)=(ln 终末体重-ln 初始体重)/养殖天数×100;

蛋白质效率(PER)=(终末体重-初始体重)/(摄食饲料总质量×饲料粗蛋白含量);

饲料系数(FCR)=摄食饲料总质量/(终末体重-初始体重);

存活率(SR, %)=成活尾数/总尾数×100;

肝体比(HSI, %)=肝脏质量/终末体重×100;

脏体比(VSI, %)=内脏质量/终末体重×100;

肥满度(CF, %)=终末体重/(终末体长³)×100;

全鱼钴沉积率(%)=(终末体重×终末全鱼钴含量-初始体重×初始全鱼钴含量)×鱼尾数/(总摄食量×饲料钴含量)×100

1.4.2 常规分析 水分用 105℃烘干恒重法测定(GB/T 6435—2006); 粗蛋白用杜马斯燃烧法测定(LECO FP-528); 粗脂肪用索氏抽提法测定(GB/T 6433—2006); 粗灰分用马弗炉 550℃灼烧法测定(GB/T 6433—2007)。

1.4.3 元素分析 将饲料、全鱼、肌肉、肝、肠道、脊椎骨烘干, 粉碎, 经索氏抽提器除去脂肪, 再烘干得到干物质样品, 准确称取以上干物质样品 0.1~0.2 g, 放入消化管后加硝酸, 微波消解后, 用超纯水定容, 用电感耦合等离子体质谱仪(Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer 7500ce, Agilent Technologies, USA)分析。

1.4.4 酶活分析 肝脏总抗氧化能力(T-AOC)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)活力和丙二醛(MDA)含量用南京建成生物工程研究所试剂盒测定。肝脏精氨酸酶(DArg)、羧肽酶 A (CPA)活力用上海酶联实业有限公司试剂盒测定。

1.5 数据统计

采用 SPSS 17.0 作单因素方差分析(one-way ANOVA), 处理间若差异显著, 再作 Duncan's 多重比较, $P<0.05$ 表示差异显著。统计数据以平均值±标准差($\bar{x}\pm SD$)表示。

2 结果与分析

2.1 蛋氨酸钴对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼生长和形体指标的影响

由表 2 可知, 随饲料钴含量的增加, 增重率、特定生长率呈先升后降的趋势, D3 组显著高于其他组($P<0.05$), 比 D1 组分别提高了 20.34%、12.56%, D6 组显著低于其他组($P<0.05$)。D3 组蛋白质效率比 D1 组提高了 15.90%, D6 组显著低于其他组($P<0.05$)。饲料系数随饲料钴含量的增加呈先降后升的趋势, D3 组与 D4 组差异不显著($P>0.05$), D6 组显著高于其他组($P<0.05$)。

蛋氨酸钴对实验鱼的存活率、脏体比无显著影响($P>0.05$)。D3 组与 D6 组肝体比高于其他组($P<0.05$), 但二者差异不显著($P>0.05$)。D3 组肥满度显著高于其他组($P<0.05$), 其他组差异不显著($P>0.05$)。

表 2 蛋氨酸钴对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼生长和形体指标的影响

Tab. 2 Effects of dietary CoMet on growth and physical indicators of juvenile pearl gentian grouper (*Epinephelus lanceolatu* ♂×*E. fuscoguttatus* ♀)

项目 item	组别 group					
	D1	D2	D3	D4	D5	D6
初重/g initial body weight	60.23±0.18	60.16±0.10	59.94±0.28	60.02±0.15	59.90±0.27	59.85±0.25
末重/g final body weight	152.41±0.98 ^b	161.69±2.08 ^d	170.33±1.43 ^f	165.50±0.95 ^e	155.98±2.25 ^e	141.74±1.43 ^a
增重率/% WGR	153.05±1.45 ^b	168.74±3.02 ^d	184.18±1.07 ^f	175.75±2.17 ^e	160.41±3.15 ^e	136.84±3.08 ^a
特定生长率/(%·d ⁻¹) SGR	1.66±0.01 ^b	1.77±0.02 ^d	1.87±0.01 ^f	1.81±0.01 ^e	1.71±0.02 ^e	1.54±0.02 ^a
蛋白质效率 PER	2.39±0.03 ^b	2.58±0.03 ^c	2.77±0.08 ^d	2.81±0.18 ^d	2.55±0.08 ^{bc}	2.13±0.05 ^a
饲料系数 FCR	0.81±0.01 ^c	0.75±0.01 ^b	0.70±0.02 ^a	0.70±0.05 ^a	0.77±0.02 ^b	0.92±0.02 ^d
存活率/% SR	100	100	100	100	100	100
脏体比/% VSI	10.39±0.03	10.82±0.24	11.05±0.47	11.03±0.06	10.98±0.04	10.69±0.34
肝体比/% HSI	3.98±0.14 ^a	3.99±0.07 ^a	4.56±0.06 ^c	4.24±0.14 ^{ab}	4.20±0.27 ^{ab}	4.42±0.03 ^{bc}
肥满度/% CF	3.14±0.02 ^a	3.24±0.07 ^a	3.66±0.11 ^b	3.20±0.19 ^a	3.17±0.17 ^a	3.16±0.03 ^a

注: 同行数值的上标英文字母不同表示差异显著($P<0.05$).

