

综 述

微囊藻毒素对鱼类毒性影响的研究进展

金丽娜 徐小清

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

A REVIEW OF THE TOXIC EFFECT OF MICROCYSTIN ON FISH

JIN Li Na and XU Xiao Qing

(Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072)

关键词: 微囊藻毒素; 毒理学; 鱼类

Key words: Microcystin; Toxicology; Fish

中图分类号: X174 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2003)06-0644-04

微囊藻毒素(Microcystins, 简称 MC)是一些有毒蓝藻,如微囊藻、颤藻和鱼腥藻等,产生的一种具有肝毒性的环状七肽。1878 年 Francis^[1]首次报道家畜因有毒蓝藻水华中毒死亡的事件。随后,20 世纪 60—80 年代,世界范围内许多动物、鸟类、鱼类中毒死亡都与有毒蓝藻水华有关。当时尽管富营养化水体中广泛出现有毒蓝藻,也被认为对一些天然鱼类种群和渔业养殖具有潜在危害,但很少人将鱼类死亡与有毒藻类联系起来进行研究。1945 年 Kenneth 等人^[2]发现分解的蓝藻水华所产生的毒性对许多鱼种具有一定阈值,但由于毒性实验方法缺乏,致使确定有毒蓝藻对鱼类潜在毒性仍然是一件困难的事。1983 年前苏联的 Malyarevskaya^[3]研究不同浓度的藻类对鱼类的影响,在 0.03—0.3g/L 藻类浓度时,对鱼类无致死作用,当达到 0.6—5.0g/L 时可引起鱼类死亡,并认为蓝藻水华暴发对鱼类影响作用是与生物和非生物因子的复杂性有关。陈少莲等曾研究过鲢鳙对铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)的利用问题^[4]。80 年代提出利用陆生脊椎动物(主要是小白鼠)检测毒性的方法后^[5],才开始研究蓝藻毒素对鱼类的影响。1985 年 Phillips^[6]等研究有毒微囊藻对鲢鳙鱼类的影响。研究证明,对小白鼠有毒的铜绿微囊藻菌株 *M. aeruginosa* 对鲢鳙鱼是无毒的,而通过腹腔注射微囊藻毒素则会产生急性毒性,在 36h 内全部死亡。与此不同的是,无毒的柱胞鱼腥藻 *Anabaena cylindrica* 无论用腹腔注射还是浸泡法,对鲢鳙鱼都无毒性反应。

从那时起,随着城镇工业和城市人口的迅猛发展,污水排放增多致使湖泊人为富营养化,污染加剧,水华的发生也越来越普遍。在水华暴发的水体中 MC 大量存在,尽管 MC 能够被光和生物降解^[7,8],但在水体中的含量仍保持一定的

水平,常与一系列人畜中毒事件有关。1996 年发生在巴西的一起严重的血透析事件,就是由于使用微囊藻毒素污染的水,导致至少 60 人死亡^[9]。除了哺乳动物,鱼类对 MC 也很敏感。有些滤食性、杂食性和肉食性鱼类受蓝藻毒素影响致死的事件屡有报道^[10]。虽然,滤食性鱼类在一定的环境因素下,可通过滤食某些无毒铜绿微囊藻^[11],或者避免消化蓝藻^[12],以及在有毒蓝藻比例上升时减少摄食活动^[13]而存活下来。但在一些小的池塘湖泊中,由于蓝藻水华大面积暴发,仅仅依靠减少摄食、回避消化蓝藻并不足以保护那些滤食性鱼类不受有毒蓝藻影响而发生急性中毒事件,鉴于铜绿微囊藻是鲤科鱼等在 2—4 月中的主要食料^[14],藻毒素可能在这些鱼及其他水生生物体内积累下来,通过食物链危害人类健康,所以对它的研究受到越来越多的重视。

