

黑斑蛙精巢 MDA 和抗氧化酶对铅、镉暴露的生态毒性响应

施蔡雷, 张杭君, 贾秀英*

(杭州师范大学生命与环境科学学院, 杭州 310036)

摘要:以健康性成熟黑斑蛙为供试动物,以精巢组织丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性为指标,进行了水体铅、镉暴露的生态毒性响应研究.结果表明:(1)精巢 MDA 含量随铅、镉暴露浓度的升高而明显增加,且呈明显的浓度-效应关系.说明低水平铅、镉的长期暴露对黑斑蛙精巢具有一定的损伤作用;(2)SOD 活性在各处理组响应变化不明显,CAT、GSH-Px 活性则被显著诱导,说明 GSH-Px、CAT 在铅、镉引起的精巢抗氧化损伤中起着重要作用;(3)3 种抗氧化酶相比,GSH-Px 活性对铅、镉暴露响应最敏感,SOD 活性的响应最不明显,精巢 GSH-Px 活性是指示铅、镉暴露的优选生物标志物。

关键词:铅; 镉; 丙二醛; 抗氧化酶; 黑斑蛙

Ecotoxic responses of MDA and antioxidant enzymes in testes of the frog *Rana nigromaculata* due to exposures to lead and cadmium

SHI Cailei, ZHANG Hangjun, JIA Xiuying*

College of Life and Environment Sciences, Hangzhou Normal University, Hangzhou 310036, China

Abstract: Healthy adult male frogs (*Rana nigromaculata*) were exposed to lead and cadmium to determine the ecotoxic-responses of MDA content and antioxidant enzyme (SOD, CAT, GSH-Px) activities in testes. The results showed: (1) The MDA content increased significantly with the increase of Pb or Cd concentration, displaying a clear concentration-effect relationship. The changes of the MDA content could show the injured degree in testes of *Rana nigromaculata* under a long-term exposure to Pb or Cd; (2) The CAT and GSH-Px activities in testes increased significantly, whereas testicular SOD activity did not change in all Pb or Cd groups compared to control. The results indicated that GSH-Px and CAT activities played an important role in the prevention of oxidant damage in testes in response to the exposure of lead and cadmium; (3) In these three antioxidant enzymes, the GSH-Px activity was most sensitive, and the SOD activity was most insensitive to Pb or Cd exposure. Therefore, the change of GSH-Px activity in testes of the frog *Rana nigromaculata* is the best biomarker to indicate Pb or Cd exposure.

Key Words: Lead; Cadmium; MDA; antioxidant enzyme; *Rana nigromaculata*

两栖类动物是生态群落的重要组成部分,因为幼体生活在水中以及皮肤的高渗透性,污染物极易在其体内富集和放大^[1].近几十年来世界范围内的两栖类动物数量的减少与这一特性有关^[2-4],国内外诸多的研究^[5-7]表明,两栖动物尤其是蛙类是一种很好的反映环境污染状况的前哨动物。

铅、镉是环境中重要的重金属污染物.研究发现,铅、镉对有机体具有多器官和组织毒性,精巢是铅、镉作用的重要靶器官^[8-10].已有研究表明,诱导产生自由基是铅、镉毒性的主要机制之一^[11-12].脂质过氧化是细

基金项目:浙江省新苗人才计划资助项目(2008R40G2150056)

收稿日期:2009-05-08; **修订日期:**2009-12-24

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: XY_Jia@163.com

胞损伤的一种特殊形式,也是许多毒物对机体组织细胞产生作用的起点。目前国内外关于铅、镉对两栖动物的脂质过氧化损伤已开展了不少研究^[13-15],但主要集中在肝脏、肾脏,有关铅、镉对两栖动物精巢的研究还未见报道。黑斑蛙(*Rana nigromaculata*)分布广泛,且已有的研究^[16-17]表明,黑斑蛙是环境安全性评价的理想模式动物,本实验以黑斑蛙为供试动物,研究低水平铅、镉暴露对黑斑蛙精巢组织中丙二醛含量和3种抗氧化酶(超氧化物歧化酶,SOD;过氧化氢酶,CAT;谷胱甘肽过氧化物酶,GSH-Px)活性的影响,探讨铅、镉对两栖动物生殖毒性的致毒机理,为探寻两栖类动物种群数量下降的原因提供科学依据,同时也为水体重金属污染生态毒理指标体系的建立提供新的资料。

