2011 年 第 6 卷
第 4 期,410-414

生 态 毒 理 学 报
Asian Journal of Ecotoxicology

Vol. 6, 2011
No. 4, 410-414

大田软海绵酸对黑鲷胚胎发育及仔鱼的急性毒性

蒋玫

中国水产科学研究院 东海水产研究所, 上海 200090

摘要: 为了研究大田软海绵酸(okadaic acid, OA)对生物胚胎组织发育过程的毒性作用机制,采用静水和半静水实验法,用 OA 毒素与过滤海水按等对数间距分设 5 个浓度组,同时以过滤海水为对照组,对人工养殖的黑鲷鱼卵和仔鱼进行了毒性实验。实验结果表明:一定浓度的 OA 使鱼卵的死亡率和孵出仔鱼的畸形率升高,但对孵化率的影响较弱。OA 对黑鲷仔鱼的 24、48、72 和 96 h 的 LC_{50} 分别为 51.63、45.58、37.97 和 25.72 nmol·L^{-1},仔鱼体内毒性蓄积程度也随时间逐渐减弱。OA 毒素对仔鱼的谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)和酸性磷酸酶(ACP)的活性均有诱导作用,与对 ACP 的影响相比,OA 毒素对 GSH-PX 活性的诱导作用更为突出。此外,OA 毒素还会对黑鲷仔鱼的肝脏细胞的核酸代谢及 DNA 合成有一定的影响,使得 RNA 和 DNA 的含量比值发生显著变化。

关键词: 大田软海绵酸; 黑鲷,胚胎发育; 免疫系统; RNA/DNA
文章编号: 1673-5897(2011)6-410-05 **中图分类号:** S965.3; Q418 **文献标识码:** A

Acute Toxicity of Okadaic Acid to the Embryonic Development of Egg and Larvae of *Sparus macrocephalus*

Jiang Mei
East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China

Received 28 September 2010 **accepted** 9 August 2011

Abstract: In order to study the acute toxicity of okadaic acid to the embryonic development of marine life as well as its biochemical mechanism, acute toxicity experiments were conducted on the eggs and larvae of *Sparus macrocephalus* using static and semi-static method. Results showed that both mortality and malformation of eggs significantly increased under the exposure of okadaic acid, while the hatchability rate was relatively less affected. The median lethal concentrations of larvae were 51.63, 45.58, 37.97 and 25.72 nmol L^{-1}, respectively, after exposure of 24, 48, 72 and 96 hours to okadaic acid. A decrease in toxic accumulation in the bodies of the larvae was observed with the extension of exposure time. When exposed to okadaic acid, the activity of GSH-PX was induced significantly, while the activity of ACP was relatively less affected. Moreover, okadaic acid also affected the metabolism of nucleic acid and DNA synthesis in larval hepatocyte, which led to a significant change in the RNA/DNA ratio.

Keywords: okadaic acid; *Sparus macrocephalus*; embryonic development; immune system; RNA/DNA

大田软海绵酸(okadaic acid, OA)是腹泻性贝类毒素(diarrhetic shellfish poisoning, DSP)的主要成分之一,由共生于大田软海绵和隐瓜海绵中的利马原甲藻所产生[1-2]。它是一种公认的促癌剂,在细胞的生长、分化、代谢和死亡过程中都起着重要的诱导作用[3]。OA 能够抑制细胞质中蛋白磷酸酶的活

收稿日期: 2010-09-28 **录用日期:** 2011-08-09
基金项目: 国家重点基础研究发展规划"973"项目(G2010CB428705);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(中国水产科学研究院东海水产研究所)(2007M08)
作者简介: 蒋玫(1973-),女,副研究员,研究方向为渔业早期生态学及环境保护与评价, E-mail: jiangrose73@sina.com