1 MC 结构和毒性的关系

微囊藻毒素的一般结构为环七肽(D-丙氨酸-L-α-赤β-甲基-D-异天冬氨酸-L-γ-Adda-D-氨酸-N-甲基脱氢丙氨酸),其中 Adda 为(2s,3s,8s,9s)-3-氨基-9-甲氧基-2,6,8-三甲基-10-苯基-4,6-二烯酸。X,Z 是两种分别在 2,4 位上的可变左旋氨基酸。迄今为止,这一族化合物中已发现了六十余种异构体^[15]。其中最常见、毒性最大的是 MCLR/MCYR 和 MCRR。L、Y、R 代表的分别是亮氨酸、酪氨酸和精氨酸。

对微囊藻毒素分子不同位点的修饰,可产生不同程度的毒性改变。Adda 与藻毒素的毒性密切相关。以前的研究证明,除去或饱和 Adda 的方法都可极大地降低 MC 的毒性^[16]。Botes 等人将(C₃H₇O₂)基团加到 D-谷氨酸上也显著减低了 MC 的毒性^[17]。不过,不是所有的修饰都会影响 MC 的毒性。

收稿日期: 2002-11-06; 修订日期: 2003-08-03

基金项目: 国家科技招标课题《滇池蓝藻水华污染控制技术研究》(K99-05-35-01-01)资助

作者简介: 金丽娜(1976—),女,湖北武汉人;在读博士;主要从事藻毒素的毒理学研究

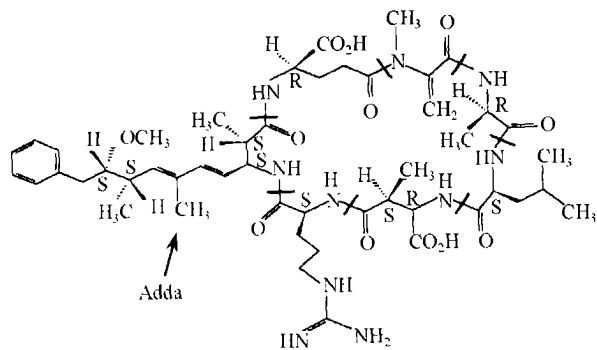


图1 微囊藻毒素-LR的分子结构图

Fig. 1 The molecule structure of microcystin LR

Harada 等人发现当 MCLR、MCRR 和 MCYR 上的亮氨酸受到修饰时,微囊藻毒素仍能保留其肝毒性^[18]。同样,Stotts 也发现 L-亮氨酸被某些疏水氨基酸取代后,MC 的毒性仍然不变^[19]。

2 MC 对鱼类的毒性影响

2.1 MC 对鱼类的毒理学效应

用 MC 处理过的鱼可出现一系列行为学改变。具体表现为过度通气;腹部缩紧,颜色变黑;集群活动减少,游动迟缓,常停留在靠近水面的地方^[6]。斑马鱼的白昼活动随暴露剂量的增大而先增加后减少,暴露剂量高时还会引起夜间游动增加,甚至产卵减少^[20]。

肝脏光镜病理学检查发现肝小叶结构遭到破坏,有水肿和病灶区充血。坏死区域多围绕在肝小管周围,炎性细胞浸润以巨噬细胞和嗜中性粒细胞为主。肝细胞固缩,呈退行性空泡样变,细胞核破裂。胞质呈颗粒状,有大量含有机物残渣的自噬小体。电镜下,细胞内的溶酶体数量较少;糖原丰富,颜色较深,常聚集排列成星状或雪片状;粗面内质网上附着的核糖体脱离;线粒体分散在胞浆中;靠近细胞膜处有微丝聚集^[21,22]。Anderson^[23]还在用 MC 处理过的亚特兰大鲑鱼中发现大量处于有丝分裂期的肝细胞,核呈多形性,由于胞质内陷,肥大核形成伪包涵体。