1 材料和方法

1.1 实验试剂

Pb 采用 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, Cd 采用 $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$, 均为分析纯, Pb、Cd 分别用双蒸馏水配制成 $0.3\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $1\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 母液(分别以纯 Pb^{2+} 和纯 Cd^{2+} 计), 实验时稀释成所需各浓度。

1.2 供试动物

健康成年雄性黑斑蛙捕自杭州市郊, 平均体长为 $(7.19 \pm 0.33)\text{cm}$, 平均体重为 $(36.29 \pm 6.60)\text{g}$ 。在室内盛有 2—3 cm 曝气自来水(曝气 3d 以上)的玻璃水族缸(实验前用 10% 的稀硝酸浸泡)中暂养 7d 后, 挑选健壮、规格整齐的黑斑蛙进行实验。

1.3 实验方法

1.3.1 实验处理

黑斑蛙随机分为 6 组, 每组 20 只。根据 96h 急性毒性实验, 参考铅、镉的国家标准污水综合排放标准(GB 8978—1996), 将染毒组黑斑蛙分别暴露于 3 cm 深浓度分别为 0.1 、 0.2 、 0.4 、 0.8 、 $1.6\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Pb 溶液中和 0.002 、 0.006 、 0.01 、 0.05 、 $0.1\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Cd 溶液中, 对照组黑斑蛙暴露于 3 cm 深的清洁水溶液中。实验容器为室内玻璃水族箱($60\text{cm} \times 40\text{cm} \times 35\text{cm}$), 实验用水为曝气过的自来水(实验时水温 $18\text{—}22^\circ\text{C}$, pH 值为 $6.5\text{—}7.0$, 溶氧为 $6\text{—}8\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 持续暴露 30d。实验采用静态置换法, 每天更换试验溶液, 每天投喂蚯蚓(*Esisenia foetida*)2 次, 驯养期间及实验过程中黑斑蛙基本没有出现死亡情况。染毒结束后, 用双毁髓法处死黑斑蛙, 取精巢组织待测。

1.3.2 样品处理

取精巢组织, 用蒸馏水冲洗, 吸干, 称重, 4°C 下按 1g 精巢加 4mL 预冷生理盐水的比例, 用玻璃匀浆器在冰浴中匀浆, 并于 4°C , $10\,000\text{ r/min}$ 离心 10 min, 将上清液保存于 -20°C 冰箱中待测。

1.4 指标测定

1.4.1 MDA 检测

丙二醛(MDA)测定采用硫代巴比妥酸(TBA)法, 测试步骤按试剂盒(购自南京建成生物工程研究所)说明进行。

1.4.2 抗氧化酶活性测定

样品上清液中蛋白质含量的测定采用考马斯亮兰比色法; 超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用黄嘌呤氧化法的改进—羟胺法; 过氧化氢酶(CAT)活性测定采用一般分光光度法; 谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性测定采用 5,5'-二硫代硝基苯甲酸(DTNB)比色法; 试剂均购自南京建成生物工程研究所, 测试步骤按试剂盒说明进行。

1.5 数据处理

实验所得数据均采用统计软件 SPSS 10.0 进行。各处理组与对照组之间的差异性采用 Dunnett's *t* test(2-sides), $P < 0.05$ 为具有显著性差异。所有的结果均以平均值 $\pm$ 标准误差来表示。

2 结果

2.1 精巢 MDA 对铅、镉暴露的响应

黑斑蛙精巢 MDA 含量均随着 Pb、Cd 染毒浓度的增加而呈逐渐升高的趋势(图 1)。由图 1a 可见, 在 Pb

暴露下,各染毒组精巢 MDA 含量与对照组比较均具有显著性差异($P < 0.05$);从图 1b 可见,在 $0.002 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd 暴露下,MDA 含量与对照组比较无显著性差异($P > 0.05$),在 $0.006—0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd 暴露下,MDA 含量均显著高于对照组($P < 0.05$)。说明在低浓度 Pb、Cd 的长期暴露可引起黑斑蛙精巢脂质过氧化损伤。

