

# 野生与人工养殖褐牙鲆亲鱼微量元素组成的差异比较

王际英<sup>1</sup> 马晶晶<sup>1</sup> 李宝山<sup>1</sup> 柳旭东<sup>2</sup> 宋志东<sup>2</sup>  
苗淑彦<sup>2</sup> 李培玉<sup>2</sup> 王世信<sup>1</sup> 黄炳山<sup>1</sup> 张利民<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>山东省海洋水产研究所 山东省海洋生态修复重点实验室,烟台 264006)

(<sup>2</sup>山东升索渔用饲料研究中心,烟台 265500)

**摘 要** 分析了野生与人工养殖褐牙鲆亲鱼肝脏、背肌及卵中硒、铁、锰、铜、铬、镉和铅等微量元素的含量。结果表明,野生褐牙鲆亲鱼肝脏中硒、铁含量均显著高于养殖亲鱼( $P < 0.05$ ),铜含量则显著低于养殖亲鱼( $P < 0.05$ ),其他各元素间均未见显著差异( $P > 0.05$ );野生褐牙鲆亲鱼背肌中除硒和锰的含量显著高于养殖亲鱼外( $P < 0.05$ ),其他各元素含量均基本保持恒定( $P > 0.05$ );野生褐牙鲆亲鱼卵中硒、铁和锰的含量均显著高于养殖亲鱼( $P < 0.05$ ),其中硒的含量约为养殖亲鱼的 1.7 倍,铁的含量约为养殖亲鱼的 2.0 倍,而锰含量则为养殖亲鱼的 2.8 倍。养殖褐牙鲆亲鱼卵中镉含量与野生亲鱼相比高出 78% ( $P < 0.05$ )。两种亲鱼卵中铜、镉、铅 3 种重金属含量均未见显著差异( $P > 0.05$ )。

**关键词** 褐牙鲆亲鱼 野生 人工养殖 微量元素

**中图分类号** S965.3 **文献识别码** A **文章编号** 1000-7075(2012)02-0029-06

## A comparison study of trace elements in wild and cultured Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*

WANG Ji-ying<sup>1</sup> MA Jing-jing<sup>1</sup> LI Bao-shan<sup>1</sup> LIU Xu-dong<sup>2</sup>

SONG Zhi-dong<sup>2</sup> MIAO Shu-yan<sup>2</sup> LI Pei-yu<sup>2</sup>

WANG Shi-xin<sup>1</sup> HUANG Bing-shan<sup>1</sup> ZHANG Li-min<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> Shandong Provincial Key Laboratory of Marine Ecological Restoration, Shandong Marine Fisheries Research Institute, Yantai 264006)

(<sup>2</sup> Shengsuo Fishery Feed Research Centre of Shandong Province, Yantai 265500)

**ABSTRACT** A comparison analysis of trace elements in muscle, liver and eggs of wild and cultured *Paralichthys olivaceus* broodstock was conducted. The results showed that contents of Se and Fe were significantly higher, while Cu was significantly lower in liver of wild fish than cultured fish ( $P < 0.05$ ), and no difference was found for other elements ( $P > 0.05$ ); Contents of both Se and Mn in dorsal muscle of wild fish were statistically higher than those of cultured

国家重点行业公益项目(农业部, nyhyzx07-046)、2010 年省财政支持农业重大应用技术创新项目——《海水工厂化节能减排新技术研究》和山东省水生动物营养与饲料泰山学者岗位经费共同资助

\* 通讯作者。E-mail: zhanglimin@126.com, Tel: 13808908088

收稿日期: 2011-07-12; 接受日期: 2011-08-09

作者简介: 王际英(1965-), 女, 研究员, 主要从事水生动物营养与饲料学研究。E-mail: ytwjy@126.com, Tel: 13808907395

fish ( $P < 0.05$ ), while no change was found for other elements ( $P > 0.05$ ); Se, Fe and Mn content in eggs of wild fish was about 1.7, 2.0 and 2.8 times higher than those of cultured fish, respectively ( $P < 0.05$ ). Cr content in eggs of cultured fish was 1.78 times higher than those of wild fish, however, no differences were found for Cu, Cd and Pb contents in eggs of wild and cultured *P. olivaceus* broodstock.