肾脏病理学检查发现肾脏空泡样变,肾小球囊扩张,其中可见坏死的上皮细胞和固缩核,间隙组织充血水肿。但肾脏病变并不是在所有试验中都可以观察到,如 Francesca^[24]在虹鳟试验中就只观察到了肝脏病变,没发现肾脏病变。而 Garcia^[25]所做的虹鳟实验,肾病理变化与其相似,肝病变却不明显,提示这种毒理学病变可能存在个体差异。

鱼生活在水中,不断与水体接触,而鳃又占体表总面积的 90%,所以鳃部是吸收有毒化合物的主要场所^[26]。MC 可造成次级鳃小片末梢杆状样变,表皮逐渐增厚。广泛性上皮细胞固缩坏死,并与其下的血管区分离^[22]。

Phillips^[6]用虹鳟所做的实验中还发现 MC 可导致坏死性腹膜炎、血管广泛扩张和血液淤积。腹膜脏层有巨噬细胞渗透,并扩展到胰周脂肪;胰周脂肪有轻微的圆细胞(Round cell)渗透;胰腺腺泡损害较轻,但随着暴露时间延长,也会发生坏死;脾血窦先缺血后淤血;脑脊膜和脊周血管充血;脑脊

膜严重水肿,偶而可见小脑和大脑视区的神元坏死;另外也有人在草鱼的心脏样品中观察到了心肌细胞间的腔隙变大^[27]。

除了影响发育成熟的鱼类,MC 还具有更强的胚胎毒性。Oberemm^[28]将斑马鱼卵暴露在藻毒素的粗提液中,发现鱼卵生存率和生长率都降低,器官发生迟缓、畸形。血流减速,红细胞聚集在心脏附近的血管内,导致明显水肿。尾巴背弓,严重时还会出现外包异常(表现为原肠外凸),不能发育成幼虫。Wiegand^[29]等人通过¹⁴C 标记的 MCLR 来研究其对斑马鱼早期不同阶段的影响,并监测解毒酶、微粒体及可溶性谷胱甘肽 S 转移酶以及谷胱甘肽过氧化物酶的改变。他们发现从胚胎发育的第 1—5d 的幼鱼都可检测到 MC 的吸收。在整个暴露阶段,卵和自由胚胎(Eleuthero embryos)的吸收平均在 0.5ng 左右。解毒酶的活性在个体发生时不断变动,但 MC 对它们活性的增强或抑制在各个阶段都是一致的。可溶性谷胱甘肽 S 转移酶的活性略有增强,谷胱甘肽过氧化物酶的活性显著增强,而微粒体谷胱甘肽过氧化物酶的变化则不显著。这些结果表明在斑马鱼的生活史早期有 MC 的吸收,并且体内的解毒体系对此做出反应提示机体有可能将 MC 代谢成低毒的化合物。MC 引起的一些慢性毒性效应,如胚胎发育期间的生长减缓,有可能就是因为解毒过程中能量需求增大而器官发生尚未完成,MC 的影响遍及整个机体引起的。

某些特征性血清酶的改变是肝损伤的标志物。血清学检查发现。暴露在有毒水中的鱼类,血清乳酸脱氢酶(LDH)活性增加,总蛋白(TP)明显降低,丙氨酸氨基转移酶(ALT)升高,天冬氨酸氨基转移酶(AST)明显升高^[21]。除此之外, Vajcova^[30]还观察到血球容积和血红蛋白也有明显降低。

藻毒素对鲤鱼免疫系统的影响,表现为白细胞总数和白细胞比容减少,在鲤鱼主要是淋巴细胞,鲢鱼则是以中幼粒细胞为主^[31]。

2.2 MC 对鱼类的毒性机制

MC 的毒理学机制的研究目前仍留有许多空白。研究发现离体条件下的 MC 对鱼的蛋白磷酸酶有极强的抑制作用,谷胱甘肽则能保护鱼体不受 MC 的毒害^[32]。由于蛋白磷酸酶与蛋白激酶共同作用,能决定蛋白质上的磷酸基团数,而这种磷酸化与脱磷酸化过程是生物体内存在的一种普遍的调节方式,几乎涉及所有的生理及病理过程,如糖代谢、光合作用、细胞的生长发育、基因表达、神经递质的合成与释放,甚至癌变等等,所以,MC 对鱼体的影响涉及各个方面。