Note: Values in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

以特定生长率为评价指标, 经折线回归分析, 体重(60.02±0.42) g 的珍珠龙胆石斑鱼幼鱼对钴的最佳需求量为 3.25 mg/kg [53.28 mg (CoMet)/kg(饲料), 图 1]。

2.2 蛋氨酸钴对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼肌肉组成的影响

由表 3 可知, 蛋氨酸钴对肌肉水分和灰分含量均无显著影响($P>0.05$)。粗蛋白含量呈降低的趋势, D5 组与 D6 组均显著低于 D1~D4 组($P<0.05$), 但二者无显著差异($P>0.05$)。粗脂肪含量呈先降后

升的趋势, D6 组显著高于其他组($P<0.05$), D4 组显著低于其他组($P<0.05$)。

2.3 蛋氨酸钴对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼组织钴含量和全鱼钴沉积率的影响

由表 4 可知, 随饲料钴含量的增加, 肝脏、肠道、脊椎骨及肌肉钴含量均显著升高($P<0.05$), D6 组最高, 比 D1 组相应组织分别提高了 5.68 倍、11.50 倍、10.00 倍和 25.00 倍。

随饲料钴含量的增加, 全鱼钴沉积率呈先升高后平稳的趋势, D1 组显著低于其他组($P<0.05$),

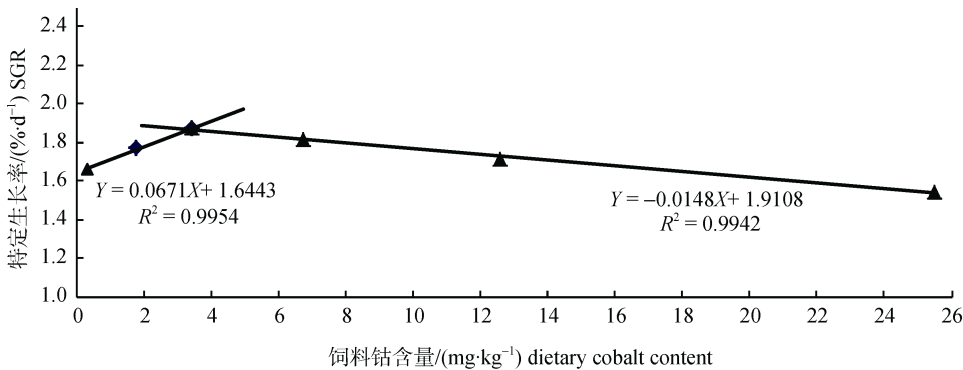


图 1 饲料钴含量对珍珠龙胆石斑鱼特定生长率影响的回归分析

Fig. 1 Regression analysis between dietary cobalt content and SGR of pearl gentian grouper (*Epinephelus lanceolatu* ♂×*E. fuscoguttatus* ♀)

D6 组与 D5 组差异不显著($P>0.05$)。线回归分析表明, 钴在组织中沉积的优先顺序由图 2 可知, 饲料钴含量和组织钴含量的直高到低依次为肝、肠道、脊椎骨、肌肉。

表 3 蛋氨酸钴对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼肌肉组成的影响
Tab. 3 Effects of dietary CoMet on muscle composition of juvenile pearl gentian grouper (*Epinephelus lanceolatu* ♂×*E. fuscoguttatus* ♀)

n=3; $\bar{x} \pm \text{SD}$; %鲜重 % wet weight

项目 item	组别 group					
	D1	D2	D3	D4	D5	D6
水分 moisture	74.05±0.06	74.23±0.08	74.17±0.26	74.17±0.32	74.42±0.27	74.26±0.82
粗蛋白 crude protein	22.31±0.03 ^c	22.16±0.08 ^{bc}	22.08±0.13 ^b	22.07±0.05 ^b	21.49±0.15 ^a	21.38±0.14 ^a
粗脂肪 crude lipid	2.83±0.13 ^c	2.65±0.06 ^b	2.63±0.01 ^b	2.40±0.04 ^a	2.60±0.03 ^b	3.45±0.08 ^d
灰分 ash	1.47±0.01	1.51±0.05	1.51±0.01	1.49±0.01	1.46±0.03	1.49±0.04

注: 同行数值的上标英文字母不同表示差异显著($P<0.05$).
Note: Values in the same row with different superscripts show significant difference ($P<0.05$).

