

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20181014001

张大文, 袁丽娟, 张莉, 等. 微囊藻毒素-LR 对鸡肝脏的氧化损伤影响[J]. 生态毒理学报, 2019, 14(5): 267-275

Zhang D W, Yuan L J, Zhang L, et al. Oxidative stress of microcystin-LR on liver of chicken [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2019, 14(5): 267-275 (in Chinese)

微囊藻毒素-LR 对鸡肝脏的氧化损伤影响

张大文, 袁丽娟, 张莉, 向建军, 廖且根, 罗林广*, 邱素艳

江西省农业科学院农产品质量安全与标准研究所, 南昌 330200

收稿日期: 2018-10-14 录用日期: 2018-11-23

摘要: 蓝藻虽然能产生有毒的生物毒素, 但是也含有较高的蛋白质。为探索蓝藻饲料化利用的可能性, 本文通过腹腔注射的方式研究了微囊藻毒素-LR(MC-LR)对崇仁麻鸡的半数致死剂量(LD₅₀)及其对肝脏的氧化损伤。实验设计了4个剂量组(对照组、5、10和20 μg·kg⁻¹ MC-LR), 并在1、3、12、24和48 h检测了谷胱甘肽(GSH)含量以及谷胱甘肽S-转移酶(GST)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性变化。结果表明, MC-LR对崇仁麻鸡的LD₅₀值为34.67 μg·kg⁻¹ 体重(bw), 95%的置信限为33.51~35.83 μg·kg⁻¹ bw。在MC-LR的作用下, 鸡肝出现了氧化应激现象。3个染毒组鸡肝中GSH含量呈现先下降而后上升恢复至正常水平的趋势, GST酶活力表现为先上升而后下降至正常值的趋势, 这说明GSH和GST共同参与了鸡肝中MC-LR的解毒; 鸡肝中GPX酶活性在前3小时先保持不变(除了1 h的高剂量组), 随即显著上升, 这说明GPX和GSH共同参与了鸡肝中过量活性氧自由基(ROS)的清除, GPX可以作为监测MC-LR引起鸡毒性作用的生物标志物。CAT酶活力表现为先显著下降($P<0.05$)而后快速上升至正常值的趋势, SOD酶在整个实验期间几乎保持稳定, 这可能与SOD酶活性较高所致。

关键词: 微囊藻毒素; 崇仁麻鸡; 抗氧化酶; 氧化损伤; 肝脏

文章编号: 1673-5897(2019)5-267-09 中图分类号: S831.1 文献标识码: A

Oxidative Stress of Microcystin-LR on Liver of Chicken

Zhang Dawen, Yuan Lijuan, Zhang Li, Xiang Jianjun, Liao Qiegen, Luo Linguang*, Qiu Suyan

Institute for Quality & Safety and Standards of Agricultural Products Research, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanchang 330200, China

Received 14 October 2018 accepted 23 November 2018

Abstract: Cyanobacteria contains much protein, though it can produce toxic biotoxins. To explore the probability of utilizations of cyanobacteria as feed products, antioxidant stress and the median lethal dose (LD₅₀) of microcystin-LR (MC-LR) in Chongren Chicken were examined. Chongren Chicken were injected intraperitoneally (i.p.) with pure MC-LR at doses of 0, 5, 10, and 20 μg·kg⁻¹ bodyweight (bw), respectively. The glutathione (GSH), glutathione S-transferase (GST), glutathione peroxidase (GPX), superoxide dismutase (SOD), and catalase (CAT) were tested at 1, 3, 12, 24, and 48 h after injection. The single-dose intraperitoneal LD₅₀ value of MC-LR in Chongren Chicken was 34.67 μg·kg⁻¹ bw (95% confidence interval is from 33.51 to 35.83 μg·kg⁻¹ bw). Results showed that MC-LR significantly induced the oxidative stress in liver of chicken. The GSH content decreased firstly and then increased

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(31500440); 江西省青年科学基金项目(20143ACB21007)

作者简介: 张大文(1981—), 男, 博士, 副研究员, 研究方向为畜禽产品质量安全, E-mail: zdw3296@163.com

* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: luolinguan@126.com

gradually to normal level in three dose groups, while the GST demonstrated a reverse trend, suggesting that GSH and GST play important roles in the detoxification of MC-LR. The GPX remained stable (excluding the highest dose group) at the initial 3 hours, followed by a significant increase after injection, indicating that the GPX and the GSH participate in eliminating excessive reactive oxygen species (ROS). The CAT decreased significantly firstly, and then increased to the normal level quickly. The SOD remained stable during the whole experimental period, which might be owing to the high basic SOD level in livers of Chongren Chicken.