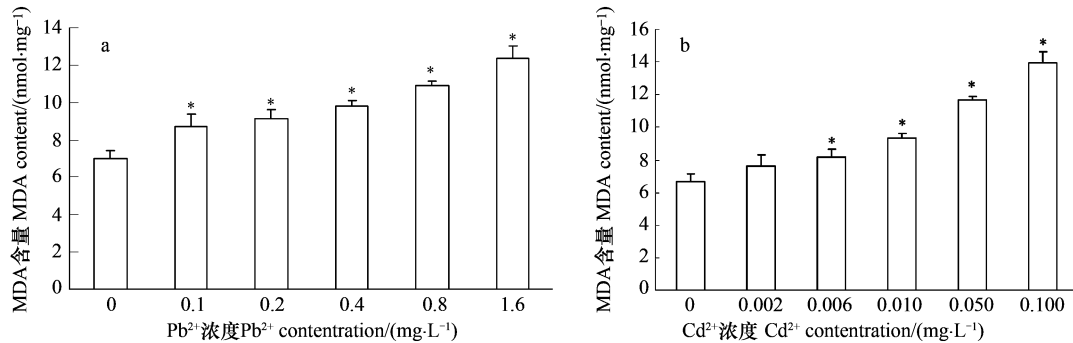


图 1 Pb、Cd 污染暴露下黑斑蛙精巢 MDA 含量变化

Fig.1 The changes of MDA contents in testis of the frog *Rana nigromaculata* exposed to Pb or Cd (* $P < 0.05$)

2.2 精巢抗氧化酶对铅、镉暴露的响应

2.2.1 SOD 活性对铅、镉暴露的响应

图 2 为铅、镉暴露下的 SOD 活性的变化。从图 2a、2b 可见,在 Pb、Cd 暴露下,各染毒组黑斑蛙精巢 SOD 酶活性与对照组之间均无显著性差异($P > 0.05$)。说明精巢 SOD 活性对低浓度 Pb、Cd 暴露没有作出明显的响应。

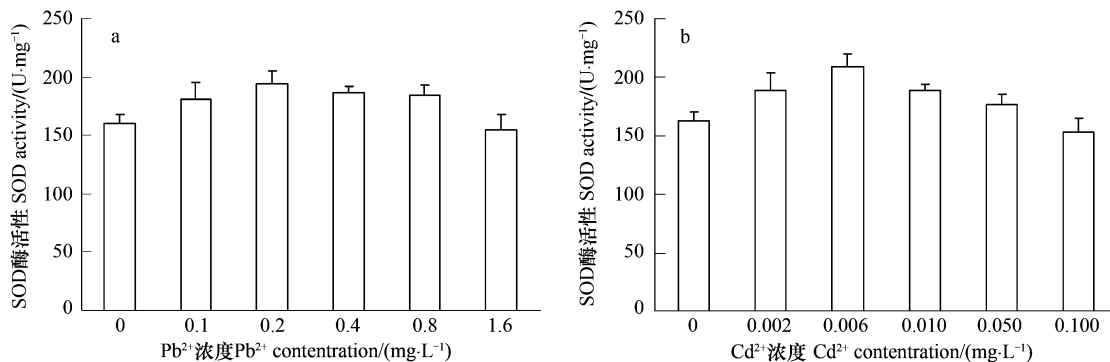


图 2 Pb、Cd 污染暴露下黑斑蛙精巢 SOD 酶活性变化

Fig.2 The changes of SOD activity in testis of the frog *Rana nigromaculata* exposed to Pb or Cd

2.2.2 CAT 活性对铅、镉暴露的响应

图 3 为铅、镉暴露下 CAT 活性变化关系图。由 Pb 与 CAT 活性的响应关系可见(图 3a),Pb 浓度为 $0.1—0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时未引起 CAT 活性的明显变化, Pb 浓度为 $0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时 CAT 活性被显著诱导($P < 0.05$), Pb 浓度升高到 $1.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时 CAT 活性有所回落,但仍显著高于对照组($P < 0.05$)。镉暴露下 CAT 活性的变化趋势基本与 Pb 相似,在 $0.002—0.006 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时未引起 CAT 活性的明显变化,而在 Cd 浓度升高到 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时 CAT 活性显著高于对照组($P < 0.05$),随着 Cd 浓度的继续升高, CAT 活性又开始下降, Cd 浓度为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时 CAT 活性回落至对照组水平。上述说明,在 Pb、Cd 暴露下,黑斑蛙精巢 CAT 产生应激性反应,促使 CAT 活性升高。从 CAT 活性响应情况分析, Cd 对精巢的毒性大于 Pb。