表 4 蛋氨酸钴对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼组织钴含量和全鱼钴沉积率的影响
Tab. 4 Effects of dietary CoMet on Co content in tissues and Co deposition rate in whole body of juvenile pearl gentian grouper(*Epinephelus lanceolatu* ♂×*E. fuscoguttatus* ♀)

n=3; $\bar{x} \pm \text{SD}$

项目 item	组别 group					
	D1	D2	D3	D4	D5	D6
肝脏钴含量/(mg·kg ⁻¹) cobalt content in liver	0.34±0.02 ^a	0.46±0.02 ^b	0.62±0.06 ^c	0.68±0.04 ^c	1.11±0.02 ^d	2.27±0.05 ^e
肠道钴含量/(mg·kg ⁻¹) cobalt content in intestine	0.14±0.01 ^a	0.20±0.02 ^b	0.31±0.01 ^c	0.44±0.00 ^d	0.80±0.03 ^e	1.75±0.05 ^f
脊椎骨钴含量/(mg·kg ⁻¹) cobalt content in vertebra	0.06±0.00 ^a	0.09±0.00 ^b	0.12±0.00 ^c	0.19±0.00 ^d	0.32±0.01 ^e	0.66±0.01 ^f
肌肉钴含量/(mg·kg ⁻¹) cobalt content in muscle	0.01±0.00 ^a	0.02±0.00 ^{ab}	0.03±0.00 ^b	0.06±0.01 ^c	0.12±0.01 ^d	0.26±0.02 ^e
全鱼钴沉积率/% cobalt deposition rate in whole body	-46.83±0.23 ^a	-4.58±0.39 ^b	-0.19±0.02 ^c	2.94±0.14 ^d	4.20±0.28 ^e	4.23±0.25 ^e

注: 同行数值的上标英文字母不同表示差异显著($P<0.05$).
Note: Values in the same row with different superscripts show significant difference ($P<0.05$).

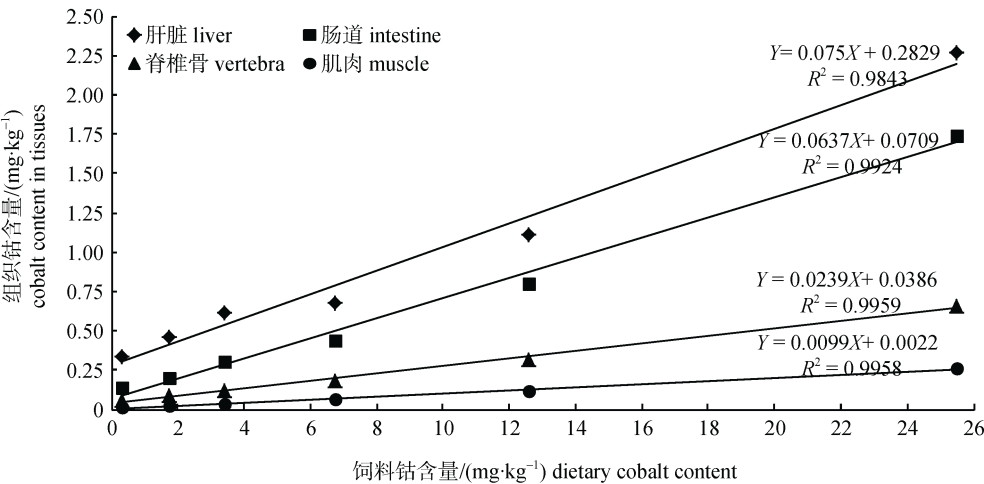


图 2 饲料钴含量对珍珠龙胆石斑鱼组织钴含量影响的回归分析

Fig. 2 Regression analysis between dietary cobalt content and cobalt content in tissues of pearl gentian grouper (*Epinephelus lanceolatu* ♂×*E. fuscoguttatus* ♀)

2.4 蛋氨酸钴对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼肝脏矿物元素含量的影响

分别比 D1 组提高了 13.72%、50.09%、11.82%。随饲料钴含量的增加, 肝脏锰含量显著降低 ($P<0.05$), D6 组肝脏锰含量比 D1 组降低了 45.60%。

由表 5 可知, 肝脏铁、铜和锌含量均随饲料钴含量的增加呈先升后降的趋势, D3 组最高,

表 5 蛋氨酸钴对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼肝脏矿物元素含量的影响
Tab. 5 Effects of dietary CoMet on mineral element concentration in liver of juvenile pearl gentian grouper (*Epinephelus lanceolatu* ♂×*E. fuscoguttatus* ♀)

n=3; $\bar{x} \pm SD$; mg·kg⁻¹

微量元素 mineral element	组别 group					
	D1	D2	D3	D4	D5	D6
铁 iron	278.27±4.53 ^c	295.03±6.91 ^d	316.45±4.97 ^e	226.59±3.06 ^b	221.80±4.71 ^b	164.40±5.88 ^a
铜 copper	21.76±1.12 ^a	26.02±2.32 ^c	32.66±1.74 ^d	27.11±1.80 ^c	25.13±1.15 ^{bc}	23.07±0.88 ^{ab}
锌 zinc	70.96±2.46 ^c	74.97±2.55 ^{cd}	79.35±2.06 ^d	61.14±4.08 ^b	61.07±3.32 ^b	53.80±4.29 ^a
锰 manganese	1.25±0.03 ^d	1.20±0.01 ^{cd}	1.18±0.01 ^c	0.82±0.03 ^b	0.81±0.03 ^b	0.68±0.02 ^a

注: 同行数值的上标英文字母不同表示差异显著 ($P<0.05$).
Note: Values in the same row with different superscripts show significant difference ($P<0.05$).