性,导致蛋白质过磷酸化,从而对生物的多种生理功能造成影响[4]。另外,在随血液的循环转运和代谢过程中 OA 还会对体内多种脏器造成损伤。目前,尽管"OA 可作为多种细胞凋亡的诱导剂和潜在的肿瘤促进剂,甚至原始的致癌剂[5-6]"的学术观点已经确立,特别是 OA 对肠道、肝脏和神经的毒性作用机制已研究得较为透彻[7],但针对 OA 对生物胚胎发育的直接毒性作用机制的研究尚显不足。GSH-PX(谷胱甘肽过氧化物酶)是鱼体内广泛存在的一种重要的催化过氧化物分解的酶类,被广泛用作氧化应激中细胞膜氧化损伤的评价指标[8]。ACP(酸性磷酸酶),可以分解正磷酸单酯,为机体的磷代谢和核酸代谢提供磷酸基团。ACP 在机体内解毒体系中发挥重要作用,它的活性变化可以反映出机体受危害的程度。此外,有学者研究发现鱼体肌肉中核糖核酸(RNA)与脱氧核糖核酸(DNA)的比值(RNA/DNA)在一定程度上反映了鱼类生长发育的优劣,认为 RNA/DNA 值可以作为鱼类种群长期生长状况的评价指标[9]。本实验采用黑鲷鱼卵和仔鱼为对象研究了 OA 对鱼类早期发育过程的损伤作用,同时研究了 OA 对鱼类的免疫系统和体内蛋白质代谢的毒性作用,以期为今后深入研究 OA 的毒性作用机制提供一些参考依据。

1　材料与方法(Materials and methods)

1.1　受试生物

实验生物选自浙江象山某育苗场内黑鲷雌鱼(体长约为 30 cm)的自然排卵,仔鱼为未开口的初孵仔鱼。

1.2　实验用水

海水来源于育苗场附近的近岸天然海水,经过沉淀、沙滤后备用,盐度为 25.81‰ ~ 29.30‰,温度为 16 ~ 19 ℃,pH 为 7 ~ 8。

1.3　实验试剂

大田软海绵酸(纯度 95%)购自 sigma 公司,分子式为 $C_{44}H_{68}O_{13}$,分子量为 804.5。溶于甲醇,浓度为 25 μg·mL^{-1},装入棕色瓶密封存放于 -20 ℃冰箱内。

1.4　实验浓度梯度的设置

将 OA 按照等对数间距设置 5 个浓度组: 20、40、60、80 和 100 nmol·L^{-1},进行鱼卵胚胎暴露实验。同时,以过滤海水为空白对照组。

将 OA 按照等对数间距设置 5 个浓度组: 20、30、40、50 和 60 nmol·L^{-1},进行仔鱼暴露实验。同时,以过滤海水为空白对照组。

1.5　实验方法

OA 对鱼卵的暴露实验,采用静水实验法,以 1 000 mL 的低型烧杯为容器,在每个烧杯中投入约 100 个刚孵化的受精卵(4 细胞分裂期,卵径为 0.85 mm),控制实验温度为(16 ± 2.0) ℃,并保持实验用水溶解氧为饱和溶氧的 60% 以上。实验每一浓度组设 3 个平行样本。记录鱼卵的死亡情况以及孵化后的仔鱼数量和畸形情况。孵化率、死亡率和畸形率按下列公式计算:

孵化率 = (孵化出的仔鱼总数) /(总的鱼卵个数) ×100%

死亡率 = (死亡的鱼卵个数) /(总的鱼卵个数) ×100%

畸形率 = (孵化出的仔鱼畸形个数) /(孵化出的仔鱼总数) ×100%

OA 对仔鱼的急性毒性实验,采用 96 h 半静水实验法,以 5 000 mL 的玻璃缸为容器,在每个烧杯中投入孵出 3 d 的仔鱼,约 300 尾。控制实验温度为(16 ± 2.0) ℃,并保持实验用水溶解氧为饱和溶氧的 60% 以上。每天换水 1 次,投饵 1 次。实验每一浓度组设 3 个平行样本。记录仔鱼的中毒症状和死亡数量。每天在各浓度组取一定量的仔鱼(约 1 g)保存在液氮中,带回实验室做酶活性的分析测定。

GSH-PX 和 ACP 的测定: 采用 ELISA 专用试剂盒进行。RNA/DNA 的测定: 在染毒 96 h 后,在解剖镜下,快速用解剖刀取活体仔鱼肝脏组织(1 mm^3)加入酒精制成石蜡切片,进行切片再脱蜡,吖啶橙(AO)染色,37 ℃温育 15 min,倒置于共聚焦显微镜(蔡司 LSM 5 EXCITER,德国)下观察,在不同视野内进行激光扫描,经激光共聚焦扫描系统测定分析 RNA/DNA 的荧光相素比值[10]。

