

两种不同株铜绿微囊藻培养液对大型溞的毒性效应研究

张世羊^{1,2} 成水平¹ 贺 锋¹ 庄德辉¹ 吴振斌¹

(1. 中国科学院水生生物研究所,淡水生态与生物技术国家重点实验室,武汉 430072 2. 中国科学院研究生院,北京 100049)

摘要: 为了探讨铜绿微囊藻对浮游甲壳动物溞类的毒害效应, 试验选取了两种不同株系(产毒和非产毒)的藻种, 采取利用其培养液的方法, 以研究铜绿微囊藻在生长过程中向水体中释放的毒素或类毒素物质对溞类的效应以及比较不同株系间效应的差异性。研究结果表明: (1) 试验所选铜绿微囊藻产毒和非产毒株系的培养液均能对大型溞(*Daphnia magna*)的生长繁殖构成影响, 表现为低剂量起促进效应, 高剂量起抑制效应; (2) 铜绿微囊藻产毒株较非产毒株更能影响大型溞的存活; (3) 铜绿微囊藻产毒和非产毒株对大型溞的生长影响差异不大, 但对其繁殖却存在明显不同, 表现为株系 942 的抑制效应更强。可以初步推断, 在以产毒株铜绿微囊藻为优势种形成“水华”的环境下, 大型浮游甲壳动物溞类数量和生物量减少的主要原因可能是由于毒素对溞类较高的致死效应; 而以非产毒株形成优势群体的水体里, 其主要原因可能并非毒素的效应, 而是由于其他原因, 如藻类群体的形成阻碍摄食, 缺乏必需脂肪酸等。

关键词: 铜绿微囊藻; 浮游甲壳动物; 溞类; 毒素

中图分类号: Q178.1⁺2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2008)05-0637-06

蓝藻“水华”会引起水域生态系统的紊乱, 关于其危害报道较多^[1-3]; 其中之一就是会导致水体中大型浮游甲壳动物枝角类数量和生物量的减少以及浮游动物的小型化^[4], 究其机理研究较多, 却没有形成一致意见; 关于蓝藻对溞属产生负面效应的原因概括起来主要有四点: (1) 藻毒素的效应; (2) 蓝藻差的味觉; (3) 较低的营养价值; (4) 形态学上的不利^[5]。

铜绿微囊藻是形成“水华”的常见种之一, 关于其对溞类的有害效应研究较多^[5-8], 但在方法上几乎都是将微囊藻直接添加到试验液中再观察其对溞类的效应, 这样可能难以排除其他因素的干扰从单一角度去考虑上述因素对溞属的效应^[5-9]。本试验利用两种不同株系(产毒和非产毒)铜绿微囊藻纯培养液, 从另一角度来探讨不同株系铜绿微囊藻在生长过程中向水体中释放的毒素或类毒素物质对大型溞的效应以及比较这两种不同株系间的差异性。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验藻种的来源 试验所用两种不同株系铜绿微囊藻均购自中国科学院水生生物研究所淡水藻种库, 编号为 469 和 942 经藻毒素检测鉴定, 前者为非产毒素株系, 后者为产毒素株系。

1.1.2 试验生物及其饵料斜生栅藻的获取 试验生物为本实验室多年纯系培养的大型溞。培养大型溞的实验用水为经活性炭过滤的自来水, 再经曝气充氧并静置 24h 以上。毒性试验稀释水每 10L 水中含有 $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 2.94g MgSO_4 1.23g NaHCO_3 0.65g KCl 0.063g(根据国家标准 GB/T 13266-91 水质-物质对溞类(大型溞)急性毒性测定方法)。为消除大型溞母体龄期上的差异, 将同一个母体产生的幼体分别培养在 100mL 烧杯中, 每天更换培养液, 并饲以斜生栅藻, 浓度控制在 3×10^5 ind./mL 左右。取大型溞第 3—6 成龄产生的幼体溞做试验材料。

收稿日期: 2006-12-12 修订日期: 2007-10-19

基金项目: 国家杰出青年科学基金项目(39925007); 国家“十五”科技攻关项目(2002AA60121); 中国科学院知识创新工程重要方向项目(KSCX2-SW-102)资助

