十二种淡水鱼类血红蛋白与窒息点的 相关分析

余来宁 杨东 刘红艳 张繁荣

江汉大学生命科学学院 武汉 430056

摘要: 为了解鱼类耐低氧能力与血红蛋白的相关性,测定了大口鲇(Silurus meridionalis)、乌鳢(Channa argus)、加洲鲈(Micropterus salmoides)、斑点叉尾鮰(Ictalurus punetaus)、黄颡鱼(Pelteobagrus fulvidraco)、泥鳅(Misgurnus anguillicaudatus)、黄鳝(Monopterus albus)、草鱼(Ctenopharyngodon idellus)、翘嘴红鲌(Erythroculter ilishaeformis)、鲢(Hypophthalmichthys molitrix)、鳙(Aristichthys nobilis)和鳜(Siniperca chuatsi)12种鱼的窒息点,同时分别对其血红蛋白进行电泳分析。12种鱼的血红蛋白电泳图谱各不相同,大口鲇、乌鳢、加洲鲈、斑点叉尾鮰、黄颡鱼、泥鳅、黄鳝、草鱼、翘嘴红鲌、鲢、鳙、鳜的血红蛋白分子量加权平均值分别为92.93、93.91、94.61、97.78、98.66、98.95、101.34、104.10、104.73、108.06、108.23、111.84 ku,窒息点分别为 0.15、0.18、0.30、0.27、0.36、0.26、0.24、0.39、0.42、0.51、0.46、0.59 mg/L。分析发现,这 12 种鱼类的窒息点与血红蛋白分子量呈极显著正相关(r=0.925,P<0.01)。

关键词: 鱼类血红蛋白; 窒息点; 相关性

中图分类号: Q955 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263 (2017) 03-478-07

Correlation between Hemoglobin and Asphyxiation Point in Twelve Species of Freshwater Fish

YU Lai-Ning YANG Dong LIU Hong-Yan ZHANG Fan-Rong

College of Life Sciences, Jianghan University, Wuhan 430056, China

Abstract: To understand the correlation between the hypoxia tolerance ability and the hemoglobin (Hb) in fish. A total of 12 different species of fish, Catfish (Silurus meridionalis), Snakehead (Channa argus), California Perch (Micropterus salmoides), Channel Catfish (Ictalurus punetaus), Yellow Catfish (Pelteobagrus fulvidraco), Loach (Misgurnus anguillicaudatus), Eel (Monopterus albus), Grass Carp (Ctenopharyngodon idellus), Erythroculter Ilishaeformis (Erythroculter ilishaeformis), Silver Carp (Hypophthalmichthys molitrix), Big Head Carp (Aristichthys nobilis) and Chinese Perch (Siniperca chuatsi), were collected from Luhu Fishery and suburban of Wuhan. The hemoglobin was extracted from blood of each

基金项目 武汉市科技计划项目(No. 2013021001010464);

第一作者介绍 余来宁,男,教授;研究方向: 鱼类遗传育种; E-mail: yulaining@vip.sina.com。

收稿日期: 2016-07-01, 修回日期: 2016-12-04 DOI: 10.13859/j.cjz.201703014

species separately. By using vertical polyacrylamide gel electrophoresis technology, the hemoglobin of each species was analyzed. Compared to logarithm of the standard protein molecular weight and mobility of standard curve, the mobility and standard curve of hemoglobin molecular weight was obtained after electrophoresis. With gel image analysis software Bandscan V5.0, the relative content of each hemoglobin band was measured, and the average hemoglobin molecular weight was calculated for each fish. The suffocation points of 12 species fish were determined by closed hydrostatic device. The results showed that the hemoglobin electrophoretograms were not identical (Fig. 1). Their hemoglobin molecular weights were: 92.93, 93.91, 94.61, 97.78, 98.66, 98.95, 101.34, 104.10, 104.73, 108.06, 108.23, 111.84 (ku), respectively, and their asphyxiation points were 0.15, 0.18, 0.30, 0.27, 0.36, 0.26, 0.24, 0.39, 0.42, 0.51, 0.46 and 0.59 (mg/L), respectively (Table 3). The correlation analysis found that asphyxiation point and the hemoglobin molecular weight were significantly positive correlated (r = 0.925, P < 0.01).