2.5 蛋氨酸钴对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼肝脏酶活力的影响

无显著差异 ($P>0.05$), D6 组与 D5 组差异不显著 ($P>0.05$), 但比 D1 组降低了 38.96%。

由表 6 可知, 随饲料钴含量的增加, T-AOC 呈先升后降的趋势, D3~D5 组无显著差异 ($P>0.05$), 但显著高于 D1 和 D6 组 ($P<0.05$); GSH-PX 活力呈先升后降的趋势, D5 组显著高于其他组 ($P<0.05$), D1 组显著低于其他组 ($P<0.05$); MDA 含量随饲料钴含量的增加呈先平稳后降低的趋势, D1~D4 组

DArg 活力随饲料钴含量的增加呈升高的趋势, D1 组与 D2、D3 组差异不显著 ($P>0.05$); D6 组的 D1 组提高了 1.23 倍, 显著高于其他组 ($P<0.05$). D1 组 CPA 活力与 D2、D3 组差异不显著 ($P>0.05$); D6 组与 D4、D5 组差异不显著 ($P>0.05$), 比 D1 组提高了 22.97%。

表 6 蛋氨酸钴对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼肝脏酶活力的影响
Tab. 6 Effects of dietary CoMet on enzyme activities in liver of juvenile pearl gentian grouper (*Epinephelus lanceolatu* ♂×*E. fuscoguttatus* ♀)

n=3; $\bar{x} \pm SD$

项目 item	组别 group					
	D1	D2	D3	D4	D5	D6
总抗氧化能力/(U·mg ⁻¹) T-AOC	0.69±0.01 ^a	0.73±0.00 ^{ab}	0.76±0.03 ^c	0.79±0.01 ^c	0.76±0.02 ^{bc}	0.70±0.02 ^a
谷胱甘肽过氧化物酶/(U·mg ⁻¹) GSH-PX	137.21±4.93 ^a	148.88±1.04 ^b	174.64±4.07 ^d	194.53±3.82 ^e	216.05±2.18 ^f	166.59±2.88 ^c
丙二醛/(mol·kg ⁻¹) MDA	2.49±0.27 ^b	2.35±0.07 ^b	2.25±0.15 ^b	2.21±0.18 ^b	1.57±0.07 ^a	1.52±0.01 ^a
精氨酸酶/(U·g ⁻¹) DArg	2.27±0.44 ^a	2.49±0.09 ^{ab}	2.64±0.33 ^{ab}	3.23±0.26 ^b	3.98±0.56 ^c	5.06±0.61 ^d
羧肽酶 A/(ng·g ⁻¹) CPA	40.92±2.96 ^a	43.44±2.69 ^a	43.48±1.07 ^a	49.69±1.73 ^b	50.29±2.68 ^b	50.32±3.49 ^b

注: 同行数值的上标英文字母不同表示差异显著 ($P<0.05$).
Note: Values in the same row with different superscripts show significant difference ($P<0.05$).

3 讨论

3.1 蛋氨酸钴对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼生长性能的影响

本研究中, 添加适量的蛋氨酸钴, 可显著提

高珍珠龙胆石斑鱼幼鱼增重率(WGR)、特定生长率(SGR)和蛋白质效率(PER), 同时降低饲料系数, 与 Anadu 等^[2]在罗非鱼(*Tilapia zillii*)上的研究一致。鱼类消化道微生物群落能利用钴合成 VB₁₂,