作者简介: 张世羊(1980-), 男, 安徽庐江人; 在读博士生; 主要从事浮游动物生态学研究。E-mail: zhangshiyang@ihb.ac.cn

通讯作者: 吴振斌, 研究员; Tel 027-68780675 E-mail: wuzb@ihb.ac.cn

斜生栅藻的培养基为“水生 4号”,培养条件为 (25±1)℃,光强 3000k 左右,全日照,每天早晚摇匀一次,生长至指数生长期末,静置待其沉淀后将上清液倒掉,取浓缩后的藻液做饵料。

1.2 方法

1.2.1 两种株系铜绿微囊藻的培养及其生长曲线的测定 在 2000mL 的厄伦美厄三角瓶中加入经过高温灭菌的 BG11 培养基 1000mL,将生长在对数期的铜绿微囊藻在 4℃,5000 r/min 条件下离心 5 min,将藻泥无菌操作接种至上述培养基中,使得每瓶起始光密度 OD 值 (λ= 520nm, 参比: BG11 培养基) 为 0.078 培养温度 (25±0.5)℃, 12L:12D, 光强 2000 k 左右,每种株系设置三个重复,每天早晚均振荡摇匀一次并于每天定时测其光密度 OD (λ= 520nm) 值^[10],试验持续 10d。待培养至第 10 天,将同一株系的原藻液混合摇匀后,取样在显微镜 (OLYMPUS BH-2)WHK 15×40 倍镜下计数,计数两遍取其均值,再换算出藻的最终生长密度。混合液经 0.45μm 的滤膜过滤后,再经曝气充氧即得试验所用的滤液。

取每种株系三个重复测得的光密度均值,按天数绘制成如下曲线:各点为光密度均值±2 标准差。从生长曲线可以看出,这两种藻的生长状况很接近,经镜检计数,测得两种株系混合藻液的最终密度分别为: 2.6×10⁷ ind./mL (469) 和 1.2×10⁷ ind./mL (942)。虽然初始接种藻密度相同,但经过一段时间培养后,藻的密度出现分歧,表现为 469 较 942 生长快 (图 1)。

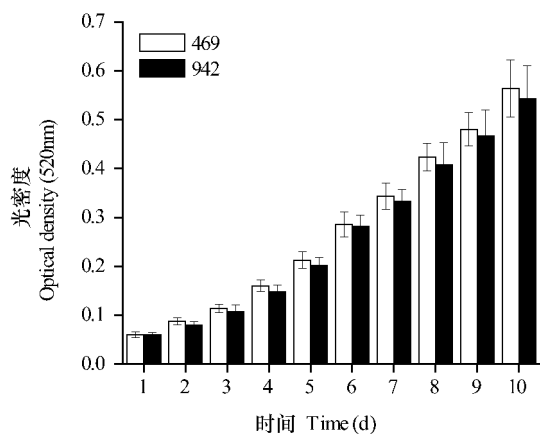


图 1 两种株系铜绿微囊藻的生长曲线,误差线为 2 倍标准差
Fig.1 Growth curve of the two strains of *Microcystis aeruginosa* at different days, error bars indicate 2 SD

1.2.2 毒性试验方法 为了消除滤液中 BG11 培养基本身所含的化学物质对大型溞的背景效应,故

设置了一组 BG11 培养基对大型溞的慢性毒性效应。按照溞类毒性试验方法^[11],试验在 100mL 烧杯中进行,每只烧杯中试验液总体积为 50mL,置溞一个 (溞龄 < 12h 且来自同一批两个大小相近的母体),按照 BG11 培养基占试验液总体积的百分比,将梯度设置为 20%、40%、60%、80%、100%,加上对照 (CK) 共 6 组,每组 5 个重复。试验期间温度为 (25±0.5)℃,光暗比为 12L:12D,光强 1500 lx。每天定时在解剖镜下测量溞的体长,记录其存活、脱壳数、怀卵和产仔情况,并将新产生的幼体移出;同时更换试验液,并喂以斜生栅藻,栅藻的浓度约为 3×10⁵ ind./mL。试验持续到溞的第 7 龄。

两种不同株系的铜绿微囊藻滤液的急性毒性试验参照 US EPA 标准方法^[12] 并有所改进,即在 100mL 烧杯中,置试验液 50mL;设置 6 个试验浓度组和一个空白对照组,每组 3 个平行。每个烧杯中随机放入 5 只小于 24h 龄的新生健康幼体溞 (来自同一批母体),试验持续 48h,试验终点为死亡 (以心脏停止跳动为标准),试验期间条件同上。