**KEY WORDS** *Paralichthys olivaceus* broodstock Wild Cultured Trace elements

褐牙鲈 *Paralichthys olivaceus* 属鲈形目、鲈科、牙鲈属,属近海冷水性、底栖肉食性鱼类。褐牙鲈具备生长速度快、食性杂、适应性广、活动量少等优点,且生长适宜温度为  $8 \sim 24^{\circ}\text{C}$ ,最适水温  $16 \sim 21^{\circ}\text{C}$ ,特别适合在我国北方沿海地区养殖,现已成为我国北方工厂化养殖的优良品种。然而,目前人工养殖褐牙鲈育苗中出现的浮卵率、孵化率下降,鱼苗死亡率、畸形率、白化率上升等问题(张利民等 1997;王涵生 1997;Furuita *et al.* 2002)亟待解决。有研究表明,亲鱼的繁殖性能、卵和仔稚鱼的质量与亲鱼饲料的营养组成密切相关(Watanabe 1985; Czesny *et al.* 1998; Gallagher *et al.* 1998; Sargent *et al.* 2002; Pavlov *et al.* 2004)。微量元素是鱼类生长发育不可缺少的活性物质,在鱼体饲料中含量极少,但对鱼类的生长及健康关系极大。因此,本试验主要研究了野生与养殖褐牙鲈不同组织间微量元素硒、铁、锰、铜、铬、镉和铅含量的差异,为研究褐牙鲈亲鱼饲料中微量元素的适宜添加量提供参考,同时为培育健康苗种提供保证。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验用亲鱼

野生褐牙鲈于2008年4月捕自山东烟台、威海、青岛和日照四地近海,全长  $40.5 \sim 75.5$  cm,体重  $973 \sim 5129$  g,体宽  $17.5 \sim 27.6$  cm,从中随机抽取8尾作为野生亲鱼样本;人工养殖褐牙鲈分别于2008年11月、2009年1月和2009年5月采自日照和威海,全长  $41.0 \sim 66.0$  cm,体重  $913 \sim 4185$  g,体宽  $15.6 \sim 27.0$  cm,随机选取10尾作为养殖亲鱼样本(投喂的饲料以鲜杂鱼为主)。野生与养殖褐牙鲈亲鱼卵巢发育均处于第IV期。

### 1.2 样品的处理

分别将野生与人工养殖褐牙鲈亲鱼样本取背部肌肉、肝脏及卵组织,混匀后用高速组织捣碎机捣碎,置于  $-80^{\circ}\text{C}$  超低温冰箱中保存备用。

### 1.3 测定方法

褐牙鲈亲鱼组织中微量元素含量的测定参照国标(GB/T 5009-2003)介绍的方法进行。所用玻璃仪器均用10%硝酸浸泡24 h,用去离子水反复冲洗晾干后备用。称取1.0 g左右的组织鲜样放入聚四氟乙烯消化瓶中,样品质量最大的消化瓶中小心加入10 ml浓硝酸(分析纯,国药集团化学试剂有限公司),其余消化瓶均加入5 ml浓硝酸,于微波消解仪(ETHos T,意大利麦斯通)中消化,直至消化液呈无色透明或略带黄色(约2 h),赶酸器(ECH-II,上海新仪微波化学科技有限公司)上赶酸( $160^{\circ}\text{C}$ )至消化瓶中溶液存留量约为指甲盖大小(约1.5 h),放冷,将样品消化液转入50 ml比色管中,用少量去离子水多次洗涤消化瓶,洗液合并于比色管中并定容,利用原子吸收光谱仪(Z-5000,日本日立公司)和原子荧光光度计(AFS-230E,北京海光仪器公司)分别测定各组织中硒、铁、锰、铜、铬、镉和铅的含量。同时做空白实验。肝脏、背肌及卵内各微量元素含量均以干重中含量表示(mg/kg干重)。