而 VB_{12} 是甲基丙二酰辅酶 A 变位酶和 5-甲基四氢叶酸甲基转移酶的辅酶^[5, 12], 参与体内糖异生途径和蛋氨酸、谷氨酸等的合成, 促进蛋白质、脂肪和糖类代谢。此外, 钴可促进纤维分解菌活动^[13], 促进纤维消化以提高动物对饲料的消化率^[14]。当饲料中钴含量为 25.50 mg/kg (327.87 mg CoMet/kg 饲料) 时, 实验鱼增重率、特定生长率显著低于其他组, 饲料系数偏高, 与大菱鲃 (*Scophthalmus maximus*)^[15] 的研究结果一致, 表明过量的钴抑制了鱼类生长, 原因可能是过量的钴阻碍消化道细菌和原虫的生长^[13], 进而导致饲料利用下降, 生长受阻。以 SGR 为评价指标, 经折线回归得出珍珠龙胆石斑鱼幼鱼最佳生长时饲料钴含量为 3.25 mg/kg, 而 Lin 等^[6]报道点带石斑鱼饲料中添加氯化钴, 其对钴的最适需求量为 10 mg/kg, 蛋氨酸钴的生物利用率约为氯化钴的 3 倍, 这主要是由二者不同的吸收机制造成的。氯化钴中 Co^{2+} 不能通过富含阴离子的细胞膜, 只能在消化道内与蛋白质或氨基酸结合后才能被吸收, 且饲料中植酸、磷酸根等易与 Co^{2+} 结合形成沉淀物影响 Co^{2+} 的吸收^[16], 而蛋氨酸钴具有稳定的螯合结构, 能防止 Co^{2+} 在肠道变成难溶的化合物, 提高了氨基酸和 Co^{2+} 的吸收利用^[17]。在异育银鲫 (*Carassius auratus gibelio*) 和斜带石斑鱼 (*E. coioides*) 上的研究表明, 鱼类对氨基酸微量元素的生物利用率是无机微量元素的 2~4 倍^[17-18]。

3.2 蛋氨酸钴对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼矿物元素沉积的影响

组织钴含量可作为鱼类钴营养状况的评价指标^[19]。本研究中, 随饲料钴含量的增加, 实验鱼组织钴含量均显著升高, 与大菱鲃^[15]、凡纳滨对虾 (*Penaeus vannamei*)^[16] 等的研究结果一致。本研究中饲料钴含量最高组的实验鱼肝脏钴含量为不添加钴组的 5.68 倍, 而在大菱鲃、尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 和草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*) 的研究中分别是 4.22 倍^[15]、1.66 倍^[19]、1.43 倍^[20], 造成这种差异的原因主要与鱼种、钴的形式和添加量以及养殖环境等有关^[21]。

本研究中, 当饲料钴含量低于 3.42 mg/kg 时, 全鱼钴沉积率为负值, 此时鱼体钴沉积速率小于排

泄速率, 鱼体内储存的钴被排出体外, 与 Tomlinson 等^[22] 的研究结果一致; 此后随饲料钴含量的升高, 全鱼钴沉积率为正值, 鱼体钴沉积速率大于排泄速率; 当饲料钴含量超过 12.56 mg/kg 时, 全鱼钴沉积率趋于平稳, 此时钴的摄入与排泄趋于平衡状态。本研究结果表明, 钴在珍珠龙胆石斑鱼幼鱼体内的生物半衰期较短, 在其生长过程中需定时定量补充钴元素。目前少见鱼类钴沉积率的报道, 但大西洋鲑 (*Salmo salar*) 铜沉积率的研究表明, 添加量在 5~700 mg/kg 时, 铜沉积率随添加量上升呈降低趋势; 添加量超过 900 mg/kg 时, 铜沉积率有所上升^[23], 这在点带石斑鱼^[24] 研究中也发现, 铜沉积率与钴沉积率结果相反, 其原因可能是铜与钴在代谢机制上存在差异。

鱼类不同组织对不同矿物元素的沉积能力各不相同。本研究中, 钴首先在肝脏中沉积, 其后依次为肠道、脊椎骨和肌肉, 与牙鲆组织铜沉积顺序基本一致^[25]。组织钴的沉积顺序表明了组织对钴的优先利用顺序, 肝脏作为新陈代谢主要场所, 是多种代谢酶的富集之处, 可作为机体矿物元素代谢状况的指示组织^[25]; 肠道作为消化、吸收主要场所, 也有利于矿物元素的富集^[26]; 骨骼尤其是脊椎骨被认为是锌等微量元素的储存库^[26], 而肌肉对矿物元素沉积能力最弱, 如饲料中添加钴对凡纳滨对虾肌肉钴含量无显著影响^[16]。

钴可替换其他元素在蛋白质中的活性部位^[27], 棕鲮 (*Salmo trutta fario*) 摄食过量的钴导致血红蛋白水平降低的原因很可能是钴替换了血红蛋白中的铁^[28]。本研究中也发现, 适量的蛋氨酸钴可促进铁、铜、锌在肝脏中沉积, 表明钴与铁、锌、铜之间存在协同作用^[29], 但钴添加量超过 2.5 mg/kg 时, 肝脏铁、铜、锌含量均受到抑制, 原因可能是过量的钴加速了肝脏中铁的动用, 使铁进入骨髓以促进机体造血^[30], 而铁与铜、锌等协同^[31], 肝脏中铁的降低导致肝脏铜、锌含量也降低。与尖吻鲈 (*Lates calcarifer*)^[32] 研究结果一致。本研究也发现肝脏锰含量随钴的添加而显著下降, 表明锰与钴相互拮抗, 原因可能是锰与钴存在共同的吸收位点或两者均是同一些酶的活性中心, 其中一