滤液的慢性毒性试验同 BG11 培养基的毒性试验方法,即在 100mL 烧杯中置试验液 50mL,每只烧杯中置溞一个 (溞龄 < 12h 且来自同一批母体)。按照滤液占试验液总体积的百分比,设置 6 个浓度梯度,加上对照共 7 组,每组 5 个重复。两种株系的梯度设置相同,梯度的设置要结合 BG11 培养基的慢性毒性和滤液的急性毒性试验结果。试验数据的记录和试验液的更换同 BG11 培养基的慢性毒性试验。

1.2.3 数据处理 统计分析在 spss13.0 版软件中进行,使用重复测量方差分析探讨株系、浓度梯度和龄期对大型溞生长的影响及各因素间的交互效应;使用概率单位回归处理滤液的急性毒性试验结果。

比较大型溞的繁殖按前三代产生的幼体数计算,因为前三代产生的幼体数最能体现溞的种群增长率^[13],种群增长率按如下公式计算 (Stearns 1992)^[14]:

$$r = \frac{\ln \sum_{x=0}^{\infty} l_x m_x}{T}$$

r-种群增长率; x-溞的年龄 (Instars); l_x-第 x 龄的存活率; m_x-第 x 龄的繁殖率; T-首次繁殖的时间 (d)。使用双因素方差分析探讨株系和浓度梯度对大型溞种群增长率的影响。

2 结 果

2.1 BG 11培养基毒性试验

首先,在对照组 (CK)及其他各试验浓度组中,溞的存活率均为 100%。从图 2和图 3可以看出,随着 BG 11浓度梯度的增加,大型溞的生长和繁殖都受到了显著的抑制。

重复测量方差分析结果表明,大型溞的体长在不同的龄期和浓度处理组间均存在极显著差异 ($p < 0.01$),且龄期和处理间的交互作用明显 ($p < 0.01$);经多重比较 (LSD)发现,体长在对照组与 20%、40% 浓度组间无显著性差异,而与其余三组差异明显。因此,在滤液的慢性毒性试验中,为了避免

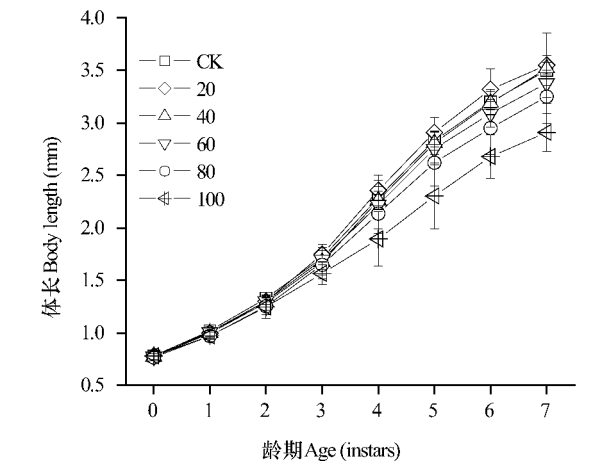


图 2 不同处理下大型溞的平均体长与龄期的关系,误差线为 2倍标准差

Fig 2 Mean body length (mm) of *Daphnia magna* in successive instars under different treatments error bars indicate 2 SD

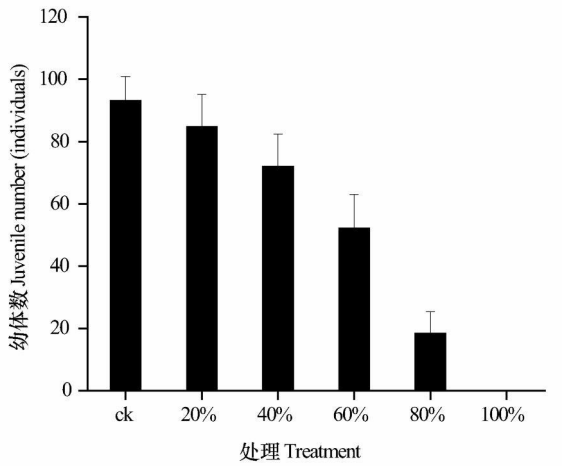


图 3 不同处理下大型溞的平均产仔数 ± 1 倍标准差

Fig 3 Average offspring per *Daphnia* under different treatments error bars indicate 1 SD