Key words: Fish hemoglobin; Asphyxiation point; Correlation

鱼类的耐低氧能力是一项重要的生理参 数,不仅在鱼类生理研究上有着重要的意义, 而且在鱼类养殖上也具有广泛的应用价植。养 殖上主要根据不同的耐低氧能力设计鱼类运 输、养殖、越冬等的放养密度以及放养模式(陈 宁生等 1955a, b, 叶奕佐 1959)。鱼类的耐 低氧能力一般以其窒息点作为衡量指标,窒息 点越低说明耐低氧能力越强(陈松波等 2004)。 各种鱼类的窒息点因种而异,差异较大,这是 为适应不同的生态环境长期进化的结果。血红 蛋白(hemoglobin, Hb)的主要生理功能是运 输氧气。那么, 鱼类的耐低氧能力与血红蛋白 的分子大小是否有关,是值得探讨的问题,但 迄今为止尚未见此类研究的报道。为此,作者 对 12 种鱼类的血红蛋白进行了电泳分析,并测 定了每种鱼的窒息点,分析了血红蛋白分子量 与窒息点的相关性,旨在了解两者之间的关系, 为鱼类生理学研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

用于实验的大口鲇(Silurus meridionalis)、 乌鳢(Channa argus)、加洲鲈(Micropterus salmoides)、斑点叉尾鲫(Ictalurus punetaus)、 泥鳅(Misgurnus anguillicaudatus)、黄颡鱼 (Pelteobagrus fulvidraco)、黄鳝(Monopterus albus)、草鱼(Ctenopharyngodon idellus)、 鲢(Hypophthalmichthys molitrix)、翘嘴红鲌 (Erythroculter ilishaeformis)、鳙(Aristichthys nobilis)和鳜(Siniperca chuatsi)12 种鱼来源 于武汉江夏区鲁湖渔场或购于武汉市水产市 场,其规格和数量见表 1。

实验鱼运回实验室后,在水泥池中静养 1~2d,每天换水,不投食。实验时挑选健康、活动正常的鱼作为实验材料。

1.2 方法

1.2.1 血红蛋白 (Hb) 电泳方法 从鱼尾静脉抽血 0.2 ml,放入预先盛有 2 ml 含 0.1%肝素生理 盐水的离心管中,用 KDC-40 型离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司出品),1 500 r/min 离心 8 min,收集离心管下部的沉淀,用生理盐水洗涤 2 次。加入沉淀体积 2 倍的无离子水,低渗振荡破碎红细胞。再以 3 000 r/min 离心 30 min,取红色透明的上清液(含血红蛋白 Hb),放 4℃ 冰箱备用。

血红蛋白(Hb)的分离采用聚丙烯酰胺垂直板连续系统电泳方法。分离胶浓度为8%,pH为8.9,无浓缩胶,胶厚1.0 mm。电极缓冲液为pH8.3的Tris-Gly系统,使用JY-SCZ2型电泳槽,电泳方法参照《遗传学实验方法和技术》(吴鹤龄等1983),有所改进:在冰浴中进行电泳,稳压200V,电泳2h。电泳后,胶板

	表 1 实验所用 12 种鱼的规格和数量
Table 1	The specification and quantity of 12 species fish used in experiment

种类 Species	平均体重(g) Average weight	数量(尾) Number (ind)	来源 Source
大口鲇 Silurus meridionalis	132.8 ±28.2	22	白沙洲市场 Baishazhou market
乌鳢 Channa argus	153.2 ± 19.4	22	白沙洲市场 Baishazhou market
加洲鲈 Micropterus salmoides	141.5 ± 16.3	20	蔡家市场 Caijia market
斑点叉尾鮰 Ictalurus punetaus	144.6 ± 15.5	20	白沙洲市场 Baishazhou market
黄颡鱼 Pelteobagrus fulvidraco	82.3 ± 12.1	26	蔡家市场 Caijia market
泥鳅 Misgurnus anguillicaudatus	27.2 ± 10.3	38	蔡家市场 Caijia market
黄鳝 Monopterus albus	110.4 ± 17.4	26	蔡家市场 Caijia market
草鱼 Ctenopharyngodon idellus	175.6 ± 18.8	20	鲁湖渔场 Luhu Fishery
翘嘴红鲌 Erythroculter ilishaeformis	163.3 ± 17.5	23	白沙洲市场 Baishazhou market
鲢 Hypophthalmichthys molitrix	152.4 ± 19.6	22	鲁湖渔场 Luhu Fishery
鳙 Aristichthys nobilis	146.5 ± 26.7	20	鲁湖渔场 Luhu Fishery
鳜 Siniperca chuatsi	160.8 ± 17.4	20	鲁湖渔场 Luhu Fishery