种元素的增加会导致另一种元素含量的降低。

3.3 蛋氨酸钴对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼肝脏酶活力的影响

本研究发现, 适量的钴可显著提高实验鱼肝脏 T-AOC、GSH-PX 活力, 降低 MDA 含量, 但过量添加(钴添加量 20 mg/kg)会导致 GSH-PX 和 T-AOC 显著下降, 原因可能是过量的钴引起肝脏铁、锰、锌等矿物元素下降, 而铁、锰、锌等是一些抗氧化酶的活性组成部分, 由此导致实验鱼抗氧化功能下降。有关微量元素抑制鱼类抗氧化酶活力已有报道, 如饲料中锰含量超过 23.87 mg/kg, 军曹鱼 SOD 活性下降^[33]; 铜含量超过 7.16 mg/kg, 大黄鱼 T-AOC 下降^[34]。

精氨酸酶(DArg)是一种代谢酶, 可将精氨酸代谢为鸟氨酸和尿素, 鸟氨酸进一步代谢为多胺和脯氨酸, 多胺是细胞增殖和分化的重要因子, 脯氨酸能促进胶原生成和伤口愈合^[35]。DArg 也是一种金属酶, 而钴是一些金属酶的激活剂^[5]。本研究中, 随饲料钴含量的增加, 实验鱼肝 DArg 活力显著升高。DArg 活力的升高可促进实验鱼体内精氨酸代谢, 进而促进蛋白质代谢。

羧肽酶 A(CPA)是一种水解蛋白质和多肽的代谢酶, 易水解芳香族或中性脂肪族氨基酸残基, 释放除脯氨酸、精氨酸和赖氨酸以外的氨基酸。本研究中, 实验鱼肝 CPA 活力随饲料钴含量的增加而升高, 但在 D1~D3 组、D4~D6 组均出现平台期, 原因可能是 CPA 是一种含锌酶, 而对其活力影响最大的是钴, 其次是锌^[36]。D1~D3 组肝脏钴含量虽有所增加, 但尚未达到金属离子置换所需的阈值; D4~D6 组肝钴含量显著升高, 促使 Co^{2+} 代替 CPA 的 Zn^{2+} , 从而提高了 CPA 活力^[37]。

4 结论

本研究条件下, 在初始体重为(60.02±0.42) g 的珍珠龙胆石斑鱼幼鱼饲料中添加蛋氨酸钴可显著提高鱼体生长与饲料利用, 增加组织钴含量和增强鱼体抗氧化功能。以特定生长率为评价指标, 确定珍珠龙胆石斑鱼幼鱼对钴的最适需求量为 3.25 mg/kg, 即 53.28 mg CoMet/kg(饲料)。

参考文献:

- [1] Davis A D, Gatlin D M III. Dietary mineral requirements of fish and shrimp[R]//Akiyama D M, Tan K H. Proceedings of the Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop, 1991: 49–67.
- [2] Anadu D I, Anozie O C, Anthony A D. Growth responses of *Tilapia zillii* fed diets containing various levels of ascorbic acid and cobalt chloride[J]. Aquaculture, 1990, 88: 329–336.
- [3] Zhang Z Y. Chinese Feed[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000. [张子仪. 中国饲料学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.]
- [4] Fisher G E. Effect of cobalt deficiency in the pregnant ewe on reproductive performance and lamb viability[J]. Res Vet Sci, 1991, 50(3): 319–327.
- [5] McDowell L R. Minerals in Animal and Human Nutrition[M]. 2th ed. Amsterdam: Elsevier Science BV, 2003.
- [6] Lin Y H, Wu J Y, Shiau S Y. Dietary cobalt can promote gastrointestinal bacterial production of vitamin B₁₂ in sufficient amounts to supply growth requirements of grouper, *Epinephelus malabaricus*[J]. Aquaculture, 2010, 302: 89–93.
- [7] Sakamoto S, Yone Y. Requirements of red sea bream for dietary trace elements[J]. Jpn Soc Sci Fish, 1978, 44(22): 1341–1344.
- [8] 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, 9(20): 83–87. [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, 9(20): 83–87.]
- [9] Chavez-Sanchez C, Martinez-Palacios C A, Martinez-Perez G, et al. Phosphorus and calcium requirements in the diet of the American cichlid *Cichlasoma urophthalmus* (Günther)[J]. Aquac Nutr, 2000, 6(1): 1–9.
- [10] Apines M J, Satoh S, Kiron V, et al. Bioavailability of amino acid chelated and glass embedded zinc to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fingerlings[J]. Aquac Nutr, 2001, 7(4): 221–228.
- [11] Yuan W A, Yang S Q, Chen J, et al. Effects of amino acid chelating microelements on *Micropterus salmoides*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2003, 13(5): 409–414. [袁万安, 杨松全, 陈建, 等. 蛋氨酸微量元素螯合物在大口黑鲈饲料中的应用效果[J]. 中国水产科学, 2003, 13(5): 409–414.]
- [12] Strobel H J. Vitamin B₁₂-dependant propionate production by the ruminal bacterium *Prevotella ruminicola* 23[J]. Appl Environ Microbiol, 1992, 58: 2331–2333.
- [13] Singh K K, Chhabra A. Effect of dietary cobalt on ruminal vitamin B₁₂ synthesis and rumen metabolites[J]. J Nucl Agr