1.6　数据处理

实验数据利用 SPSS 统计分析软件计算 96 h-LC_{50}并进行相应的数据检验。同时进行单因素方差分析,检验各取样组间数据的差异显著性,当 $p < 0.05$时为差异显著。用毒性蓄积程度系数(MAC)来分析生物体对毒素的蓄积与降减动态。计算公式如下:

MAC = (某观察时段间的半致死浓度差值/最初观察与最终观察点的半致死浓度差值) ×100%

2 结果(Results)

2.1 鱼卵胚胎发育暴露实验

经过48 h的孵化实验,对照组和OA处理组黑鲷鱼卵的孵化率、死亡率和畸形率见表1。由表1可见,OA毒素对鱼卵胚胎发育存在着一定的毒性效应。各处理组与对照组相比,孵化率除最高浓度组(100 nmol·L^{-1})有显著差异($p<0.05$)外,其他各处理组均无显著差异($p>0.05$)。2个最高浓度组(80 nmol·L^{-1}和100 nmol·L^{-1})与对照组的死亡率差异极其显著($p<0.01$),浓度为60 nmol·L^{-1}的处理组与对照组的死亡率差异显著($p<0.05$),其他2个低浓度组(20 nmol·L^{-1}和40 nmol·L^{-1})与对照组的死亡率无显著差异。最高浓度组(100 nmol·L^{-1})与对照组的畸形率差异极其显著($p<0.01$),浓度为80 nmol·L^{-1}的处理组与对照组的畸形率差异显著($p<0.05$),其他3组处理组与对照组相比无显著差异。

表1 大田软海绵酸对黑鲷鱼卵胚胎发育的影响

Table 1 Sub-acute toxic effect of okadaic acid on the development of eggs of *Sparus macrocephalus*

实验浓度/(nmol·L^{-1})	孵化率/%	死亡率/%	畸形率/%
0(对照组)	82.78±7.21	1.38±0.21	0.00±0.00
20	73.68±4.96	7.06±0.13	0.00±0.00
40	69.52±5.77	13.63±1.04	0.00±0.00
60	62.97±7.03	19.85±2.32*	1.33±0.03
80	51.83±4.65	28.26±3.11**	7.87±1.52*
100	32.33±3.29*	34.86±2.98**	12.33±1.64**

注:与对照组比较,* 显著性水平$p<0.05$,** 显著性水平$p<0.01$。

2.2 仔鱼96 h急性毒性实验

表2为对黑鲷仔鱼经96 h OA染毒后,半致死浓度统计结果。由表2可以看出,OA毒素对黑鲷仔鱼的半致死浓度24 h时最高,96 h时最低。仔鱼体内MAC则在96 h时达到最大值。

表2 大田软海绵酸对黑鲷仔鱼的急性毒性

Table 2 Acute toxicity of okadaic acid to larvae of *Sparus macrocephalus*

染毒时间/h	LC_{50}/(nmol·L^{-1})	MAC/%
24	51.63(27.69~68.00)	-
48	45.58(20.05~53.77)	-23.30
72	37.97(11.05~41.25)	47.28
96	25.72(7.36~31.18)	55.71

2.3 对仔鱼体内GSH-PX和ACP的活性影响

不同浓度的OA对仔鱼体内GSH-PX和ACP活性的影响结果见表3和表4。由表3可见,黑鲷仔鱼体内GSH-PX活性随着OA浓度的增加也逐渐增加,与对照组相比,3个高浓度组(40 nmol·L^{-1}、50 nmol·L^{-1}和60 nmol·L^{-1})均有显著性差异($p<0.05$)。在实验初期(24 h),各浓度组的GSH-PX活性最低,至96 h时均达到峰值。但对照组的GSH-PX活性则正好相反,24 h活性最高,96 h活性最低。

表3 大田软海绵酸对黑鲷仔鱼的GSH-PX活性的影响

Table 3 Effects of okadaic acid on the GSH-PX activity in larvae of *Sparus macrocephalus*

实验浓度/(nmol·L^{-1})	不同时间的GSH-PX活性/(nmol/mg prot)			
	24 h	48 h	72 h	96 h
0(对照组)	4.44±0.02	4.29±0.82	4.24±0.02	4.13±0.15
20	5.13±0.21	5.26±0.19	5.56±0.22	5.72±0.07
30	5.20±0.02	5.37±0.33	5.78±0.59	5.95±0.71
40	5.48±0.74*	5.66±0.12*	5.74±0.02*	6.03±0.05*
50	5.73±0.15*	5.97±0.09*	6.29±0.23*	6.48±0.07*
60	6.01±0.147*	6.28±0.4*	6.43±0.18*	6.60±0.17*