上可见清晰的血红蛋白谱带,取下胶板,用数码相机拍照。测量谱带和溴芬兰迁移距离计算迁移率(F_R), F_R = 谱带迁移距离/溴酚兰迁移距离。

电泳所用预染次高分子量蛋白质 Marker 购于上海桥星贸易有限公司,该蛋白质 Marker 包含 5 种预染色已知分子量的标准蛋白质,分子量分别为 43.0、66.2、97.4、130 和 220 ku。电泳后以标准蛋白质分子量的对数和迁移率作标准曲线,根据血红蛋白各谱带迁移率与标准曲线求得血红蛋白分子量。用凝胶图像分析软件 Bandscan V5.0,测出每条血红蛋白谱带相对含量,并计算每种鱼血红蛋白分子量的加权平均值。加权平均值的计算公式如下: $M = \sum x_i f_i / \sum f_i$,其中, x_i 为各观察值, f_i 为权数,在本文中, x_i 代表血红蛋白各谱带分子量, f_i 代表血红蛋白各谱带的相对含量。

1.2.2 窒息点的测定 采用具有下出水口的 10 L 锥形瓶作呼吸室,每批放 4~10 尾鱼,用液体石蜡封闭水面,以实验鱼半数死亡时作为此种鱼的死亡临界点,此时从锥形瓶下出水口吸取水样,测定溶氧量,以此作为窒息点。溶氧的测定采用温克勒(Winkler)碘量法。以空调、控温器调节,使室温和水温保持在(25 ±

0.5) ℃。实验重复3次。

1.3 数据处理

数据处理、作图采用 Excel 和 SPSS 19.0 软件。用 SPSS 中的 Bivariate 进行血红蛋白分子量与窒息点的相关性分析,选择 Flag significant correlations 表明显著水平。

2 结果

2.1 血红蛋白(Hb)电泳分析

乌鳢、加洲鲈、大口鲇、斑点叉尾鮰、黄 颡鱼、草鱼、翘嘴红鲌、鲢、鳙、鳜、黄鳝、 泥鳅 12 种鱼的血红蛋白电泳图谱见图 1。

12 种鱼血红蛋白电泳图谱各不相同,按谱带数可分为 3 种类型,只有 1 条带的有乌鳢、大口鲇、黄颡鱼、翘嘴红鲌和泥鳅;拥有 2 条带的有鲢和鳙;拥有 3 条带的有加洲鲈、斑点叉尾鲃、草鱼、鳜和黄鳝。不同种类的鱼电泳带的迁移率是不同的。对每种鱼随机抽样 8 ~10 尾,进行同板电泳比较,均未发现多态性。

由迁移率公式,计算每种鱼的谱带迁移率,有多条带的按电泳快慢依次记为 Hb1、Hb2 和 Hb3。以预染色 Marker 已知蛋白质分子量对数 与迁移率作标准曲线,再根据标准曲线和每种 鱼谱带迁移率求得其的血红蛋白分子量,用

Bandscan V5.0 软件测出每条血红蛋白谱带相对含量,并计算每种鱼血红蛋白分子量的加权

平均值(表 2)。 **2.2 窒息点测定**

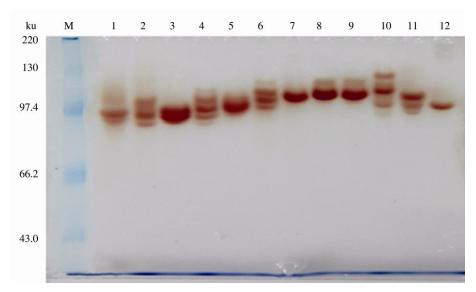


图 1 12 种鱼的血红蛋白(Hb)电泳图谱

Fig. 1 Electrophoretograms of the hemoglobins from 12 species fish

- 1. 乌鳢; 2. 加洲鲈; 3. 大口鲇; 4. 斑点叉尾鮰; 5. 黄颡鱼; 6. 草鱼; 7. 翘嘴红鲌; 8. 鲢; 9. 鳙; 10. 鳜; 11. 黄鳝; 12. 泥鳅; M. 蛋白质分子量标准。
- 1. Channa argus; 2. Micropterus salmoides; 3. Silurus meridionalis; 4. Ictalurus punctaus; 5. Pelteobagrus fulvidraco; 6. Ctenopharyngodon idellus; 7. Erythroculter ilishaeformis; 8. Hypophthalmichthys molitrix; 9. Aristichthys nobilis; 10. Siniperca chuatsi; 11. Monopterus albus; 12. Misgurnus anguillicaudatus; M. Protein Marker.