鱼类肝脏是 MC 作用的主要靶器官。微囊藻细胞在胃中溶解后,微囊藻毒素释放到肠腔中,经肠上皮吸收后,由胆汁酸转运系统积聚在肝中^[21,22]。毒素和蛋白磷酸酶结合后,破坏了细胞内蛋白磷酸化/去磷酸化的平衡,使激酶失去正常的抑制,导致微丝和中间纤维的过磷酸化,造成肝细胞的崩塌和解离^[33]。

另外,对鱼鳃微粒体碎片的研究还发现,MC 可能作用与毒毛旋花甙相同的位点,阻止 K⁺ 依赖性的磷酸酶的水解,抑

制细胞膜两侧 Na^+ 和 K^+ 的交换。结果还表明, MC 不仅可阻滞磷酸化蛋白丝氨酸和色氨酸的水解, 而且可能抑制钠钾泵上天冬氨酸的去磷酸化。钠钾泵在机体内具有重要的生理意义, 既是神经、肌肉膜可兴奋性的基础, 也是组织氨基酸及葡萄糖的传送基础, 其作用受到阻滞后, 鱼体内的离子平衡被打破, 从而导致鱼类大批死亡^[34]。

3 MC 在水生生物体内的吸收和积累

与硅藻和其他浮游生物比较, 微囊藻含有丰富的蛋白质, 含量占 50% 上, 并且还含有 7 种必需氨基酸和两种半必需氨基酸。鲢、鳙和罗非鱼等都能消化吸收微囊藻, 但鲢、鳙消化率较低。究其原因, 一是因为鲢、鳙等对水体微小食物的滤食速度、效率和食物大小, 不但取决于鳃耙长度、耙间距及侧突起, 而且也与水中食物浓度有关。当水中藻类超过一定浓度时, 鳃耙沟中食物密度迅猛增加, 水流的速度不足以冲击食物到咽喉底部完成吞咽动作; 这时即使能通过鳃耙侧突起和鳃耙网的适口食物, 也堆积在鳃耙沟内, 出现堵塞现象。在这种情况下, 从口腔进入鳃耙沟的水流产生回流, 食物随着逆流从口腔喷出^[4]。其次, 当微囊藻群体被水生动物滤食时, 它们首先获得的营养取自群体胶囊和附着的细菌而不是藻细胞本身, 因此毒细胞被保护起来没有被消化^[35]。另外, 淡水鱼的鳃和皮肤表皮可阻隔 MC 的传输^[34]。鲢、鳙等鲤科鱼类由于无胃缺乏胃酸的中和, 肠中的内含物呈碱性。而在 pH 10 时, MC 的水: 辛醇比为 0.017, 很难溶于有机相, 所以 MC 通过肠黏膜进入血液的比例很小。Francesca 用虹鳟所做的试验, 发现所给毒素, 只有 4.4% 被吸收进入血液, 24h 后进入胃中的³H-MCLR 则只有 0.3% 在组织中检测到。但一旦进入血液后, MC 可迅速在肝脏中积累。这与 Eriksson 用 MC 腹腔内注射鲑鱼所得的结果一致。

MC 在水生生物体内的积累已有许多报道。研究者曾在太平洋东北部、加拿大东部及欧洲所采的贻贝体内都检测到 MC 的存在。Liras 检验了生活在水华中的 32 只小龙虾, 在 31 只胃内发现了 MC。用 MC 处理过的小龙虾中, 50% 的肝胰腺中有 MC 积累。Prepas 黏同样在蛤体内检测出了 MC, 且内脏中的浓度高于鳃和肌肉中, 积累程度能反映湖水中的 MC 浓度。