BG 11培养基本身所含化学物质对试验产生的影响,滤液占试验液总体积的百分比以不超过 40% 为宜。

2.2 滤液的急性毒性试验

先进行大范围浓度梯度系列的预试验,得出大型溞 48h 的最大耐受浓度和最低全致死浓度。本试验这两种滤液对大型溞的急性毒性试验浓度梯度设置 (表 1)。

经概率单位回归分析,滤液 942 对大型溞 48h 的半数致死浓度 (48h-LC50) 为 14.4% (体积比),滤液 469 对大型溞 48h 无致死效应。此外,由卡方检验的显著性水平还可以看出,方程式对数据的拟合优度是满意的 ($p = 0.747$) 且满足两条直线互相平行的假设 ($p = 1.000$)。

表 1 两种不同株铜绿微囊藻培养液对大型溞的急性毒性

Tab. 1 Acute toxicity of the two filtered culture media to *Daphnia magna*

株系 Strain	株系 469 Strain of 469			株系 942 Strain of 942		
	浓度梯度	试验大型溞个体数	48h致死数	浓度梯度	试验大型溞个体数	48h致死数
	Gradients(ratio of volume %)	Testing number of <i>Daphnia</i>	Death number for 48h	Gradients(ratio of volume %)	Testing number of <i>Daphnia</i>	Death number for 48h
1	0	15	0	0	15	0
2	50	15	0	6	15	3
3	60	15	0	12	15	6
4	70	15	0	18	15	9
5	80	15	0	24	15	13
6	90	15	0	30	15	10
7	100	15	1	36	15	11

2.3 滤液的慢性毒性试验

综合 BG 11培养基慢性毒性试验和两种株系滤液的急性毒性试验结果,将滤液的慢性毒性试验梯

度设置为: 0、1%、2%、4%、8%、20%、40% (体积比)。结果如下:

株系 469各浓度组下大型溞均存活至第 7龄; 株

系 942 20%、40% 二浓度组 2d后,大型蚤全部死亡,8%组 3d后全部死亡,4% 组至第 7 龄蚤的存活率为 60%,1% 和 2% 两组至第 7 龄蚤全部存活。显然,这两种不同株系铜绿微囊藻的培养液对蚤的存活存在差异。

由图 4可以看出,大型蚤在生长初期,各浓度组体长差异不明显,但在后期(5th、6th、7th三龄),这两种株系不同处理下蚤的体长出现明显分化。因此,取大型蚤 5th、6th、7th三龄下的体长进行重复测量方

差分析,这一点与 Luerling的做法不同,他是取蚤前三龄下的体长进行分析^[5];统计结果表明,大型蚤的体长在这两种株系间的差异不显著($p > 0.05$),但在龄期和浓度梯度二因素间差异极显著($p < 0.01$)。经多重比较(LSD)发现,大型蚤在这两种株系滤液的处理下,体长均有随浓度梯度增加而下降的趋势。与对照组相比,这两种株系均表现为低浓度梯度促进生长,高浓度抑制。

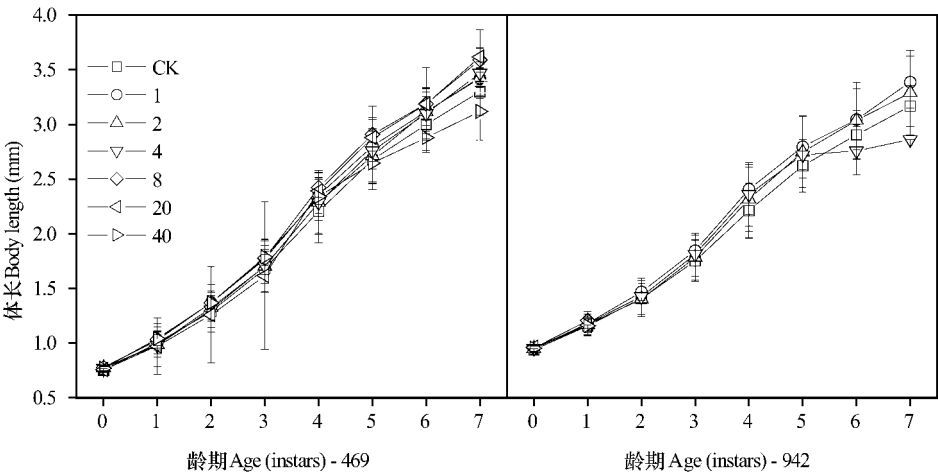


图 4 两种滤液不同处理下大型蚤的平均体长与龄期的关系,误差线为 2 标准差

Fig 4 Mean body length (mm) of *Daphnia magna* in successive instars under different treatments, error bars indicate 2 SD