- Biol, 1995, 24(2): 112–116.
- [14] Kadim I T, Johnson E H, Mahgoub O, et al. Effect of low levels of dietary cobalt on apparent nutrient digestibility in Omani goats[J]. Anim Feed Sci Technol, 2003, 109(1–4): 209–216.
- [15] Yang P, Li Y X, Hu H B, et al. Safety evaluation of dietary cobalt dichloride in turbot[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2014, 23(4): 535–545. [杨沛, 李彦先, 胡海滨, 等. 氯化钴在大菱鲆饲料中的安全性评价[J]. 上海海洋大学学报, 2014, 23(4): 535–545.]
- [16] 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. [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.]
- [17] Luo L, Liang J Q, Chen X C, et al. Effects of element chelates of amino acids on growth and quality of crucian carp[J]. Feed Industry, 2006, 27(10): 29–32. [罗莉, 梁金权, 陈小川, 等. 氨基酸微量元素螯合物对异育银鲫生长及其品质的影响[J]. 饲料工业, 2006, 27(10): 29–32.]
- [18] Nie J Q, Dong X H, Tan B P, et al. Effects of manganese sources and dietary manganese level on growth performance, antioxidative function and tissue mineral accumulation in grouper *Epinephelus coioides*[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2015, 30(2): 196–202. [聂家全, 董晓慧, 谭北平, 等. 锰源和锰水平对斜带石斑鱼幼鱼生长、抗氧化功能和矿物元素沉积的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2015, 30(2): 196–202.]
- [19] 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. [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.]
- [20] Yuan D N, Wen H, Jiang M, et al. Dietary cobalt requirement of juvenile *Ctenopharyngodon idellus*[J]. Journal of Northwest A & F University: Natural Science Edition, 2009, 37(5): 74–88. [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): 74–88.]
- [21] Liang D H. Mineral requirements and its deficiency for fish[J]. Feed Industry, 1998, 19(10): 24–25. [梁德海. 鱼类对矿物质的营养需要及缺乏症[J]. 饲料工业, 1998, 19(10): 24–25.]
- [22] Tomlinson D, Socha M. More cobalt for mature cows[J]. Feed Int, 2003, 8: 20–22.
- [23] Berntssen M H G, Lundebye A K, Maage A. Effects of elevated dietary copper concentrations on growth, feed utilisation and nutritional status of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fry[J]. Aquaculture, 1999, 174(1–2): 167–181.
- [24] Lin Y H, Shih C C, Kent M, et al. Dietary copper requirement reevaluation for juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*, with an organic copper source[J]. Aquaculture, 2010, 310: 173–177.
- [25] Mohseni M, Park G H, Lee J H, et al. Evaluation of toxicity of dietary chelated copper in juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*, based on growth and tissue copper concentration[J]. J World Aquacult Soc, 2012, 43(4): 548–559.
- [26] Yamaguchi M. Role of zinc in bone formation and bone resorption[J]. J Trace Element Exp Med, 1998, 11(2): 119–135.
- [27] Kwong R W M, Niyogi S. The interactions of iron with other divalent metals in the intestinal tract of a freshwater teleost, rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Comp Biochem Physiol, 2009, 150(4): 442–449.
- [28] Atamanalp M, Kocaman E M, Ucar A, et al. The alterations in the hematological parameters of brown trout (*Salmo trutta fario*) exposed to cobalt chloride[J]. J Anim Vet Adv, 2010, 9(16): 2167–2170.
- [29] Saxena K K, Ranjhan S K. A note on the effect of cobalt and copper supplementation on *in vivo* cellulose digestion by nylon-bag technique in Harijana calves[J]. Indian J Anim Sci, 1978, 48(11): 833–835.
- [30] Reuber S, Krezer M, Kirchgessner M. Interactions of cobalt and iron in absorption and retention[J]. J Trace Elem Electrolytes Health Dis, 1994, 8: 151–158.
- [31] Conrad M E, Umbreit J N, Moore E G, et al. Separate pathways for cellular uptake of ferric and ferrous iron[J]. Am J Physiol Gastroint Liver Physiol, 2000, 279(4): G767–G774.
- [32] Feher M, Baranyai E, Simon E, et al. The interactive effect of cobalt enrichment in *Artemia* on the survival and larval growth of barramundi, *Lates calcarifer*[J]. Aquaculture, 2013, 414: 92–99.
- [33] Liu K, Ai Q H, Mai K S, et al. Dietary manganese requirement for juvenile cobia, *Rachycentron canadum* L.[J]. Aquac Nutr, 2013, 19: 461–467.
- [34] Cao J J, Miao X, Xu W, et al. Dietary copper requirements of juvenile large yellow croaker *Larimichthys croceus*[J]. Aquaculture, 2014, 432: 346–350.
- [35] Atkinson D E. Function roles of urea synthesis in vertebrates[J]. Physiol Zool, 1992, 65: 243–267.
- [36] Wang H L. Requirements of *Sparus macrocephalus* for Fe, Zn, Cu, Co and I[J]. Studia Marina Sinica, 1996, 37: 143–149. [王辉亮. 黑鲷对 Fe, Zn, Cu, Co 和 I 的营养需求[J].