注:与对照组比较,* 显著性水平$p<0.05$。

由表4可见,各个不同浓度OA处理组中,ACP活性随着暴露时间的延长逐渐升高。而对照组中ACP活性起伏不定,变化趋势不明显。高浓度组(40 nmol·L^{-1}、50 nmol·L^{-1}和60 nmol·L^{-1})的ACP活性略高于低浓度组(20 nmol·L^{-1}和30 nmol·L^{-1})的ACP活性,但各浓度处理组与对照组间的差异性不显著($p>0.05$)。

表4 大田软海绵酸对黑鲷仔鱼的ACP活性的影响

Table 4 Effect of okadaic acid on the ACP activity in larvae of *Sparus macrocephalus*

实验浓度/(nmol·L^{-1})	不同时间的ACP活性/(U·L^{-1})			
	24 h	48 h	72 h	96 h
0(对照组)	1.55±0.02	1.49±0.02	1.58±0.02	1.721±0.15
20	1.54±0.21	1.59±0.11	1.65±0.13	1.74±0.13
30	1.63±0.13	1.67±0.09	1.70±0.07	1.75±0.02
40	1.68±0.14	1.71±0.05	1.76±0.12	1.79±0.12
50	1.75±0.08	1.78±0.05	1.83±0.02	1.87±0.15
60	1.84±0.07	1.92±0.14	1.95±0.06	1.97±0.02

2.4 对仔鱼肝脏内RNA/DNA的影响

图1展示了OA毒素的胁迫下,黑鲷仔鱼肝脏

细胞中 RNA/DNA 的变化情况。随着 OA 浓度的不断增加,RNA/DNA 值呈现逐渐下降的趋势,显示出明显的剂量-效应关系。2 组高浓度处理组(60 nmol·L^{-1}和 50 nmol·L^{-1})与对照组相比差异性显著($p<0.05$)。

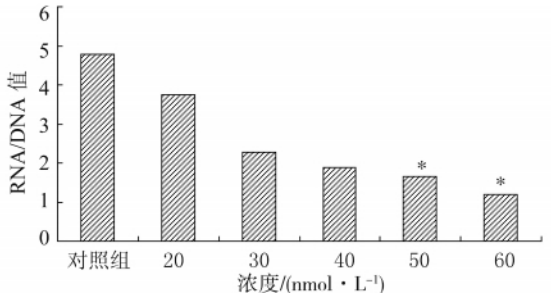

图 1　大田软海绵酸对黑鲷仔鱼肝脏 RNA/DNA 的影响

注: 与对照组比较,* 显著性水平 $p<0.05$。

Fig. 1　Effect of okadaic acid on the RNA/DNA value in hepatocyte of larvae of *Sparus macrocephalus*

3　讨论(Discussion)

3.1　大田软海绵酸对鱼卵发育的影响

由实验结果可知,OA 处理组与对照组的差异比较显著,表明 OA 毒素对黑鲷鱼卵有一定的致毒效应。各处理组中孵化率受到的影响相对较小,死亡率和畸形率受到的影响较为显著,且均表现出较明显的剂量-效应关系: 实验浓度越高,鱼卵的孵化率越低,而死亡率和畸形率则越高。一般而言,鱼卵的死亡率增加,其孵化率自然就降低。OA 毒素通过卵膜进入细胞内,对组织结构造成了一定程度的毒害,影响了胚胎细胞正常的生长发育。

3.2　大田软海绵酸对仔鱼的致死毒性及其在鱼体内的蓄积与降减动态

在 OA 的胁迫下,仔鱼出现剧烈摆动,脊椎弯曲,甚至死亡的现象。OA 毒素对黑鲷仔鱼的半致死浓度随处理时间的延长而缓慢减少,表明其致毒能力随处理时间的延长而增强的趋势微弱。仔鱼体内蓄积急性致毒效果不甚明显,这可能是因为 OA 毒素在水中显现的毒性随着时间的延长而逐渐降低,同时鱼体的耐毒性随时间的延长逐渐提高。