Keywords: microcystins; Chongren Chicken; antioxidant enzymes; oxidative stress; liver

蓝藻是地球上最早出现的光合自养原核生物,是所有藻类中最原始、最简单的一类。由水体富营养化引起的蓝藻“水华”对环境和人类健康的危害已成为全球关注的重大环境问题,是一种全球性的生态灾害^[1-2]。但是,蓝藻中富含蛋白质,是巨大的蛋白质资源库,是优质的饲料蛋白源和饲料添加剂。天然蓝藻中有机质达65%以上,藻泥的蛋白质含量达40%,与大豆的蛋白质含量相当,同时具有丰富的氨基酸和维生素,营养价值极高^[3-5]。但是,蓝藻中的部分种类(主要的水华蓝藻)能产生一系列毒性很强的天然毒素(称为蓝藻毒素)危及人类的健康^[6]。自然环境中最常见、关注度最高的蓝藻毒素是微囊藻毒素,迄今为止已发现了100多种同分异构体^[7],其中,毒性较大、研究较为深入的是微囊藻毒素-LR(MC-LR)^[1]。MC-LR腹腔注射小白鼠的LD₅₀值一般在50~60 μg·kg⁻¹(体重),其毒性与化学类有机磷神经毒剂相当^[8]。

目前,国内外对蓝藻饲料化利用进行了初步探讨^[9],但是未考虑其中的蓝藻毒素对动物的毒性效应。关于蓝藻毒素(微囊藻毒素)对动物毒性的研究主要集中在水产品 and 哺乳动物^[6,10-11],而对家禽毒性效应的研究鲜有报道。王春雨^[12]在其硕士论文中初步开展了微囊藻毒素对鸭的急性和亚慢性毒性研究,张晓波等^[13]研究了微囊藻毒素对鸭胚的毒性和半致死剂量,探讨了微囊藻毒素对鸭各组织和胚胎的损伤。

本文采用腹腔注射的方式研究了MC-LR对崇仁麻鸡肝脏氧化损伤的影响,为蓝藻饲料化利用提供理论依据。

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 试剂与仪器

试剂:MC-LR(纯度≥95%,HPLC)购自ZEN-U Biotechnology公司(台湾),超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)、谷胱甘肽S-转移酶(GST)、谷胱甘肽(GSH)、考马斯亮

兰总蛋白和标准蛋白试剂盒均由南京建成生物工程有限公司提供。

仪器:U-3900 紫外-可见分光光度计(HITACHI公司,日本);SH-1000 酶标仪(CORONA公司,日本),F6/10 组织匀浆机(上海净信实业发展有限公司,中国);HH-4 恒温水浴锅(江苏省金坛市宏华仪器厂,中国);CR22N 低温冷冻高速离心机(HITACHI公司,日本);-86℃ DW-HL218 超低温冰箱(中科美菱,中国)。

1.2 实验动物

健康成年崇仁麻鸡,由江西省农业科学院畜牧兽医研究所提供,平均体重1.16 kg。

1.3 半致死剂量实验

选取118日龄的健康崇仁麻鸡(母鸡),随机分成5组,每组6只。实验前1天鸡禁水禁食,实验鸡经腹腔注射给予MC-LR,注射剂量最高为LD₁₀₀,最低剂量为LD₀,中间从高到低设计3个剂量,使这5组相邻2组剂量成等比。注射后观察24 h内的死亡情况,并做实验记录。采用孙瑞元改进的寇式法^[14]计算微囊藻毒素对崇仁麻鸡的LD₅₀值。该方法要使每个剂量组的组间距成等比或剂量对数等差,每个剂量组动物数相等,中间剂量接近LD₅₀剂量。计算公式如下:

$$\text{LgLD}_{50} = X_m - i(\sum p - 0.5) \quad (1)$$

$$S_{x50} = i \sqrt{\frac{\sum pq}{n}} \quad (2)$$

式中: X_m 为最大剂量的对数值; i 为相邻两剂量对数剂量之差; p 为各剂量组死亡率; q 为各剂量存活率, $q=1-p$; $\sum p$ 为各剂量组死亡率之和; n 为各组动物数; S_{x50} 为lgLD₅₀的标准误。