### 1.4 数据处理

所有数据在做统计分析前,采用SPSS 13.0统计软件中非参数统计分析(Nonparametric tests)中的1-

Sample K-S (Normal)过程进行正态性检验。经检验,原始数据均服从正态分布。用独立样本 t-检验 (Independent samples t test) 进行两种处理(野生和养殖)之间的比较,同时用 Levene's test 进行方差齐性检验;方差不齐时,用 2-Independent Samples 中的 Mean-Whitney U 作两组间进一步的比较。描述性统计值使用平均值±标准差(Mean±SD)表示, $P<0.05$  时代表具有显著性差异。

## 2 结果与分析

### 2.1 野生与养殖褐牙鲈亲鱼肝脏中微量元素含量比较

野生与养殖褐牙鲈亲鱼肝脏中微量元素的组成见表 1。表 1 数据显示,野生与养殖褐牙鲈亲鱼肝脏中 Mn、Cr、Cd 和 Pb 的含量均无显著差异,Se 和 Fe 的含量表现为野生亲鱼显著高于养殖亲鱼( $P<0.05$ ),养殖褐牙鲈亲鱼肝脏内 Cu 含量均显著高于野生亲鱼( $P<0.05$ )。

表 1 野生与养殖褐牙鲈亲鱼肝脏中微量元素含量(干重)

Table 1 Trace elements composition in liver of wild and cultured *Paralichthys olivaceus* (Dry weight, mg/kg)

元素 Element	野生褐牙鲈亲鱼 Wild broodstock(n=8)	养殖褐牙鲈亲鱼 Cultured broodstock(n=10)
Se	4.68±0.73 <sup>a</sup>	3.32±0.83 <sup>b</sup>
Fe	297.57±78.48 <sup>a</sup>	36.25±6.00 <sup>b</sup>
Mn	3.10±0.47	2.67±0.50
Cu	44.48±5.38 <sup>b</sup>	59.04±7.71 <sup>a</sup>
Cr	0.99±0.18	0.87±0.19
Cd	0.47±0.13	0.58±0.06
Pb	0.39±0.02	0.34±0.02

注:同行数据不同上标字母表示差异显著( $P<0.05$ )。以下各表注同

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

### 2.2 野生与养殖褐牙鲈亲鱼背肌中微量元素含量比较

野生与养殖褐牙鲈亲鱼背肌中微量元素含量的比较见表 2。如表 2 所示,野生褐牙鲈亲鱼背肌中仅 Se 和 Mn 含量显著高于养殖亲鱼( $P<0.05$ ),其他各微量元素间均无显著差异( $P>0.05$ )。

表 2 野生与养殖褐斑牙鲈亲鱼背肌中微量元素含量(干重)

Table 2 Trace elements composition in muscle of wild and cultured *P. olivaceus* (Dry weight, mg/kg)

元素 Element	野生褐牙鲈亲鱼 Wild broodstock(n=8)	养殖褐牙鲈亲鱼 Cultured broodstock(n=10)
Se	6.55±0.77 <sup>a</sup>	4.61±0.74 <sup>b</sup>
Fe	44.23±2.82	44.76±3.01
Mn	5.07±0.80 <sup>a</sup>	2.04±0.20 <sup>b</sup>
Cu	1.67±0.26	1.63±0.41
Cr	0.37±0.04	0.35±0.10
Cd	0.03±0.02	0.03±0.02
Pb	0.25±0.04	0.26±0.10