3.3　大田软海绵酸对仔鱼的免疫系统的影响

多项研究表明,机体调节有毒物质毒性的一个关键要素是机体代谢毒物的能力,GSH-PX 在解毒过程中起着重要作用,其活性可反映机体的中毒状况[11]。肝脏是机体内代谢极为活跃的重要脏器,耗氧量大,产生的氧自由基多,氧自由基在肝损害中起着重要作用[12]。在本实验中,在 OA 作用下,仔鱼体内发生应激反应,过多的活性氧将使机体处于氧化应激状态,脂质过氧化程度加剧,脂质过氧化代谢产物将急剧增加。GSH-PX 作为脂质过氧化产物之一,随着 OA 处理时间的延长,仔鱼体内 GSH-PX 的累积量也增大,表明 GSH-PX 酶活性的变化与外界有毒物质的胁迫浓度和时间有一定的关系[13],并表明黑鲷仔鱼体内组织中脂质过氧化程度加剧,GSH-PX 的积累造成的氧化损伤导致仔鱼受到了毒害作用。

ACP 在机体内直接参与磷酸基团的转移和代谢。在动物体内,它能广泛催化水解各种磷酸单酯与磷蛋白,其活性变化常用于检测生物体内某一个器官发生病变的情况[14]。有研究表明,ACP 作为一种酸性水解酶在细胞死亡后的自溶中起作用,细胞膜和溶酶体出现破裂导致 ACP 活性升高[15]。ACP 活性的提高,说明机体对外界干扰的抵抗力提高,从而间接增强机体的非特异性免疫能力。本实验中,ACP 的活性随着 OA 浓度的提高而提高,这可能是因为机体在受到损伤时,发生了自我防御反应。

3.4　大田软海绵酸对仔鱼的 RNA/DNA 的影响

鱼体的体内代谢主要依赖蛋白质的合成来实现。在蛋白质合成的生化过程中,信使 RNA 和转运 RNA 是重要的参与者。当蛋白质合成速度加快时,组织得到不断的修补和更新,并增生出新的组织,此时组织中 RNA 的浓度也会随之增加[16],而细胞中细胞器的 DNA 数目恒定,且 DNA 含量对环境条件的改变不敏感,因此 RNA/DNA 值会不断增大。本实验通过对不同 OA 浓度处理下的仔鱼肝脏细胞内 RNA/DNA 值的测定和分析,发现高浓度 OA 毒素胁迫下 RNA/DNA 值较对照组有显著下降($p<0.05$),且 OA 浓度与 RNA/DNA 值呈较明显的负相关性。我们推测这是由于胚胎或仔鱼在受到外界环境胁迫时,个体生长过程中的蛋白质合成速度受到了影响,大部分营养物质被用于组织的修补,而组织的更新和增生受到抑制,致使生长明显减慢。

致谢: 本次实验得到了东海水产研究所徐兆礼研究员、王翠华博士、沈昂绿同志和李磊同学的大力支持和帮助,在此表示感谢。

参考文献:

[1]　李丽璇, 汤敬谦, 杨维东, 等. 海洋底栖甲藻——利玛原甲

藻(*Prorocentrum lima*)产毒特征的研究[J]. 生态毒理学报, 2009, 4(5): 745-750

Li L X, Tang J Q, Yang W D, et al. Studies on toxin production of *Prorocentrum lima* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2009, 4(5): 745-750 (in Chinese)

[2] 柳俊秀, 胡乐琴, 何培民. 腹泻性贝毒素软海绵酸的昆明系小鼠生物学检测法的建立[J]. 生态毒理学报, 2009, 4(3): 446-451

Liu J X, Hu L Q, He P M. Establishment of Kuming strain mouse bioassay for detecting diarrhetic shellfish poisoning-okadaic acid [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2009, 4(3): 446-451 (in Chinese)

[3] 柳俊秀, 何培民. 赤潮藻毒素种类与化学结构研究进展[J]. 中国医药生物技术, 2009, 4(2): 144-147

[4] 杜伟, 陆斗定. 有毒赤潮藻及其毒素的危害与检测[J], 海洋学研究, 2008, 26(2): 89-97

Du W, Lu D D. Harmful effects and detection of toxic algae and their algal toxins [J]. Journal of Marine Sciences, 2008, 26(2): 89-97 (in Chinese)

[5] Pascual C, Sánchez A, Sánchez A, et al. Haemolymph metabolic variables and immune response in *Litopenaeus setiferus* adult males: The effect of an extreme temperature [J]. Aquaculture, 2003, 218(1-4): 637-650