1.4 腹腔注射毒性实验

将124日龄的健康崇仁麻鸡60只,平均体重为1.15 kg,平均分为4组,每组15只鸡。实验设置3个MC-LR染毒剂量组以及1个对照组,染毒剂量

组分别为高剂量组、中剂量组和低剂量组,每组一次性注射不同计量的 MC-LR,注射剂量分别为 5、10 和 20 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\text{bw}$,注射体积为 1 mL 左右,对照组每只鸡注射 1 mL 生理盐水。注射剂量的选择根据本实验获得的 LD_{50} 值进行设定。实验期间未发现鸡的死亡。

1.5 鸡组织取样

鸡经腹腔注射后,分别于 1、3、12、24 和 48 h 进行取样。每个时间点从对照组和 3 个染毒组各取出 3 只鸡,处死解剖取出肝脏,生理盐水漂洗,除去血液,用滤纸擦干后,用锡箔纸包裹,再用纱布包裹后现场放入液氮中保存,24 h 后放入 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的超低温冰箱中冷冻保存。

1.6 肝脏系数的测定

鸡处死之后,将肝脏完整取出,生理盐水漂洗,除去血液,用滤纸擦干后,立即于分析天平上称量质量,计算脏器系数。

$$\text{肝脏系数}(\%) = \frac{\text{全肝脏湿重}}{\text{体重}} \times 100$$

1.7 分析方法

按照不同酶试剂盒上的方法对肝脏组织进行匀浆以及处理,CAT、GST 和 GPX 采用紫外-可见分光光度计进行测定,SOD 和 GSH 采用酶标仪进行测定,并用考马斯亮兰总蛋白试剂盒和标准蛋白测定组织的蛋白质含量,测试方法为比色法。CAT、SOD、GPX 和 GST 酶活性单位为 $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}\text{prot}$,GSH 的酶活性单位为 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{prot}$ 。

1.8 数据处理

使用 SPSS13.0 软件对数据进行统计处理,采用 LSD 法对数据进行多重比较,并用字母标记法对各实验组之间的显著差异性进行标记。标记原则为:将要标记的全部数值按从大到小顺序排列,然后在

最大的数值上标上字母 a,将该数值依次和其以下各数值相比,凡差异不显著的都标字母 a,直至某一个与之相差显著的数值则标以字母 b;再以该标有 b 的数值为标准,与上方各个比它大的数值相比,凡不显著的也一律标以字母 b;再以标有 b 的最大值为标准,与以下各未标记的数值相比,凡不显著的继续标以字母 b,直至某一个与之相差显著的数值则标以字母 c;如此重复下去,直至最小的一个数值都标记字母为止。

2 结果 (Results)

2.1 MC-LR 对崇仁麻鸡的半致死剂量(LD_{50})

对崇仁麻鸡腹腔注射 MC-LR 24 h 内的观察结果如表 1 所示。在腹腔注射剂量分别为 13.33、20、30、45 和 $67.5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\text{bw}$ 时,分别有 0、1、2、4 和 6 只鸡死亡,死亡率分别为 0.00%、0.17%、0.33%、0.67% 和 1.00%,按照式(1)和(2)计算得出 MC-LR 对崇仁麻鸡的 LD_{50} 及其 95% 置信限为 $34.67(33.51 \sim 35.83)\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\text{bw}$ 。

2.2 MC-LR 对肝脏系数的影响

鸡腹腔注射 MC-LR 之后,鸡肝脏系数从 12 h 开始呈现一定程度的上升趋势,但无统计学差异($P>0.05$)(图 1)。

2.3 MC-LR 对 GSH 含量的影响

不同注射剂量下鸡肝中 GSH 的含量随时间变化如图 2 所示。3 个染毒组鸡肝中 GSH 含量呈现出先下降又恢复为正常值的趋势。MC-LR 注射后的前 24 h 内,3 个染毒组鸡肝中 GSH 含量显著低于对照组($P<0.05$),在 48 h 时恢复到对照组水平($P>0.05$)。3 个染毒组鸡肝中 GSH 含量呈现注射剂量越高,其含量越低的趋势,但差异未达到统计学显著水平($P>0.05$)。