海洋科学集刊, 1996, 37: 143–149.]

[37] Bertini I, Luchinat C. High spin cobalt (II) as a probe for the

investigation of metalloproteins[J]. Adv Inorg Biochem, 1984, 6: 71–111.

Effects of dietary cobalt methionine on growth performance, mineral deposition, and hepatic enzyme activities in juvenile pearl gentian grouper (*Epinephelus lanceolatus* ♂ × *E. fuscoguttatus* ♀)

LIU Yun^{1,2}, WANG Jiying², LI Baoshan², QIAO Hongjin², LIU Xudong³, HAO Tiantian³, WANG Xiaoyan^{1,2}

1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Key Laboratory for Shandong Marine Ecological Restoration, Shandong Marine Resource and Environment Research Institute, Yantai 264006, China;

3. Shandong Shengsuo Fishery Feed Research Center, Yantai 265500, China

Abstract: Cobalt (Co) is one of the essential elements for fish, with various biological functions, including in growth promotion, blood production, reproduction, and immunity. In this study, we evaluated the effects of dietary cobalt methionine (CoMet) on growth performance, mineral deposition, and hepatic enzyme activities in the juvenile pearl gentian grouper (*Epinephelus lanceolatus* ♂ × *E. fuscoguttatus* ♀). Six extruded isonitrogenous and isoenergetic diets (51% crude protein and 13% crude lipid) were formulated by supplementing the basal diet with CoMet, providing actual Co contents of 0.30, 1.75, 3.42, 6.73, 12.56, or 25.50 mg/kg diet, which were fed to groups designated D1, D2, D3, D4, D5, and D6, respectively. Each diet was randomly assigned to triplicate groups of 20 juveniles (initial weight, 60.02±0.42 g). The experiment was conducted for 8 weeks in plastic cylindrical tanks in an indoor recirculated feeding system. The weight gain rate (WGR) and specific growth rate (SGR) of the juveniles both increased and then decreased with higher CoMet levels, and both were significantly higher in the D3 group than in the other groups ($P<0.05$). The feed conversion rate declined with dietary CoMet level decrease but increased with dietary CoMet increase, and the lowest feed conversion rate was observed in the D3 group. There were no significant differences in the moisture or ash contents of the muscle among the treatment groups ($P>0.05$). The crude protein content of the muscle was clearly reduced by dietary CoMet, and was significantly lower in the D5 and D6 groups than in the other groups ($P<0.05$), whereas it did not differ in groups D5 and D6 ($P>0.05$). The muscle of fish fed the D6 diet had the highest crude lipid content ($P<0.05$), and the muscle of fish fed the D4 diet had the lowest crude lipid content ($P<0.05$). The Co contents of the liver, intestine, vertebrae, and muscle were significantly increased with CoMet supplementation ($P<0.05$). The Co deposition rate in the whole body was markedly increased (from 0.30 mg/kg to 6.73 mg/kg diet) by dietary Co ($P<0.05$), and then plateaued in the fish fed diets with Co contents of 12.56 mg/kg (D5) and 25.50 mg/kg (D6). The Fe, Cu, and Zn contents of the liver increased from group D1 to group D3 and then declined from group D4 to group D6 ($P<0.05$). The Mn content of the liver was significantly reduced by dietary CoMet ($P<0.05$). The glutathione peroxidase activity of the liver increased and then decreased as CoMet increased ($P<0.05$), and was maximum in the fish fed the D5 diet ($P<0.05$). Fish fed the D5 or D6 diet showed significantly lower hepatic malondialdehyde contents ($P<0.05$). The arginase activity in the liver was significantly increased by dietary CoMet ($P<0.05$), and was highest in the D6 group ($P<0.05$). The carboxypeptidase A activities in the livers of the D4, D5 and D6 groups were significantly higher than those in the D1, D2 and D3 groups ($P<0.05$), but did not differ among the D4, D5 and D6 groups ($P>0.05$). In conclusion, under the experimental conditions used here, the optimum Co requirement for the juvenile pearl gentian grouper was 3.25 mg/kg diet (53.28 mg CoMet/kg diet) based on a broken-line regression of SGR.

Key words: pearl gentian grouper; cobalt methionine; growth; trace element; enzyme activity

Corresponding author: WANG Jiying. E-mail: ytwjy@126.com