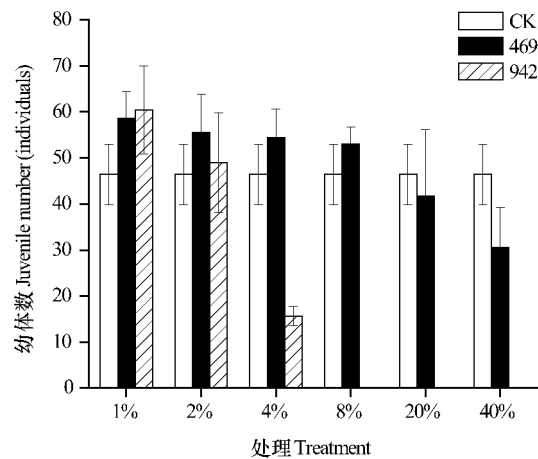


图 5 不同处理下大型蚤的平均产仔数 ±1 倍标准差

Fig. 5 Average offspring per *Daphnia* under different treatments, error bars indicate 1 SD

由图 5可以看出,株系 469 各浓度组下大型蚤均产生幼体,而株系 942 因为较低的存活率只有前三个浓度组产生幼体,并且这两种株系低浓度组产生的幼体数均高出对照组,即低浓度组有促进大型蚤繁殖的效应。经二因素方差分析发现,大型蚤的

种群增长率在株系和浓度梯度间均达极显著水平($p < 0.01$),且二者的交互作用明显($p < 0.05$);同时随浓度梯度的增加,二株系滤液作用下蚤的增长率均有下降的趋势。

3 讨论

铜绿微囊藻分为产毒株系和非产毒株系。产毒株系能够产生胞内毒素,并能够在生长过程中向水体中释放。已有研究报道,“水华”发生的水体中能够检测到藻毒素^[15-17],特别是在“水华”爆发后期,由于藻细胞的大量死亡破裂而引发水体中藻毒素含量的骤增^[18];关于藻毒素的毒害效应研究较多,雷腊梅和宋立荣的研究表明,微囊藻毒素 LR 能够对多种纯培养的细胞产生明显的毒性效应^[19];Luerling 研究发现,铜绿微囊藻非产毒株也能产生类似于毒素的化学物质^[5]。本研究证实了这一观点,并且这种有害物质在低剂量下对蚤类的生长繁殖起促进作用,与 Chen *et al.* 研究报道一致^[20]。

本研究在探讨铜绿微囊藻产毒株和非产毒株对大型蚤的毒性效应差异时,没有考虑到滤液中有害

物质的准确含量,但是从这两种株系铜绿微囊藻的生长曲线可以看出,两者的生长状况很相似,最终藻密度株系 469 较株系 942 高(见方法 1.2.1)。而研究结果表明,株系 942 对大型溞的毒害效应明显强于株系 469 因此,可以排除这两种株系滤液因藻细胞密度不同造成效应差异的可能。

从研究结果来看,铜绿微囊藻产毒和非产毒株对溞类的生长影响差异不大,但对存活和繁殖,株系 942 效应明显强于株系 469 这可能跟生殖指标是溞类最敏感的指标有关^[21]。试验条件下存活的溞均可以产生幼体。因此,可以初步推断,在以产毒株铜绿微囊藻为优势种形成“水华”的环境下,大型浮游甲壳动物溞类数量和生物量减少的主要原因可能是由于毒素对溞类较高的致死效应;而以非产毒株形成优势群体的水体里,其主要原因可能并非毒素的效应,而是由于其他原因,如藻类群体的形成阻碍摄食,缺乏必需脂肪酸等。