表 1 对崇仁麻鸡腹腔注射微囊藻毒素-LR (MC-LR) 24 h 内的观察结果

Table 1 Acute toxicity results of microcystin-LR (MC-LR) to Chongren Chicken (intraperitoneal 24 h)

组别 Groups	剂量/ $(\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\text{bw})$ Dose/ $(\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\text{bw})$	试验动物数 Number of experimental animals	死亡动物数 Number of died animals	死亡率/% Mortality rate/%	存活率/% Survival rate/%
1	13.33	6	0	0.00	1.00
2	20	6	1	0.17	0.83
3	30	6	2	0.33	0.67
4	45	6	4	0.67	0.33
5	67.5	6	6	1.00	0.00

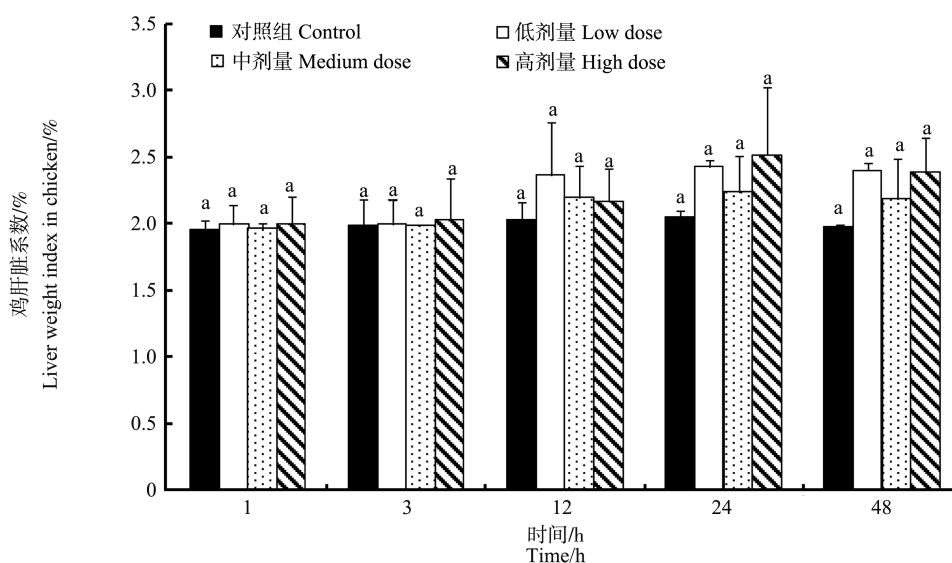


图1 MC-LR对鸡肝脏系数的影响

注:低、中和高剂量组中MC-LR剂量分别为5、10和20 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。下同。

Fig. 1 Effect of MC-LR on liver weight index in chicken

Note: The low, medium and high doses are 5, 10, and 20 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, respectively. The same below.