### 2.3 野生与养殖褐牙鲈亲鱼卵中微量元素含量比较

野生与养殖褐牙鲈亲鱼卵中微量元素含量的比较见表 3。结果显示,野生褐牙鲈亲鱼卵中 Se、Fe 和 Mn

的含量均显著高于养殖亲鱼( $P < 0.05$ ),其中 Se 的含量约为养殖亲鱼的 1.7 倍,Fe 的含量约为养殖亲鱼的 2.0 倍,而 Mn 含量则为养殖亲鱼的 2.8 倍。养殖褐牙鲂亲鱼卵中 Cr 含量与野生亲鱼相比高出 78% ( $P < 0.05$ )。两种亲鱼卵中 Cu、Cd、Pb 3 种重金属含量均未见显著差异( $P > 0.05$ )。

表 3 野生与养殖褐斑牙鲂亲鱼卵中微量元素含量(干重)  
Table 3 Trace elements composition in egg of wild and cultured *P. olivaceus* (Dry weight, mg/kg)

元素 Element	野生褐牙鲂亲鱼 Wild broodstock( $n=8$ )	养殖褐牙鲂亲鱼 Cultured broodstock( $n=10$ )
Se	4.30±0.90 <sup>a</sup>	2.48±0.85 <sup>b</sup>
Fe	133.40±16.96 <sup>a</sup>	68.13±12.40 <sup>b</sup>
Mn	10.53±3.98 <sup>a</sup>	3.78±1.71 <sup>b</sup>
Cu	11.08±1.38	11.81±3.94
Cr	0.23±0.08 <sup>b</sup>	0.41±0.18 <sup>a</sup>
Cd	0.05±0.01	0.08±0.01
Pb	0.19±0.05	0.26±0.08

### 3 讨论

硒(Se)在动物营养中发挥着重要的作用。首先,硒是机体谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)的活性中心元素,可以和维生素 E 协同维持细胞的正常功能和细胞膜的完整性;其次,硒在机体的免疫系统中起着至关重要的作用,不仅可以促进动物的体液免疫,提高抗体水平,还可以提高动物的细胞免疫,促进淋巴细胞增殖。研究表明,缺硒会引起免疫抑制,而通过补充硒可有效提高机体免疫能力;再次,硒与有毒重金属(如汞、铅、镉、砷等)有很强的亲和力,体内的硒化合物以某种方式与有毒重金属螯合,从而保护机体组织不受重金属的损害。鱼类方面的研究表明,硒强化饵料可以提高暗纹东方鲀鱼苗的成活率(26%),且能使畸形率明显降低(陆正和等 2001)。本研究结果显示,野生褐牙鲂肝脏、背肌及卵内硒含量均显著高于养殖亲鱼,表明可以在人工养殖褐牙鲂饲料中添加硒元素。这与马爱军等(2006)对半滑舌鳎的研究结果相一致。但硒浓度过高会对仔鱼产生毒害作用,造成仔鱼大量畸形,成活率下降(陆正和等 2001)。因此,褐牙鲂亲鱼饲料中硒的适宜添加量还有待进一步研究。

铁(Fe)是血红细胞、肌红蛋白、细胞色素、过氧化物酶和过氧化氢酶等必不可少的成分,主要参与体内氧的转运、变换和组织呼吸过程。铁是鱼类生长及在其卵子生命化学中起主要作用的元素。鱼类既能通过鳃和肠粘膜吸收水溶性的铁(Roeder 1996),又可从食物中获得铁,因此自然条件下一般不会发生铁缺乏症。然而商业化的精养体系中,饲料几乎是鱼类唯一的铁源,若其中含铁不足或者铁の利用受到不利影响,则可能导致鱼类的铁缺乏症,使其生长减慢,抗病力下降。与魏万权等(1999)对牙鲂幼鱼的研究结果相一致,本试验中野生与养殖褐牙鲂亲鱼背肌中铁含量相差不大。对其他动物的研究表明,铁的吸收受到机体需要的控制,进入体内的过多的铁将在细胞周期结束时被排出体外。而本试验中褐牙鲂亲鱼肌肉中铁含量相对稳定的原因是否如此尚不清楚,但这似乎暗示了褐牙鲂肌肉中可能存在铁代谢的内稳定调节能力。另外本研究结果还显示,野生褐牙鲂亲鱼肝脏及卵中铁含量显著高于养殖亲鱼,表明牙鲂肝脏和卵对铁具有较强的累积作用,且肝脏累积作用强于卵。牙鲂肝脏对铁的累积作用在魏万权等(1999)对牙鲂幼鱼的研究中得到了验证,但牙鲂卵对铁的累积作用尚未见相关报道。