De Magalhães 等人在其三年的实验中证实了 MC 可在鱼体内快速吸收积累, 并求出了人体吸收鱼肉中的 MC 的可能比例。在三年的实验期内, 鱼肉中含有的 MC 浓度最高可以达到容许摄入量(0.04μg/kg 体重) 的 42 倍, 即使是水华减退的时候, 71.7% 的鱼肉中所含的 MC 浓度也接近或高于 0.04 μg/kg 体重。作者用滇池实验区的鲢肉饲喂小白鼠的实验表明, 在 1.6g/d 的剂量条件下, 饲养 7 周后, 小白鼠的血清酶 ALT、AST 和 LDH 与对照组比较无显著差异, 但高剂量组(6.4g/d) 的小鼠肝脏电镜检查已发现有影响(资料)。

与鱼类相比, 贻贝消化道中可积累更多的 MC。Vasconcelos 发现 MCLR 在贻贝体内的吸收最高可达 10.5μg/g (干重), 占所给总毒素的 24.1%—54.8%。按 WHO 提供的 1μg/L

的 MC 的水质标准, 可在食用一餐含有 MC 的贻贝后轻易达到最高允许剂量。其他双壳纲动物如蛤、牡蛎等的积累行为与贻贝相似, 考虑到它们在退潮时还可潜入水中, 所以可能滤食更多的有毒蓝藻, 从而积累更多藻毒素。

4 研究展望

已有证据表明 MC 可在水生食物链中积累^[23, 39]。De Magalhães 的研究证明, MC 能快速的从浮游动物传递到鱼。将食用 MC 的无脊椎动物饲养鲑鱼, 可导致鲑鱼死亡^[23]。由于鱼类对通过肠道进入的毒物的敏感性比起哺乳动物来要弱得多, MC 对人类健康的潜在危害尤其不可忽视。但迄今人类是否可能因食用那些含有藻毒素的鱼类而受到更大的毒害尚无直接的证据证实, 这也是目前研究微囊藻毒素在生物体内积累的重点。应用流行病学调查确定食用鱼肉的安全阈值对于日常消费鱼类的安全性评估及制订相应的风险管理决策同样具有重要意义。

MC 在鱼体内的转运尚不十分清楚, 只知道是通过类似于哺乳动物的胆汁酸转运系统。研究发现罗非鱼对于高浓度的 MC 有较强的抵抗力^[29], 这种抵抗力可能与其体内的解毒机制有关, 能将 MC 代谢成低毒物质。贻贝也能吸收大剂量的 MC 而无损害的表现。MC 在生物体内转运及代谢的研究将是下一步工作中的一大热点。另外, 由于 MC 和蛋白磷酸酶的共价结合是不可逆的, 寻找可以对抗藻毒素的药物特别是预防性药物也将是很有价值的。

参考文献:

[1] Francis G. Poisonous Australia lake [J]. *Nature*, 1878, **18**: 11—12
[2] Kenneth M, Mackenthun, Heman E F. A heavy mortality of fishes resulted from the decomposition of algae in the Yahava River, Wisconsin [J]. *Transactions of the American Fisheries Society*, 1945, **75**: 175—180
[3] Malyarevskaya Aya. Influence of anthropogenic eutrophication: effects on fish in the form of blue green algae mass development [J]. *Archiv fur Hydrobiologie*, 1983, **97**(4): 417—424
[4] Chen S L, Liu X F, Hu C L, et al. On the digestion and utilization of *Microcystis* by fingerlings of silver carp and bighead [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1990, **14**(1): 49—59 [陈少莲、刘肖芳、胡传林, 等, 论鲢、鳙对微囊藻的消化利用. 水生生物学报, 1990, **14**(1): 49—59]
[5] Leeuwangh P, Kappers F I, Dekker M. Toxicity of Cyanobacteria in Dutch Lakes and Reservoirs [J]. *Aquatic Toxicology*, 1983, **4**(1): 63—72
[6] Phillips M J, Roberts R J, Stewart J A. The toxicity of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* to rainbow trout, *Salmo gairdneri* [J]. *Journal of Fish Diseases*, 1985, **8**: 339—344
[7] Jin L N, Zhang W H, Zheng L, et al. Biodegradation of microcystin in Dianchi Lake aquatic environment [J]. *China Environmental Science*, 2002, **22**(2): 189—192 [金丽娜、张维昊、郑利, 等, 滇池水环境中微囊藻毒素的生物降解 [J]. 中国环境科学, 2002, **22**(2): 189—192]