本研究表明, BG 11 培养基对大型溞的生长和繁殖也存在效应,因此,可以推断在富营养化水体中,过高的营养盐含量可能也是造成溞类不能存活的原因之一;本研究同时也证实了非产毒株铜绿微囊藻能够产生对溞类生长繁殖构成影响的有害物质,具体是何种有害物质,有待进一步研究。

4 结 论

通过以上研究表明,所选铜绿微囊藻产毒和非产毒株系的培养液均能对大型溞的生长繁殖构成影响,表现为低剂量起促进效应,高剂量抑制;铜绿微囊藻产毒株较非产毒株更能影响大型溞的存活;铜绿微囊藻产毒和非产毒株对大型溞的生长影响差异不大,但对其繁殖却存在明显不同,表现为株系 942 的抑制效应更强。

致谢:

本工作得到刘保元先生、张甬元先生、梁威博士、刘爱芬博士和高云霓、王静、朱俊英及课题组其他成员的支持和帮助,作者在此深表谢意。

参考文献:

- [1] Dortch Q. Nutrients and harmful algal blooms: General issues and examples from the northern Gulf of Mexico [J]. *Journal of Phycology*, 2003, 39(1): 13
- [2] Hunter P R. Cyanobacterial toxins and human health [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 1998, 84(1): 35—40
- [3] Visser P M, Ibelings B W, Van D V B, *et al* Artificial mixing prevents nuisance blooms of the cyanobacterium *Microcystis* in Lake Nieuwe Meer, the Netherlands [J]. *Freshwater Biology*, 1996, 36(2): 435—450
- [4] Ghadouani A, Pinel-Aloul B, Prepas E E. Effects of experimentally induced cyanobacterial blooms on crustacean zooplankton communities [J]. *Freshwater Biology*, 2003, 48(2): 363—381
- [5] Luerling M. *Daphnia* growth on microcystin-producing and microcystin-free *Microcystis aeruginosa* in different mixture with the green alga *Scenedesmus obliquus* [J]. *Limnol. Oceanogr.*, 2003, 48(6a): 2214—2220
- [6] Luerling M. Effects of microcystin-free and microcystin-containing strains of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* on growth of the grazer *Daphnia Magna* [J]. *Environmental Toxicology*, 2003, 18(3b): 202—210
- [7] Ferrão-Filho A S, Azevedo S M F O, DeMott W R. Effects of toxic and non-toxic cyanobacteria on the life history of tropical and temperate cladocerans [J]. *Freshwater Biology*, 2000, 45(1): 1—19
- [8] He J Y, He Z R, Guo Q L. The toxicity of *Microcystis aeruginosa* to fishes and *daphnia* [J]. *Journal of Lake Science*, 1997, 9(1): 49—56 [何家苑, 何振荣, 郭琼林. 有毒铜绿微囊藻对鱼和溞的毒性. 湖泊科学, 1997, 9(1): 49—56]
- [9] DeMott W R, Miller Navaara D C. The importance of highly unsaturated fatty acids in zooplankton nutrition: evidence from experiments with *Daphnia*, a cyanobacterium and lipid emulsions [J]. *Freshwater Biology*, 1997, 38(3): 649—664
- [10] Liu H T, Li J X i Y, *et al*. Effect of copper ion on the growth and physiology of *Microcystis aeruginosa* [J]. *Journal of Zhengzhou University (Medical Sciences)*, 2004, 39(1): 62—65 [刘红涛, 李杰, 席宇, 等. 铜离子对铜绿微囊藻生长及生理的影响. 郑州大学学报(医学版), 2004, 39(1): 62—65]
- [11] Committee of State Environmental Protection Agency. 《Handbook of aquatic organism monitoring》. Handbook of Aquatic Organism Monitoring [M]. Nanjing: Nanjing University Press, 1993 [国家环保局《水生生物监测手册》编委会编. 水生生物监测手册. 南京: 东南大学出版社, 1993]
- [12] US EPA. *Daphnia* Chronic Toxicity Test Ecological Effects Test Guidelines OPPTS 850.1300 EPA-712-C-96-120 [Z]. Washington D C, USA, 1996
- [13] Vanni M J, Lampert W. Food quality effects on life history traits and fitness in the generalist herbivore *Daphnia* [J]. *Oecologia*, 1992, 92(1): 48—57
- [14] Stearns S C. The evolution of life histories [M]. New York: Oxford University Press, 1992, 249
- [15] Wu S K, Xie P, Liang G D, *et al*. Relationships between microcystins and environmental parameters in 30 subtropical shallow lakes along the Yangtze River, China [J]. *Freshwater Biology*, 2006, 51(12): 2309—2319
- [16] Ndebele M R, Magadza C H D. The occurrence of microcystin-LR in Lake Chivero, Zimbabwe [J]. *Lakes and Reservoirs Research and Management*, 2006, 11(1): 57—62
- [17] Xu Q J, Gao G, Chen W M. Periodical change of microcystin in Taihu Lake and its relationship with plankton [J]. *China Environmental Science*, 2005, 25(1): 28—31 [许秋瑾, 高光, 陈伟