锰(Mn)对动物生长、发育、繁殖、造血、成骨和维持中枢神经系统正常功能等具有重要作用。作为许多酶的辅助因子或激活剂,锰还参与脂肪和碳水化合物的代谢。锰是鱼类生长和雌体卵巢发育所必需的元素。虽然已证明鱼能从水中摄取锰,但其能更有效地从饲料中摄取(吴云发等 2007)。研究表明,饲料中锰不足时,虹鳟易出现生长缓慢、畸形尾、短躯等缺乏症,同时组织中锰的含量显著下降(Ogino *et al.* 1980)。在养鲤的饲料中缺锰,可导致畸形短躯症、白内障的发生率增加(曹志华等 1999)。本研究中,养殖褐牙鲂亲鱼和野生

亲鱼肝脏中锰含量无显著差异,而肌肉和卵中锰含量均低于野生亲鱼。Takeuchi等(1981)研究发现,在以鱼粉为基础的饲料中不添加锰,虹鳟亲鱼卵中锰含量减少或卵孵化率下降。而魏万权等(2001)发现牙鲈幼鱼肌肉中锰的含量明显受到饲料中锰添加量的影响。结合以上两个研究,作者可以推断,养殖褐牙鲈亲鱼饲料中需添加适量的锰元素。

重金属(Cu、Hg、Cd、Zn、Pb、Cr等)对鱼类胚胎发育、孵化率及仔鱼成活率等均有一定的毒害作用,其毒性主要通过卵膜渗透到卵子内部起作用(蔺玉华等 2000;柳学周等 2006;陈罗明等 2008)。研究表明,重金属作用于胚胎一定时间后,可能会穿过绒毛膜进入胚胎,对胚胎的发育产生直接、可见的损伤,如眼睛残缺、尾部残缺、扭曲变形,胚体解体模糊等。大多数胚胎在一定浓度的重金属溶液中可以继续发育,并能破膜而出,但孵化出的仔鱼活力很差,在较短时间内死亡。初孵仔鱼的畸形状态也不同:部分仔鱼尾部弯折上翘,有的身体弯曲成L或M形,有的尾部末端呈螺旋状卷曲或向胸腹部弯曲。这些异常的个体游泳能力明显受到影响,轻则在水中侧翻、打转,重则丧失运动能力和失去对外界刺激的反应,不久即死亡(柳学周等 2006;吴鼎勋等 1999)。吴鼎勋等(1999)研究发现,重金属对鱼类胚胎和初孵仔鱼的致死和致畸形作用,可能是因为重金属在胚胎内的积累严重影响了胚胎的发育和器官分化。另有研究发现,重金属高累积量可能会导致亲鱼后代基因变异、抵抗力下降、成活率降低(Lin 1991; George *et al.* 1996; Amaral *et al.* 2002)。本研究主要分析比较了野生和养殖褐牙鲈亲鱼肝脏、肌肉和卵中铜、铬、镉、铅的含量。结果显示,养殖褐牙鲈亲鱼肝脏中铜含量显著高于野生亲鱼;野生和养殖褐牙鲈亲鱼肌肉中4种重金属含量均无显著差异;卵中铬含量表现为养殖亲鱼显著高于野生亲鱼。结合以上文献可以推测,养殖褐牙鲈亲鱼后代仔鱼质量下降可能与此有关。综合比较各组织中的重金属含量可以发现,褐牙鲈肝脏累积重金属铜、铅及镉的能力均高于肌肉及卵组织,3种重金属在褐牙鲈亲鱼肌肉中的含量均较稳定。这与文献(Lanno *et al.* 1985; 戴家银等 1997;叶寒青等 2001;刘长发等 2001;Allen 1995;Kim *et al.* 2004;赵元凤等 2005;翟毓秀等 2005)中报道的现象相吻合,均发现鱼类内脏(肝、肾)较其他组织(如肌肉、鳃)具有更强的蓄积重金属(铜、铅及镉)的能力。究其原因,可能是因为肝脏的解毒作用可诱导肝脏内产生大量束缚重金属的金属硫蛋白,而相比之下,肌肉对重金属的亲性和性远比肝脏组织弱(Allen 1995)。