表 2 12 种鱼血红蛋白谱带迁移率、相对含量和分子量加权平均值

Table 2 The Hb electrophoretic mobility, relative content and molecular weight of 12 species fish

种类	迁移率 Mobility		相对含量 Relative amount (%)			分子量加权平均值 Weighted means of	
Species	Hb1	Hb2	Hb3	Hb1	Hb2	Hb3	molecular weight (ku)
大口鲇 Silurus meridionalis	0.340	/	/	100	/	/	92.93
乌鳢 Channa argus	0.333	/	/	100	/	/	93.91
加洲鲈 Micropterus salmoides	0.373	0.333	0.280	17.3	57.5	25.2	94.61
斑点叉尾鮰 Ictalurus punetaus	0.340	0.307	0.273	19.6	56.3	24.1	97.78
黄颡鱼 Pelteobagrus fulvidraco	0.300	/	/	100	/	/	98.66
泥鳅 Misgurnus anguillicaudatus	0.298	/	/	100	/	/	98.95
黄鳝 Monopterus albus	0.325	0.291	0.258	19.6	30.2	50.2	101.34
草鱼 Ctenopharyngodon idellus	0.300	0.267	0.233	19.3	55.2	25.5	104.10
翘嘴红鲌 Erythroculter ilishaeformis	0.260	/	/	100	/	/	104.73
鲢 Hypophthalmichthys molitrix	0.258	0.216	/	70.1	29.9	/	108.06
鳙 Aristichthys nobilis	0.258	0.214	/	69.4	30.6	/	108.23
鳜 Siniperca chuatsi	0.291	0.232	0.166	16.3	44.7	39.0	111.84

表中"/"表示无带。"/" in table denote no band.

在封闭静水式试验装置中,12种鱼的窒息过程基本相同。在(25±0.5)℃水温下,初始时鱼活动正常,随着溶氧量下降,实验鱼呼吸频率加快,燥动不安,上下窜游;溶氧量进一步减少,呼吸频率下降,身体侧翻,时而上窜,最终沉底昏迷,直至死亡。当实验鱼半数死亡时,测定水中溶氧量,以此作为窒息点(表3)。

2.3 血红蛋白分子量与窒息点相关性

通过对 12 种鱼的血红蛋白分子量与窒息点进行皮尔逊(Pearson)相关性分析,二者呈极显著正相关(r=0.925,P<0.01,图 2),说明血红蛋白分子量大小是影响鱼类窒息点重要因素。

3 讨论

3.1 关于血红蛋白

血红蛋白 (Hb) 不仅存在于绝大多数脊椎动物中,而且广泛存在于无脊椎动物、高等植物、原生生物、真菌和细菌中。血红蛋白除运输和储存氧气外还具有调节 pH、控制一氧化氮水平、参与免疫反应、结合并运输硫化物等多种生物学功能(Terwilliger 1998)。脊椎动物血红蛋白是由 α 和 β 两种亚基构成的异源四聚

体结构,分子量为 6.2 × 10⁴ u 左右(王镜岩 2002)。文献报道,它们是在大约 4.5 亿年前由共同的祖先——有颌脊椎动物的球蛋白基因进化而来的(樊廷俊等 2011)。

鱼类血红蛋白(Hb)多态性是值得关注的问题,本研究对12种鱼每种随机抽样8~10尾进行了血红蛋白电泳分析,均未发现多态性,表明其遗传性状稳定。

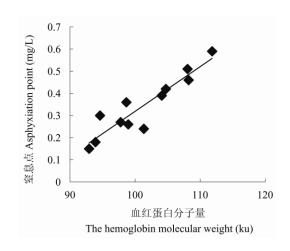


图 2 血红蛋白分子量与窒息点的关系

Fig. 2 The Hb molecular weight and asphyxiation point correlation scatter diagram