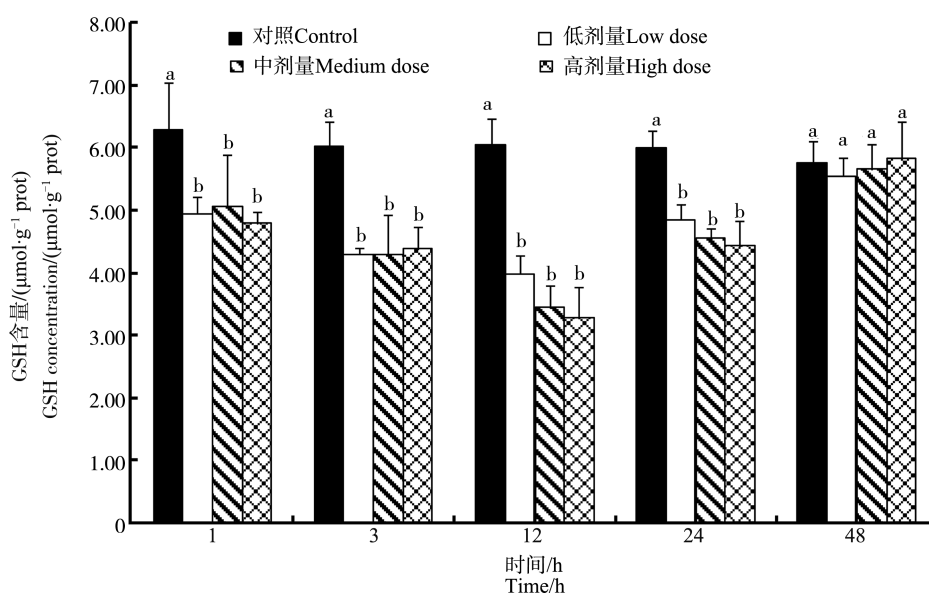


图2 不同MC-LR注射剂量下鸡肝脏中谷胱甘肽(GSH)含量随时间的变化

Fig. 2 Dose- and time-dependent variation of glutathione (GSH) contents in liver of chicken after exposure to different doses of MC-LR

2.4 MC-LR对GST活性的影响

鸡注射MC-LR后,鸡肝中GST酶活性呈现先上升后又恢复至正常值的趋势(图3)。鸡注射MC-LR后1 h时,与对照组相比,3个染毒组GST酶活性没有显著变化($P>0.05$);染毒后3~12 h,鸡肝中GST酶活性逐步升高,3个剂量组GST酶活性显著高于对照组,并呈现一定的剂量效应,即染毒剂量越

高,GST酶活性越高的趋势,但是仅12 h时,高剂量组的GST酶活性显著高于其他染毒剂量组,至48 h时,3个染毒组的GST酶活性恢复至正常水平(图3)。

2.5 MC-LR对GPX活性的影响

不同注射剂量下鸡肝中GPX酶的活性随时间变化如图4所示。鸡肝中GPX酶活性整体呈现先

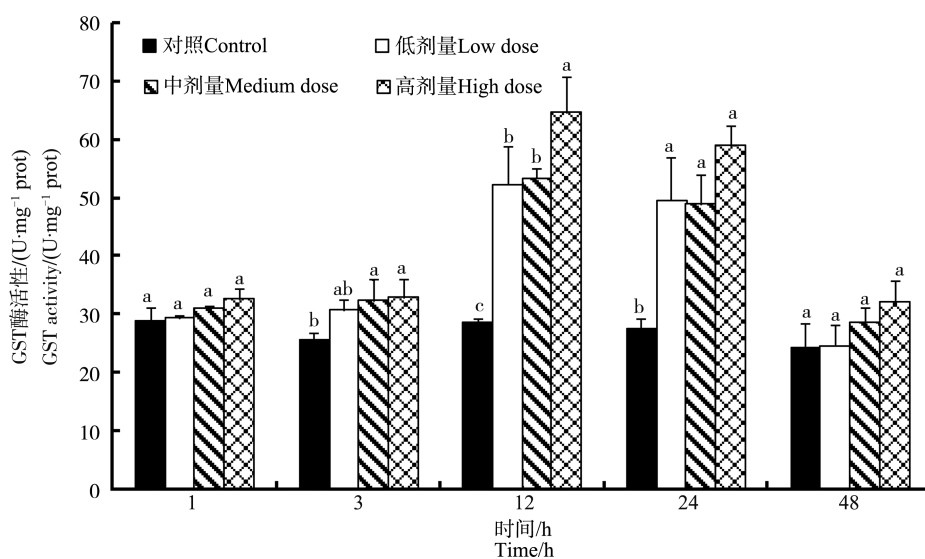


图3 不同 MC-LR 注射剂量下鸡肝脏中谷胱甘肽 S-转移酶 (GST) 酶活性随时间的变化
Fig. 3 Dose- and time-dependent variation of glutathione S-transferase (GST) activities in liver of chicken after exposure to different doses of MC-LR