[6] 邢鸣鸾, 楼建林, 徐立红. 大田软海绵酸对FL细胞DNA的损伤及凋亡相关蛋白表达的影响[J]. 水生生物学报, 2007, 31(5): 661-665

Xing M L, Lou J L, Xu L H. DNA damage and alteration of expression in apoptosis related proteins induced by okadaic acid in FL cells [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2007, 31(5): 661-665 (in Chinese)

[7] 赵晓芳, 计融. 腹泻性贝类毒素研究进展[J]. 中国热带医学, 2006, 6(1): 157-159

Zhao X F, Ji R. Advance in the research of diarrhetic shellfish poisons [J]. China Tropical Medicine, 2006, 6(1): 157-159 (in Chinese)

[8] 金小伟, 查金苗, 许宜平, 等. 3种氯酚类化合物对河蚬的毒性和氧化应激[J]. 生态毒理学报, 2009, 4(6): 816-822

Jin X W, Zha J M, Xu Y P, et al. Toxicity and oxidative stress of three chlorophenols to freshwater clam *Corbicula fluminea* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2009, 4(6): 816-822 (in Chinese)

[9] Steinhart M, Eckmann R. Evaluating the nutritional condition of individual whitefish (*Coregonous* sp.) larvae by RNA/DNA ratio [J]. Journal of Fish Biology, 1992, 40(5): 791-799

[10] 徐虹, 陈耀文, 韩太真, 等. 激光共聚焦扫描观察脑片及其神经元内RNA与DNA变化的技术[J]. 激光生物学报, 2000, 9(2): 159-161, F003

Xu H, Chen Y W, Han T Z, et al. Observation of the alternation of nucleic acid in brain slice and neurons by confocal laser scanning microscopy [J]. Acta Laser Biology Sinica, 2000, 9(2): 159-161, F003 (in Chinese)

[11] 张甬元, 徐丽红, 周炳升, 等. 鱼体内谷胱甘肽对微囊藻毒素的解毒作用的初步研究[J]. 水生生物学报, 1996, 20(3): 284-286

Zhang Y Y, Xu L H, Zhou B S, et al. Preliminary studies on the role of Gshin detoxification of microcystin-LR in fish [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 1996, 20(3): 284-286 (in Chinese)

[12] 张自强, 刘玉梅, 邓雯, 等. 柠檬酸对小鼠肝脏组织氧化应激的影响[J]. 西北农业学报, 2011, 20(4): 16-19

Zhang Z Q, Liu Y M, Deng W, et al. Effect of citric acid on oxidative stress of liver in mice [J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2011, 20(4): 16-19 (in Chinese)

[13] Petushok N, Gabryelak T, Pałecz D, et al. Comparative study of the xenobiotic metabolising system in the digestive gland of the bivalve molluscs in different aquatic ecosystems and in aquaria experiments [J]. Aquatic Toxicology, 2002, 61(1-2): 65-72

[14] 陈素丽, 陈清西, 胡天惠, 等. 长毛对虾酸性磷酸酶的纯化与性质[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 1997, 36(1): 121-125

Chen S L, Chen Q X, Hu T H, et al. Purification and properties of acid phosphatase from *Penaeus penicillatus* (Alcock) [J]. Journal of Xiamen University: Natural Science, 1997, 36(1): 121-125 (in Chinese)

[15] 田丽粉, 任仲, 崔毅, 等. 胜利原油对褐牙鲆仔稚鱼的急性毒性和幼鱼碱性磷酸酶的影响[J]. 海洋水产研究, 2008, 29(6): 95-100

Tian L F, Ren Z, Cui Y, et al. Acute toxicity of Shengli crude oil and its impact on AKP activity of *Paralichthys olivaceus* [J]. Marine Fisheries Research, 2008, 29(6): 95-100 (in Chinese)

[16] 刘存歧, 沈会涛, 吴玲玲. 日本沼虾体内RNA/DNA比值与其生长关系的研究[J]. 河北大学学报: 自然科学版, 2006, 26(5): 524-528

Liu C Q, Shen H T, Wu L L. Studies on the relationship between RNA/DNA ratio and growth rate in the shrimp *Macrobrachium nipponensis* [J]. Journal of Heibei University: Natural Science Edition, 2006, 26(5): 524-528 (in Chinese) ◆