[8] Zhang WH, Fang T, Xu X Q. Study on photodegradation of cyanobacterial toxin in blooms of Dianchi Lake [J]. *china Environmental Science*, 2001, **21**(1): 1—3[张维昊、方涛、徐小清. 滇池水华蓝藻中藻毒素光降解的研究[J]. 中国环境科学, 2001, **21**(1): 1—3]

[9] Pouria S, Andrade A, Barbosa J, *et al.* Fatal microcystin intoxication in haemodialysis unit in Caruaru, Brazil [J]. *The Lancet*, 1998, **352**: 21—26

[10] Persson P E, Sivonen K, Keto J, *et al.* Potentially toxic blue green algae (cyanobacteria) in Finnish natural waters [J]. *Aqua Fennica*, 1984, **14**: 147—154

[11] Northcott M E, Beveridge M C M, Ross L G. A laboratory investigation of the filtration and ingestion rates of the tilapia *Oreochromis niloticus*, feeding on two species of blue green algae [J]. *Envir. Biol. Fishes*, 1991, **31**: 75—85

[12] Dewan S, Wahab M A, Beveridge M C M, *et al.* Food selection, electivity and dietary overlap among planktivorous Chinese and Indian major carp fry and fingerlings grown in extensively managed, rain fed ponds in Bangladesh. *Aquacult* [J]. *Fish Management*, 1991, **22**: 277—294

[13] Keshavanath P, Beveridge M C M, Baird D J, *et al.* The functional grazing response of a phytoplanktivorous fish *Oreochromis niloticus* to mixtures of toxic and non toxic strains of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* [J]. *J. Fish. Biol.*, 1994, **45**: 123—129

[14] Carbris C R, Rawlin G T, Grant P, *et al.* A study of feral carp, *Cyprinus carpio* L., exposed to *Microcystis aeruginosa* at Lake Murrumbidgee, Australia, and possible implications for fish health [J]. *Journal of Fish Diseases*, 1997, **20**: 81—91

[15] Beattie K A, Kaya K, Sano T, *et al.* Three dehydrobutyryne (Dhb)-containing microcystins from the cyanobacterium *Nostoc* sp [J]. *Phytochemistry*, 1998, **47**(7), 1289—1292

[16] Dahlem A M. Structure/ toxicity relationships and fate of low molecular weight peptide toxins from cyanobacteria [D], Ph. D. Thesis, University of Illinois, 1989, 135—148

[17] Botes D P, Viljoen C C, Kruger H, *et al.* Configuration assignments of the amino acid residues and the presence of *N*-methyldehydroalanine in toxins from the blue green alga, *Microcystis aeruginosa* [J]. *Toxicol.*, 1982, **20**: 1037—1042

[18] Watanabe M F, Oishi S, Harada K, *et al.* Toxins contained in *Microcystis* species of cyanobacteria (blue green algae) [J]. *Toxicon*, 1988, **26**: 1017—1025

[19] Stotts R R, Namikoshi M, Haschek W M, *et al.* Structural modifications imparting reduced toxicity in Microcystins from *Microcystis* Spp [J]. *Toxicon*, 1993, **31**: 783—789