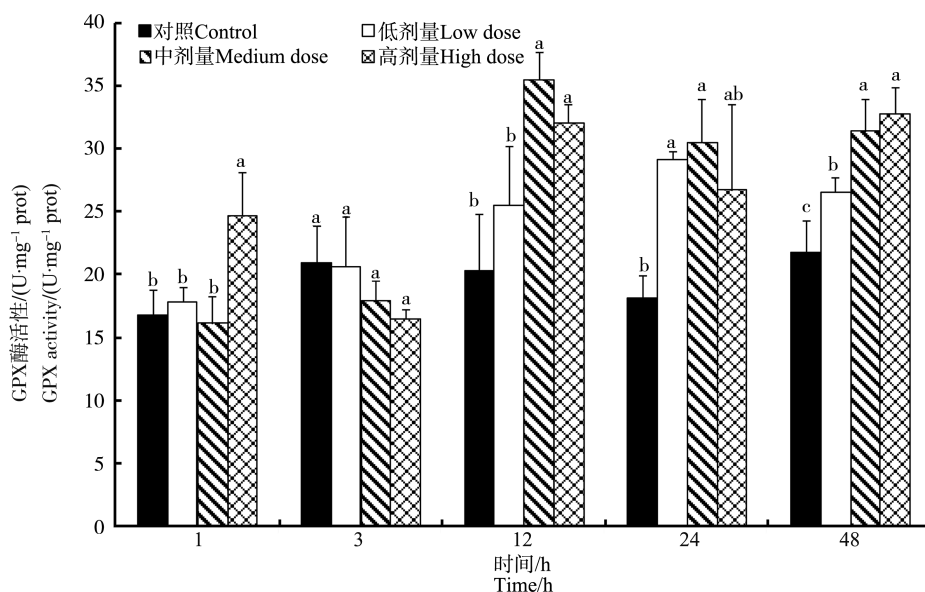


图4 不同 MC-LR 注射剂量下鸡肝脏中谷胱甘肽过氧化物酶 (GPX) 酶活性随时间的变化
Fig. 4 Dose- and time-dependent variation of glutathione peroxidase (GPX) activities in liver of chicken after exposure to different doses of MC-LR

保持不变、后显著上升的趋势。MC-LR 注射后 1 h 时,高剂量组鸡肝中 GPX 酶活性显著高于对照组($P < 0.05$),其他 2 个剂量组 GPX 酶活性与对照组之间没有显著差异($P > 0.05$),3 h 时 3 个染毒组与对照组之间没有显著性差异($P > 0.05$);12 ~ 48 h 时,3 个染毒剂量组(除 12 h 低剂量组和 24 h 的高剂量组外)GPX 酶活性均显著高于对照组($P < 0.05$);在 12 h 和 48 h 时,呈现低剂量组 GPX 酶活性显著低于中剂量