2.2.3 GSH-Px 活性对铅、镉暴露的响应

由图 4a 可见,精巢 GSH-Px 活性随着 Pb 暴露浓度的增加而升高,各暴露组与对照组比较均有显著性差异($P < 0.05$)。Cd 的响应趋势与 Pb 相似, GSH-Px 活性随着 Cd 暴露浓度的增加而升高, Cd 浓度为 0.002

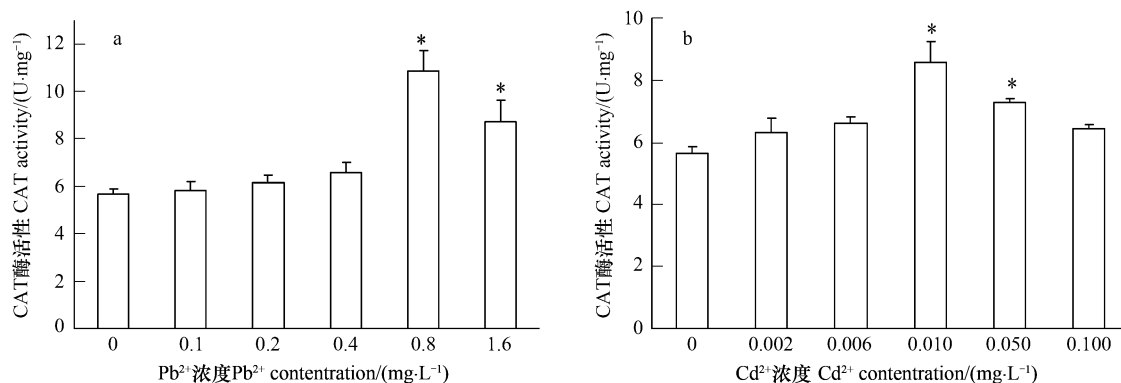


图3 Pb、Cd 污染暴露下黑斑蛙精巢 CAT 酶活性变化

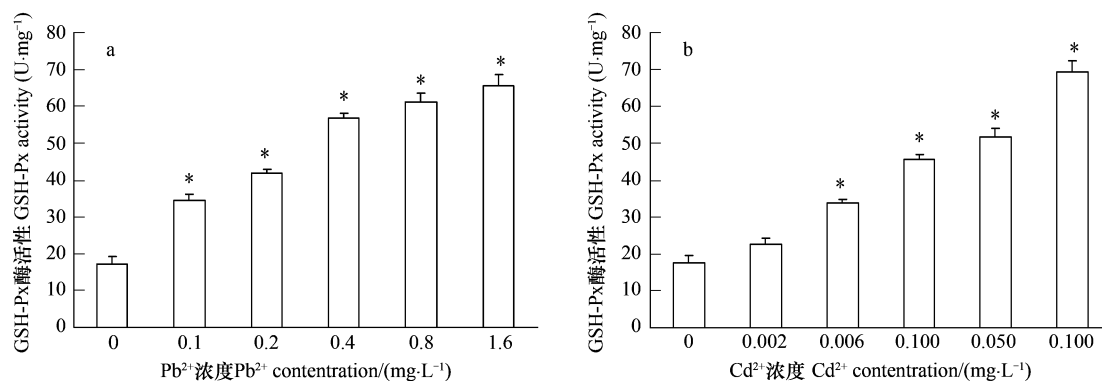
Fig. 3 The changes of CAT activity in testis of the frog *Rana nigromaculata* exposed to Pb or Cd (* $P < 0.05$)

图4 Pb、Cd 污染暴露下黑斑蛙精巢 GSH-Px 酶活性变化

Fig. 4 The changes of GSH-Px activity in testis of frog *Rana nigromaculata* exposed to Pb or Cd (* $P < 0.05$)