表 3 12 种鱼的窒息点

Table 3 The asphyxiation points of 12 species fish

种类 Species	3 次实验尾数 Three experimental fish number	窒息点 Asphyxiation point (mg/L)	
大口鲇 Silurus meridionalis	12	0.15 ± 0.007	
乌鳢 Channa argus	12	0.18 ± 0.003	
黄鳝 Monopterus albus	18	0.24 ± 0.002	
泥鳅 Misgurnus anguillicaudatus	30	0.26 ± 0.006	
斑点叉尾鮰 Ictalurus punetaus	12	0.27 ± 0.003	
加洲鲈 Micropterus salmoides	12	0.30 ± 0.002	
黄颡鱼 Pelteobagrus fulvidraco	18	0.36 ± 0.005	
草鱼 Ctenopharyngodon idellus	12	0.39 ± 0.003	
翘嘴红鲌 Erythroculter ilishaeformis	12	0.42 ± 0.002	
鳙 Aristichthys nobilis	12	0.46 ± 0.004	
鲢 Hypophthalmichthys molitrix	12	0.51 ± 0.002	
鳜 Siniperca chuatsi	12	0.59 ± 0.003	

3.2 关于窒息点

大多数鱼类代谢活动都与氧的利用有关,窒息点是研究鱼类对溶氧量的要求和对低溶解氧耐受力的重要参数,是反映鱼类呼吸代谢和养殖特性的主要生理指标。对于鱼类窒息点研究,国内外学者已做了很多研究,发现鱼类窒息点受水温和鱼体规格的影响,水温高所测窒息点偏高,鱼体规格大窒息点偏低(Mwangangi et al. 1994,Herrmann et al. 2000,陈松波等2004)。鉴于此,本实验选用体重(80~170g)规格相近的鱼(除泥鳅外),并在相同水温进行检测,尽量保持了它们之间的可比性。本实验12种鱼的窒息点,大部分已有人研究过,与之比较,除了乌鳢差异较大外,其余与前人的结果十分接近(表 4)。

3.3 血红蛋白(Hb)与耐低氧能力的相关性

本研究结果表明,鱼的窒息点与血红蛋白的分子量紧密相关,即血红蛋白迁移率越快,分子量越小,则窒息点越低,其耐低氧能力越强。这是由血红蛋白的结构和功能所决定的。血红蛋白四聚体的每个亚基都结合有一个血红素配基并具有一个氧结合部位(Abdu 2004)。

有研究报导, 吸氧量与循环血液中总的血红蛋 白数量正相关(杜国玺等 1983)。根据"物质 的量"的概念:物质的量等于质量与摩尔质量 之比 (n = m/M), 即有, 物质的分子数量 = 物 质的质量/物质的分子量(姜友陆 1978),由此 可看出, 鱼的血红蛋白分子量越小, 等质量血 红蛋白中的分子数量越多,携带的氧气越多, 呼吸效率就越高。这是不是血红蛋白分子量影 响窒息点的真正原因? 有待更进一步的深入研 究。本研究还发现,大部分鱼是遵从上述规律 的,但也有例外,例如,黄鳝血红蛋白分子量 比加州鲈的大,而窒息点却比其低,耐低氧能 力更强,这是因为影响耐低氧能力的原因很多, 除血红蛋白外, 鱼类呼吸器官构造和功能也是 重要的影响因素之一。有些鱼类除了用鳃呼吸 外,还有一些辅助呼吸的器官,如黄鳝可用皮 肤和肠辅助呼吸,能直接利用空气中的氧气, 因此其耐低氧能力更强。又如,鲢、鳙血红蛋 白电泳谱带非常相近,前者分子量略小,但后 者的窒息点却较低,即鳙比鲢更耐低氧,这可 能是由于鳙的头较大,其鳃面积大也相对较大, 吸氧较多的原因所至。