和高剂量的趋势($P < 0.05$)。

2.6 MC-LR 对 SOD 活性的影响

鸡注射 MC-LR 后,SOD 酶在整个实验期间几乎保持稳定,各染毒组与对照组之间没有明显差异($P > 0.05$)(图 5)。

2.7 MC-LR 对 CAT 活性的影响

不同注射剂量下鸡肝中 CAT 酶活性随时间变化如图 6 所示。鸡注射 MC-LR 1 h 时,与对照组相

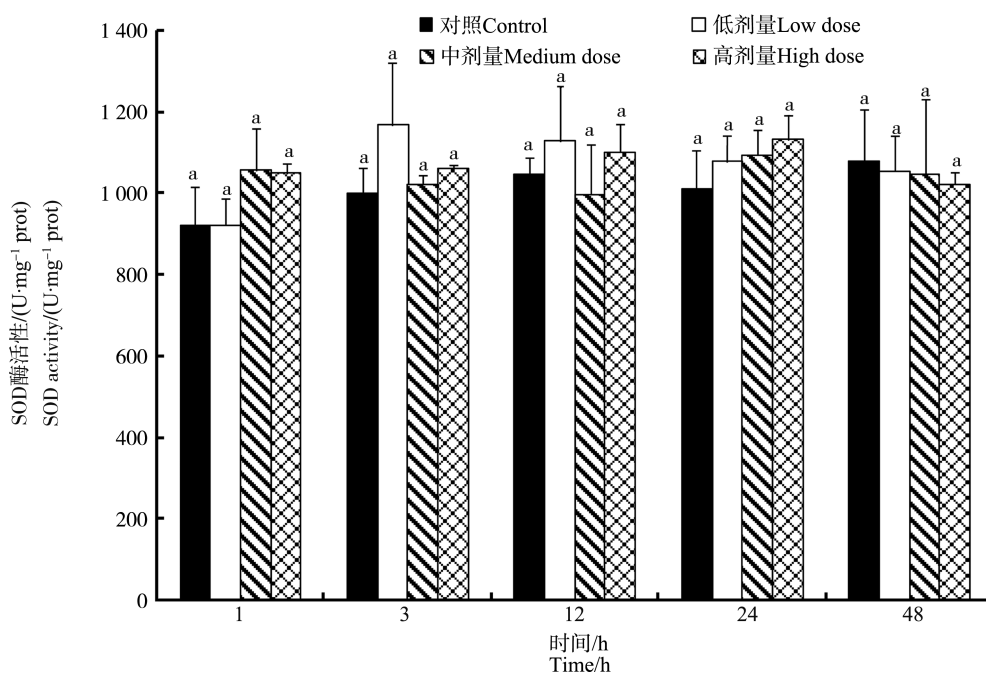


图 5 不同 MC-LR 注射剂量下鸡肝脏中超氧化物歧化酶 (SOD) 酶活性随时间的变化

Fig. 5 Dose- and time-dependent variation of superoxide dismutase (SOD) activities in liver of chicken after exposure to different doses of MC-LR

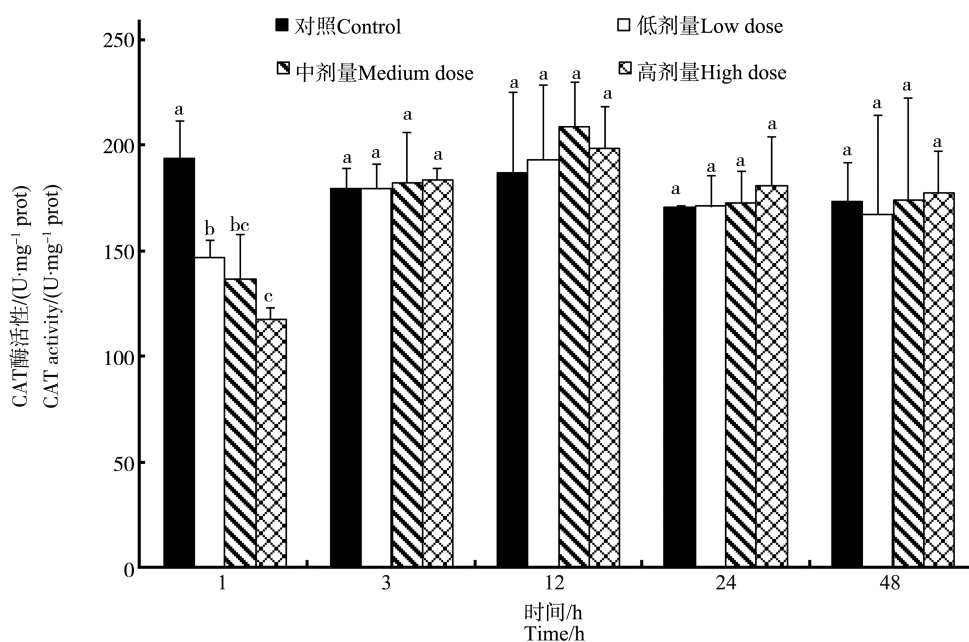


图 6 不同 MC-LR 注射剂量下鸡肝脏中过氧化氢酶 (CAT) 酶活性随时间的变化

Fig. 6 Dose- and time-dependent variation of catalase (CAT) activities in liver of chicken after exposure to different doses of MC-LR

比,3 个染毒组鸡肝中 CAT 酶活性呈现显著下降趋势($P<0.05$),且酶的活性降低具有剂量效应,高剂量组显著高于中剂量组和低剂量组($P<0.05$);在 3 ~ 24 h 时,3 个染毒组鸡肝中 CAT 酶活性有较小的上升趋势,但是与对照组之间无显著性差异,48 h 时基

本上恢复至正常值水平。

3 讨论 (Discussion)

3.1 MC-LR 对鸡肝脏系数的影响

脏器系数变化是毒理学实验中较为敏感的指

标^[15],可较好地反映毒物对脏器的毒性综合情况,可旁证病理组织学改变的可能性,也是探索毒物作用靶器官的重要线索。在本研究中,染毒组的鸡肝脏系数从12 h后呈现不同程度的上升趋势;实验过程中对鸡肝进行表观观察,结果发现,鸡肝在1 h时,仅有少量血点出现,从3 h开始,高剂量组肝脏出现局部充血现象,12 h和24 h时,3个染毒组鸡肝具有局部充血现象,48 h时充血范围有减少的趋势。这说明,MC-LR注射后导致了鸡肝充血,从而使肝脏重量增加。这一结果与李哲等^[16]及杨黎江等^[17]对大鼠和王春雨^[12]对鸭的研究结果一致。