- 明. 太湖微囊藻毒素年变化及其与浮游生物的关系. 中国环境科学, 2005, **25**(1): 28—31]
- [18] Watanabe M, F, Tsuji K, Watanabe Y, *et al*. Release of heptapeptide toxin (microcystin) during decomposition process of *Microcystis aeruginosa* [J]. *Natural Toxins*, 1992, **1**(1): 48—53
- [19] Lei L M, Song L R. Establishment of cell model for the study of cytotoxicity induced by microcystin-LR [J]. *Acta Hydrobiologia Sinica*, 2006, **30**(4): 408—412 [雷腊梅, 宋立荣. 微囊藻毒素LR诱导细胞毒性机制研究的细胞模型建立. 水生生物学报, 2006, **30**(4): 408—412]
- [20] Chen W, Song L R, Ou D Y, *et al*. Chronic toxicity and responses of several important enzymes in *Daphnia magna* on exposure to sublethal microcystin-LR [J]. *Environmental Toxicology*, 2005, **20**(3): 323—330
- [21] Yin D Q, Jin H J, Yu L W, *et al*. Deriving freshwater quality criteria for 2,4-dichlorophenol for protection of aquatic life in China [J]. *Environmental Pollution*, 2003, **122**(2): 217—222

STUDIES ON THE TOXIC EFFECTS OF FILTERED CYANOBACTERIA CULTURE MEDIA OF TWO DIFFERENT STRAINS(MICROCYSTIN-PRODUCING AND MICROCYSTIN-FREE) OF *MICROCYSTIS AERUGINOSA* ON *DAPHNIA MAGNA*

ZHANG Shi-Yang^{1,2}, CHENG Shu-Ping¹, HE Feng¹, ZHUANG De-Hui¹ and WU Zhen-Bin¹

(1. The State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China;

2. Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract Negative effects of cyanobacteria on crustacean zooplankton *Daphnia* can be documented widely and several main explanatory causes have been proposed (i.e., toxicity, poor nutritional value, bad taste, and morphology). But most of the previous studies concentrated on the direct effects of cyanobacteria on *Daphnia* by adding *Microcystis* alone or in mixtures (such as with *Scenedesmus*), information on the effects of culture media of *Microcystis* on *Daphnia* was little. This paper was to explore the harmful effects of info-chemicals released by cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* during growth and to compare the differences in effects of different strains of *M. aeruginosa* on the crustacean zooplankton *Daphnia magna*. Filtered cyanobacteria culture media of two different strains (microcystin-producing and microcystin-free) were used in this study. The results were as follow: (1) Both of the culture media of the two strains selected affected the growth and production of *D. magna* and the results showed that inhibitory effect occurred at high concentrations while stimulatory effects were detected at low concentrations; (2) Microcystin-producing strain affected the survival of *D. magna* much more than the microcystin-free strain did; (3) No significant differences in growth of *Daphnia* were detected between the two strains but microcystin-producing strain showed stronger inhibitory effects on production than the microcystin-free strain did. Therefore, it can be predicted that when cyanobacterial blooms were dominated by microcystin-producing strains *M. aeruginosa*, reduction in abundance and/or biomass of large filter-feeding cladocerans (such as *Daphnia*) could probably be explained by the high lethal effects of microcystin, but when the phytoplankton community was dominated by microcystin-free strains, the foregoing phenomenon could not be explained by that and then it should be attributed to other factors, such as lacking essential fatty acids, forming colony which can hamper ingestion or digestion, etc.

Key words *Microcystis aeruginosa*, Crustacean Zooplankton, *Daphnia magna*, Microcystin