表 4 12 种鱼窒息点的与文献结果的比较

Table 4 The asphyxiation point of 12 species fish with previous achievements

种类 Species	水温(℃) Water Temperature	体重(g) Weight	体长 (mm) Body length	窒息点(mg/L) Asphyxiation point	文献 Document
乌鳢 Channa argus	25.1	48.9		2.47	张新铖等 2012
加洲鲈 Micropterus salmoides	25.0	17.0		0.40	蔡磊等 2012
大口鲇 Silurus meridionalis	25.0	215.0		0.16	罗相忠等 1997
斑点叉尾鮰 Ictalurus punetaus	28.3		21.1	0.52	陈琴等 2001
黄颡鱼 Pelteobagrus fulvidraco	28.0		110.3	0.33	杨凯等 2012
草鱼 Ctenopharyngodon idellus	25.0		126.0	0.39	陈宁生等 1955b
翘嘴红鲌 Erythroculter ilishaeformis	28.0		78.0	0.40	雷建军等 2005
鲢 Hypophthalmichthys molitrix	27.3		38.0	0.53	叶奕佐 1959
鳙 Aristichthys nobilis	27.6		40.0	0.48	叶奕佐 1959
鳜 Siniperca chuatsi	26.0	215.5		0.66	司亚东等 1995
黄鳝 Monopterus albus	25.0			0.17	徐兴川等 2004
泥鳅 Misgurnus anguillicaudatus	24.5	26.2		0.24	赵振山等 1999

参考文献

- Abdu I A. 2004. Oxygen therapeuties: can we tame hemoglobin? Nature Reviews: Drug Discovery, 3(2): 152–159.
- Herrmann J P, Enders E C. 2000. Effect of body size on the standard metabolism of horse mackerel. Journal of Fish Biology, 57(3): 746–760.
- Mwangangi D M, Mutungi G. 1994. The effects of temperature acclimation on the oxygen consumption and enzyme activity of red and white muscle fibres isolated from the tropical freshwater fish *Oreochromis niloticus*. Journal of Fish Biology, 44(6): 1033–1043.
- Terwilliger N B. 1998. Function adaptations of oxygen-transport proteins. Journal of Experimental Biology, 201(8): 1085–1098.
- 蔡磊,白俊杰,李胜杰,等.2012.大口黑鲈幼鱼低温耐受、耗氧率和窒息点研究.上海海洋大学学报,21(6):971-975.
- 陈宁生, 施瑔芳. 1955a. 草鱼、白鲢和花鲢的耗氧率. 动物学报, 7(1): 43-57.
- 陈宁生, 施瑔芳. 1955b. 饲养鱼窒息现象的研究. 水生生物学报, (1): 1-6
- 陈琴,罗仁生,欧阳贤华,等. 2001. 斑点叉尾鮰鱼苗阶段耗氧率与窒息点的测定. 广西科学院学报,17(1): 34-36.
- 陈松波, 陈伟兴, 范兆廷. 2004. 鱼类呼吸代谢研究进展. 水产学杂志, 17(1): 82-88.
- 杜国玺, 张春林, 纪慧君. 1983. 速度滑冰运动员血红蛋白含量赛前、赛后的变化. 冰雪运动, 5(2): 16-26.

- 樊廷俊,徐彬,荆昭,等. 2011. 动物血红蛋白结构与功能的研究进展. 山东大学学报,46(7): 1-6.
- 姜友陆. 1978. 物质的量及其单位摩尔的概念和应用. 化学通报, (6): 34-37.
- 雷建军,何安尤,施军,等. 2005. 翘嘴红鲌鱼苗耗氧率和窒息点的观测. 广西水产科技,(3):10-12.
- 罗相忠, 邹桂伟, 潘光碧. 1997. 大口鲇耗氧率与窒息点的初步研究. 淡水渔业, (3): 21-23.
- 司亚东, 陈英鸿, 曾继参. 1995. 鳜鱼的耗氧率及其池塘养殖. 水生生物学报, 19(4): 327-332.
- 王镜岩, 朱胜庚, 徐长法. 2002. 生物化学: 上册. 3 版. 北京: 高等教育出版社, 257-270.
- 吴鹤龄, 林锦湖. 1983. 遗传学实验方法和技术. 北京: 高等教育 出版社, 147-153.
- 徐兴川, 高光明, 蒋火金. 2004. 黄鳝集约化养殖与病害防治新技术. 北京: 中国农业出版社, 35-58.
- 杨凯, 樊启学, 张磊, 等. 2012. 黄颡鱼瞬时耗氧率与窒息点的研究. 水生态学杂志, 33(2): 127-131.
- 叶奕佐. 1959. 鱼苗、鱼种耗氧率、能需量、窒息点及呼吸系数的 初步报告. 动物学报, 11(2): 117-135.
- 张新铖,朱新平,陈昆慈,等. 2012. 乌鳢、斑鳢及杂交种耗氧率与 窒息点的初步研究. 广东农业科学,(9): 116-118.
- 赵振山, 印杰, 高贵琴, 等. 1999. 泥鳅与大鳞副泥鳅耗氧率与窒息点的研究. 水利渔业, 19(1): 2-3.