$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, GSH-Px 活性与对照组比较无明显差别 ($P > 0.05$); Cd 浓度为 $0.006\text{--}0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, GSH-Px 活性均显著高于对照组 ($P < 0.05$)。

2.2.4 MDA 含量、GSH-Px 活性与 Pb、Cd 暴露浓度的回归统计分析

对 MDA 含量与 Pb、Cd 暴露浓度作回归统计分析,精巢 MDA 含量与 Pb、Cd 暴露浓度均存在线性关系, R^2 分别为 0.8710、0.9310。说明 MDA 含量与 Pb、Cd 暴露浓度之间均呈现一定的浓度—效应关系。将 Pb、Cd 暴露浓度与 GSH-Px 活性进行统计回归, Pb、Cd 暴露与 GSH-Px 活性之间的可决系数分别为 $R_{\text{Pb}}^2 = 0.9254$ 和 $R_{\text{Cd}}^2 = 0.8553$, 暴露浓度与 GSH-Px 活性的拟合效果较好。表明精巢 MDA 含量、GSH-Px 活性对 Pb、Cd 毒性具有指示作用。

表1 精巢 MDA 含量和 GSH-Px 活性与 Pb、Cd 暴露浓度的回归统计结果

Table 1 Results of statistic analysis to the MDA, GSH-Px and the Pb、Cd concentration

指标 Item	回归方程 Regression equation	R^2	P
MDA _{Pb}	$Y = 2.8845X + 8.168$	0.8710	$P < 0.05$
MDA _{Cd}	$Y = 66.409X + 7.7156$	0.9310	$P < 0.05$
GSH-Px _{Pb}	$Y = -36.01X^2 + 82.991X + 23.717$	0.9254	$P < 0.05$
GSH-Px _{Cd}	$Y = -3894.1X^2 + 816.95X + 25.364$	0.8553	$P < 0.05$

3 讨论

3.1 MDA 对铅、镉暴露的响应

MDA 是细胞发生脂质过氧化反应中最具代表性的产物,其含量的多少可指示脂质过氧化的程度^[18]。本

实验结果表明,黑斑蛙在 $0.1\text{--}1.6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Pb}$ 、 $0.002\text{--}0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Cd}$ 浓度暴露下,精巢 MDA 对铅、镉暴露响应基本相似,MDA 含量均随着铅、镉暴露浓度的增加而有显著的升高,证实了低浓度铅、镉的长期暴露可引起黑斑蛙精巢的脂质过氧化水平增高,产生氧化性损伤。研究表明,MDA 能与膜上的蛋白质氨基酸残基或核酸反应生成 Schiff 碱,增大膜的透性,促进膜的渗漏,降低膜的稳定性,破坏细胞膜上的离子通道,从而使细胞膜的结构与功能发生紊乱,严重时导致细胞死亡^[19]。可见,铅、镉暴露引起的膜脂过氧化损伤,可能会导致生精上皮细胞膜、支持细胞和间质细胞受损,从而导致两栖动物生殖能力的下降。

汪美贞等研究表明^[15],黑斑蛙在 $12.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Cd}$ 浓度中暴露 20d,肝脏 MDA 含量显著高于对照组。本实验结果发现,黑斑蛙经皮在 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Pb}$ 、 $0.006\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Cd}$ 溶液中暴露 30d,精巢 MDA 含量就显著高于对照组,且 MDA 含量与铅、镉暴露浓度呈现一定的浓度—效应关系。可见,精巢 MDA 对铅、镉暴露的响应比肝脏更敏感,可优先选择用于监测水体铅、镉污染。比较铅、镉对精巢的脂质过氧化损伤作用,镉的毒性大于铅,这与王丙莲等^[20]研究结果基本一致。