#### 4 小结

本研究中,养殖褐牙鲈亲鱼体内硒、铁及锰含量显著低于野生亲鱼,而重金属铜和铬的含量则显著高于野生亲鱼。野生与养殖褐牙鲈亲鱼苗种质量上存在的差异,除遗传和品种退化的因素外,微量元素的缺乏或过量也是综合因素之一。鉴于微量元素有效利用率受其分子形式以及各元素间拮抗或协同关系的影响,有关褐牙鲈亲鱼饲料中微量元素的适宜添加量及添加形式尚有待进一步研究。

#### 参 考 文 献

- 马爱军,刘新富,翟毓秀,柳学周,庄志猛. 2006. 野生及人工养殖半滑舌鲷肌肉营养成分分析研究. 海洋水产研究, 27(2): 49~54
- 王涵生. 1997. 海水盐度对牙鲈仔稚鱼的生长,存活率及白化率的影响. 海洋与湖沼, 28(4): 399~405
- 叶寒青,杨祥良,周井炎,徐辉碧. 2001. 环境污染物镉毒性作用机理研究进展. 广东微量元素科学, 8(3): 9~12
- 刘长发,陶 澍,龙爱民. 2001. 金鱼对铅和镉的吸收蓄积. 水生生物学报, 25(4): 344~349
- 吴云发,方春林,王庆萍. 2007. 鱼类矿物质营养研究进展. 江西水产科技, 4: 19~22
- 吴鼎勋,洪万树. 1999. 四种重金属对鲢状黄姑鱼胚胎和仔鱼的毒性. 台湾海峡, 18(2): 186~191
- 张利民,常建波,张秀珍,孙玉增,王际英,宫向红,宋丽辉,李烟芬. 1997. 50DE微囊营养强化轮虫DHA的研究. 中国水产科学, 4(5): 44~49
- 陆正和,王 笑. 2001. 硒强化饲料对暗纹东方鲀鱼苗的影响. 内陆水产, 8: 11~12
- 陈罗明,凌去非. 2008. 3种重金属离子和2种杀虫剂对梭鲈胚胎发育的影响. 水生态学杂志, 1(1): 109~111
- 柳学周,徐永江,兰功刚. 2006. 几种重金属离子对半滑舌鲷胚胎发育和仔稚鱼的毒性效应. 海洋水产研究, 27(2): 33~42
- 赵元凤,吕景才,吴益春,宋晓阳,刘长发,王 凡,赵 冲,郑 伟. 2005. 海水中镉对牙鲈的生物有效性研究. 应用生态学报, 16(3): 563~567
- 曹志华,高贵琴. 1999. 鱼类对微量元素的需要研究现状. 淡水渔业, 29(11): 9~11
- 翟毓秀,杨学宋,宁劲松,王家林,尚德荣. 2005. 镉在大菱鲈体内蓄积规律及对生长和食品安全影响初探. 海洋水产研究, 26(4): 26~31