[20] Baganz M, Staaks G, Steinberg C. Impact of the cyanobacteria toxin, microcystin-LR on behaviour of zebrafish, *Danio rerio* [J]. *Wat. Res.*, 1998, **32**(3): 948—952

[21] Råbergh C M I, Bylund G, Eriksson J E. Histopathological effects of microcystin-LR, a cyclic peptide toxin from the cyanobacterium (blue green) *Microcystis aeruginosa*, on common carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. *Aquatic Toxicology*, 1991, **20**: 131—146

[22] Carbis C R, Rawlin G T, Mitchell G F, *et al.* The histopathology of carp, *Cyprinus carpio* L., exposed to microcystins by gavage, immersion and intraperitoneal administration [J]. *Journal of Fish Diseases*, 1996, **19**: 199—207

[23] Andersen R J, Liu H A, Chen D Z X, *et al.* Chemical and biological evidence links microcystins to salmon “ net pen liver disease ” [J]. *Toxicol.*, 1993, **31**(10): 1315—1323

[24] Francesca G T, Daniel R D, Christian S. Toxicity of *Microcystis aeruginosa* peptide toxin to yearling rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquatic Toxicology*, 1994, **30**: 215—224

[25] Garcia B O. Toxicity of the cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa* strain 7820 to trout and tilapia: a clinical and histopathological study [D]. M. Sc. Thesis, University of Stirling, Stirling, 1989

[26] Lock R A C, Balm P H M, Wendelaar B S E. Adaptation of fresh water fish to toxicants: stress mechanisms induced by branchial malfunction [M]. Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish, edited by Muller R. & Lloyd R. Fishing. Oxford: News Books. 1994. 124—134

[27] Zhou B S, Xu L H, Zhang Y Y, *et al.* The effect of microcystin-LR on the liver ultrastructure of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1998, **22**(1): 90—92 周炳升, 徐立红, 张甬元, 等. 微囊藻毒素 LR 对草鱼肝脏超微结构影响的研究. 水生生物学报, 1998, **22**(1): 90—92]

[28] Oberemm A, Fastner J, Steinberg C E W. Effects of microcystin-LR and cyanobacterial crude extracts on embryo larval development of zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Wat. Res.*, 1997, **31**(11): 2918—2921

[29] Wiegand C, Pflugmacher S, Oberemm A, *et al.* Uptake and effects of microcystin-LR on detoxication enzymes of early life stages of the zebra fish (*Danio rerio*) [J]. *Environmental Toxicology*, 1999, **14**(1): 89—95

[30] Vajcova V, Navratil S, Palikova M, *et al.* The effect of intraperitoneally applied pure microcystin-LR on haematological and morphological indices of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.) [J]. *Acta Veterinaria (Brno)*, 1998, **67**(4): 281—287

[31] Palikova M, Kovaru F, Navratil S, *et al.* The effect of pure microcystin-LR and biomass of blue green algae on selected immunological indices of carp (*Cyprinus carpio* L.) and silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*, Val.) [J]. *Acta Veterinaria (Brno)*, 1998, **67**(4): 265—272

[32] Xu L H, Chen G S, Chen J P, *et al.* Toxic effects of microcystin on fish liver [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1998, **22**(4): 378—379 [徐立红, 陈国胜, 陈加平, 等. 微囊藻毒素对鱼肝的毒性效应. 水生生物学报, 1998, **22**(4): 378—379]

[33] Camichael W W. The toxins of cyanobacteria [J]. *Scientific American*, 1994, **270**(1): 78—86

[34] Zambrano F, Canelo E. Effects of microcystin-LR on the partial reactions of the Na⁺ super (+) -K⁺ super (+) pump of the gill of carp (*Cyprinus carpio* Linneo) [J]. *Toxicon*, 1996, **34**(4): 451—458

[35] Aida Infante, Wendula Riecha. The effects of cyanophyta upon zooplankton in a eutrophic tropical lake [J]. *Hydrobiologia*, 1984, **113**(29): 293—298