3.2 3 种抗氧化酶对铅、镉暴露的响应及差异性分析

自从 Mccord 和 Fridovich^[21]提出生物活性氧伤害学说以来,以 SOD 为中心的抗氧化酶系统在生物抗逆境胁迫中的作用受到了高度重视。众多有关重金属胁迫下动物体内抗氧化酶系统活性变化的研究表明,动物体内抗氧化酶活性的高低直接影响着动物对重金属胁迫的适应能力或抵抗重金属胁迫伤害的能力^[22-23]。本实验发现,精巢抗氧化酶对铅、镉暴露的响应基本一致,但 3 种抗氧化酶活性的响应变化存在明显的差异。SOD 作为一个重要的抗氧化抵御酶,它主要将细胞内的超氧阴离子自由基(O_2^-)歧化为 H_2O_2 ,来维持 O_2^- 在一个稳定的水平,而 CAT 的主要作用是把 H_2O_2 转化为 H_2O ^[24]。本实验的结果没有显示黑斑蛙精巢组织 SOD 活力在铅、镉的胁迫下发生明显变化,而 CAT 活性在低浓度铅、镉暴露下没有发生明显变化,但随着铅、镉暴露浓度的升高,CAT 清除 H_2O_2 的能力被激活,CAT 活性被显著诱导。说明机体在本实验铅、镉浓度的胁迫下 H_2O_2 是信号传输的中心物质。GSH-Px 是细胞内清除过氧化物的关键酶,酶活性的高低可反映细胞中过氧化物的多少及膜脂质过氧化程度。在较低浓度铅、镉暴露下黑斑蛙精巢 GSH-Px 活性就呈现出升高的趋势,且在本实验所设浓度范围内,活性随着铅、镉暴露浓度的增加而升高,说明黑斑蛙精巢组织受到了一定程度的伤害,在铅、镉的诱导下产生了大量的自由基,过量的自由基得不到及时清除而发生了过氧化反应,产生的过氧化物逐渐积累,使 GSH-Px 活性逐渐提高。可以推测,GSH-Px、CAT 在铅、镉引起的精巢毒性中起着重要作用。比较精巢组织中的 3 种抗氧化酶活性对铅、镉暴露的响应变化不难发现,GSH-Px、CAT 活性的响应变化比 SOD 明显,而 GSH-Px 活性的响应比 CAT 活性更加明显,且 GSH-Px 活性与 Pb、Cd 暴露浓度之间具有较好的拟合效果。因此,3 种精巢抗氧化酶相比,GSH-Px 活性的变化是指示铅、镉暴露增强的较理想的优选生物标志物。

References:

- [1] Sharpe R M, Skakkebaek N E. Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract. *Lancet*, 1993, 341: 1392-1395.
- [2] Blaustein A R, Wake D B. The puzzle of declining amphibian populations. *Scientific American*, 1995, 272:56-61.
- [3] Alford R A, Dixon P M, Pechmann J H. Ecology. Global amphibian population declines. *Nature*, 2001, 412(6848):499-500.
- [4] Kiesecker J M, Blaustein A R, Belden L K. Complex caused of amphibian population declines. *Nature*, 2001, 410(6829):681-684.
- [5] Kiesecker J M. Synergism between trematode infection and pesticide exposure: a link to amphibian limb deformities in nature? *Proceedings of the National Academy of Sciences(USA)*, 2002,99:9900-9904.
- [6] Taylor B, Skelly D, Demarchis L K, Slade M D, Galusha D, Rabinowitz P M. Proximity to pollution sources and risk of amphibian limb malformation. *Environmental Health Perspectives*, 2005, 113(11):1497-1501.
- [7] Qin X F, Qin Z F, Yang L, Xue X B. Effects of herbicide acetochlor on the gonadal development of *Xenopus Laevis*. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2006, 1(2):135-138.
- [8] Blottner S, Frolich K, Roelants H. Influence of environmental cadmium on testicular proliferation in roe deer. *Reproductive Toxicology*, 1999, 13:

261-267

- [9] Needleman H. Lead poisoning. Annual Review of Medicine, 2004, 55:209-222.
- [10] Shotyk W, Le Roux G. Biogeochemistry and cycling of lead. Metal Ions in Biological Systems, 2005, 43:239-275.
- [11] Lee DH, Lim JS, Song K, Boo Y, Jacobs J. Graded associations of blood lead and urinary cadmium concentrations with oxidative-stress-related markers in the U. S. population; results from the third National Health and Nutrition Examination Survey. Environmental Health Perspectives, 2006, 114(3):350-354.
- [12] Jureczuk M, Moniuszko-Jakoniuk J, Brzoska M M. Involvement of some low-molecular thiols in the peroxidative mechanisms of lead and ethanol action on rat liver and kidney. Toxicology, 2006, 219(1/3):11-21.
- [13] Vogiatzis A K, Lombourdis N S. Cadmium Accumulation in Liver and Kidneys and Hepatic Metallothionein and Glutathione Levels in *Rana ridibunda*, After Exposure to CdCl_2 . Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 1998, 34:64-68.
- [14] Jia X Y, Dong A H, Ma X M. Affection of lead stress on antioxidant enzyme activities and malonyldialdehyde contents of *Bufo bufo* gargarizans. China Environmental Science, 2004, 24(2):155-158.
- [15] Wang M Z, Jia X Y, Dong A H, He X, Chu J J. Effects of cadmium on oxidative stress and antioxidative ability in Frog *Rana nigromaculata* under a long-term exposure. Acta Ecologica Sinica, 2006, 26(6):1718-1724.
- [16] Jia X Y, Yang Y Q. Subchronic toxic effects of cadmium on the viscera tissues of the frog *Rana nigromaculata*. China Environmental Science, 2006, 26(2):228-232.
- [17] Wang M Z, Jia X Y. Low levels of lead exposure induce oxidative damage and DNA damage in the testes of the frog *Rana nigromaculata*. Ecotoxicology, 2009, 18(1):94-99.
- [18] Campana O, Sarasquete C, Blasco J. Effect of lead on ALA-D activity, metallothionein levels, and lipid peroxidation in blood, kidney, and liver of the toadfish *Halobatrachus didactylus*. Ecotoxicology and Environ Safety, 2003, 55:116-125.
- [19] Li G, Li L, Yin D. A novel observation; melatonin's interaction with malondialdehyde. Neuro Endocrinology Letters, 2005, 26(1):61-66.
- [20] Wang B L, Zhang Y M, Tan Y F, Hou Y N, Liu Y. Influence of cadmium and lead on the DNA methylation level of loach. Journal of Toxicology, 2006, 20(2):78-80.
- [21] McCord J M, Fridovich I. Superoxide dismutase: An enzyme function for erythrocyte (Hemocytin). Journal of Biological Chemistry, 1969, 244:6049-6055.
- [22] Company R, Serafim A, Bebianno M J, Cosson R, Shillito B, Fiala-M dioni A. Effects of cadmium, copper and mercury on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the gills of the hypothermal vent mussel *Bathymodiolus azoricus*. Marine Environmental Research, 2004, 58:377-381.
- [23] Bocchetti R, Fattorini D, Gambi M C, Regoli F. Trace metal concentrations and susceptibility to oxidative stress in the polychaete *Sabella spallanzanii*; potential role of antioxidants in revealing stressful environmental conditions in the Mediterranean. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 2004, 46:353-361.
- [24] Geracitano L, Monserrat J M, Bianchini A. Physiological and antioxidant enzyme responses to acute and chronic exposure of *Laeonereis acuta* (*Polychaeta Nereidae*) to copper. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2002, 277:145-156.

参考文献:

- [7] 秦晓飞, 秦占芬, 杨蕾, 徐晓白. 除草剂乙草胺对非洲爪蟾性腺发育的影响. 生态毒理学报, 2006, 1(2):135-138.
- [14] 贾秀英, 董爱华, 马小梅. 铅胁迫对蟾蜍抗氧化酶活性及丙二醛含量的影响. 中国环境科学, 2004, 24(2):155-158.
- [15] 汪美贞, 贾秀英, 董爱华, 何鑫, 褚姣娇. 镉长期暴露对黑斑蛙的氧化胁迫和抗氧化能力的影响. 生态学报, 2006, 26(6):1718-1724.
- [16] 贾秀英, 杨亚琴. 镉对黑斑蛙脏器的亚慢性毒性效应. 中国环境科学, 2006, 26(2):228-232.
- [20] 王丙莲, 张迎梅, 谭玉凤, 侯亚妮, 刘阳. 镉铅对泥鳅 DNA 甲基化水平的影响. 毒理学杂志, 2006, 20(2):78-80.