- 蔺玉华, 卢建民, 梁智龙, 富惠光. 2000. 铬对鲤、草鱼胚胎发育及鱼苗的毒性影响. 水产学杂志, 13(2): 32~35
- 戴家银, 郑微云, 洪丽玉, 刘琼玉. 1997. 铜、铅、镉在真鲷幼鱼组织的积累与分布. 海洋科学, 6: 8~9
- 魏万权, 李爱杰, 李德尚, 张榭令, 孙宗哲. 1999. 饲料中添加铁对牙鲆幼鱼生长的影响. 水产学报, 23(增刊): 100~103
- 魏万权, 李爱杰, 李德尚. 2001. 牙鲆幼鱼饲料中锰、钴适宜添加量的初步研究. 浙江海洋学院学报, 20(增刊): 83~87
- Allen, P. 1995. Soft-tissue accumulation of lead in the blue tilapia, *Oreochromis aureus* (Steindachner), and the modifying effects of cadmium and mercury. *Biological Trace Element Research*, 50(3): 193~208
- Amaral, A. F., Alvarado, N., Marigomez, I., Cunha, R., Hylland, K., and Soto, M. 2002. Autometallography and metallothionein immunohistochemistry in hepatocytes of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) after exposure to cadmium and depuration treatment. *Biomarkers*, 7(6): 491~500
- Czesny, S., and Dabrowski, K. 1998. The effect of egg fatty acid concentrations on embryo viability in wild and domesticated walleye (*Stizostedion vitreum*). *Aquatic Living Resources*, 11(6): 371~378
- Furuita, H., Tanaka, T., Yamamoto, T., Suzuki, N., and Takeichi, T. 2002. Effects of high levels of n-3 HUFA in broodstock diet on egg quality and egg fatty acid composition of Japanese flounder, *Paralichthys olicaceus*. *Aquaculture*, 210(1~4): 323~333
- Gallagher, M. L., Paramore, L., Alves, D., and Rulifson, R. A. 1998. Comparison of phospholipid and fatty acid composition of wild and cultured striped bass eggs. *Journal of Fish Biology*, 52: 1 218~1 228
- George, S. G., Hodgson, P. A., Tytler, P., and Todd, K. 1996. Inducibility of metallothionein mRNA expression and cadmium tolerance in larvae of a marine teleost, the turbot (*Scophthalmus maxiums* L.). *Fundam. Appl. Toxicol.* 33(1): 91~99
- Kim, S. G., Jee, J. H., and Kang, J. C. 2004. Cadmium accumulation and elimination in tissues of juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus* after sub-chronic cadmium exposure. *Environ Pollut.* 127(1): 117~123
- Lanno, R. P., Slinger, S. J., and Hilton, J. W. 1985. Maximum tolerable and toxicity levels of dietary copper in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Aquaculture*, 49: 257~268
- Lin, G. 1991. Cadmium flux and gene toxicity in an experimental marine food chain. *Chin. J. Oceanol. Limnol.* 9(4): 292~299
- Ogino, C., and Yang, G. Y. 1980. Requirements of carp and rainbow trout for dietary manganese and copper. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 46(4): 455~458
- Pavlov, D., Kjorsvik, E., Refsti, T., and Andersen, Ø. 2004. Broodstock and egg production. Ch. 5, pp. 142~152 and pp 156~182 in Mokness, E., Kjrsvik, E. and Olsen, Y. (Eds.), *Culture of Cold-Water Marine Fish*. Blackwell Science, Blackwell Publishing Ltd, Oxford. 519
- Roeder, M., and Roeder, R. H. 1996. Effects of iron on the growth rate of fishes. *J. Nutr.* 90: 86~90
- Sargent, J. R., Tocher, D. R., and Bell, J. G. 2002. The lipids. In: Halver, J. E., Hardy, R. W. (Eds.), *Fish nutrition*, 3rd ed. Elsevier, USA, 181~257
- Takeuchi, T., Watanabe, T., Ogino, C., Saito, M., Nishimura, K., and Nose, T. 1981. Effects of low protein-high calory diets on deletion of trace elements from a fish meal diet on reproduction of rainbow trout. *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.* 47: 645~654
- Watanabe, T. 1985. Importance of the study of broodstock nutrition for further development of aquaculture. *Nutrition and Feeding in Fish*. London: Academic Press. 395~414