3.2 MC-LR 对鸡肝抗氧化酶系统的影响

已有的研究证实,微囊藻毒素能诱导细胞或组织产生氧化胁迫,并进一步造成各种损伤和危害,氧化胁迫可能是微囊藻毒素的一个毒性作用机制^[17-19]。为抵抗氧化损伤,机体内有一个抗氧化系统,这个系统会利用酶或非酶机制来对抗氧化压力。这个抗氧化系统的酶主要有SOD酶、CAT酶、GPX酶和谷胱甘肽还原酶(GR)等,而非酶物质主要包括维生素E、维生素A和GSH等^[19-22]。

抗氧化酶系统发生作用首先是引起谷胱甘肽系统的反应,GSH在氧自由基(ROS)的清除以及微囊藻毒素的解毒过程中均起着非常重要的作用^[23],MC在GST酶的催化下,与GSH的结合形成极性较强的结合产物(MC-GSH)而被排出,从而达到解毒的目的,这被认为是微囊藻毒素在动物体内解毒的第一步^[24-26]。在本研究中,鸡肝中GSH含量呈现先下降而后上升恢复至正常水平的趋势,GST酶活力表现为先上升而后下降至正常值的趋势。这说明GSH和GST参与鸡肝中MC-LR的解毒。在小龙虾^[19]和鱼类^[27-28]肝脏的研究中也得出了类似的结论。在本研究中,鸡肝中GSH在前24小时的下降可能是由于其在与MC的结合或清除ROS过程中被消耗掉了,其合成速度难以满足消耗速度,在48 h时恢复至正常水平可能是由于MC和ROS已基本被清除而不再消耗GSH;同样地,GST酶活力从3 h开始显著升高可能主要是为了应对GSH参与解毒的需求所致。

大量的研究已经证实,SOD、CAT和GPX等酶在机体清除过量ROS过程中起着非常重要的作用^[21-22],但是,由于不同生物体、不同MC种类、不同剂量以及不同的处理时间,抗氧化酶活性的变化可能存在差异,其变化曲线可能是多阶段的^[29-35]。譬

如,李效宇等^[32]的研究结果显示,MC-LR处理培养的鲤鱼肝细胞后,CAT和SOD酶的活性随着处理时间的延长而逐渐升高;环纹蚬(*Corbicula leana*)暴露于有毒蓝藻中,其腮和外套膜中SOD和CAT酶活性显著上升^[20];罗非鱼腹腔注射MC-LR后,肝脏中SOD酶表现为在36 h突然上升后恢复的趋势,而CAT酶活性在24 h和84 h有2个高峰^[33];鳙鱼腹腔注射蓝藻粗提物后,其肝脏中SOD和CAT酶均呈现先上升后下降的趋势^[34];淡水河蚌(*Dreissena polymorpha*)经MC-LR染毒后,大部分组织中SOD酶活力在24 h时呈现上升趋势,而CAT酶活性基本没变化^[35]。在本研究中,经MC-LR染毒的鸡肝中CAT酶活力表现为先显著下降而后快速上升至正常值的趋势,3 h后,毒素处理组中CAT酶活力略微高于对照组,但无统计学差异;SOD酶在整个实验期间几乎保持稳定。CAT酶活力的下降可能是其酶活力受到抑制所致,而SOD酶活力未出现显著改变可能是与其酶活性较高所致。本研究中,对照组鸡肝中SOD酶活力为 $(1\ 011.1 \pm 83.25) \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ prot}$,均高于已有的研究报道中的水平。譬如,对照组罗非鱼和小龙虾肝脏中SOD酶活力水平不到 $100 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ prot}$ ^[19,33],淡水螺(*Radix swinhoei*)肝脏中SOD酶活力在 $450 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ prot}$ 左右^[36],表明鸡肝中SOD酶参与ROS的清除并不会引起SOD酶活力的大幅波动。

GPX酶是抗氧化酶系统的重要组成,其在GSH的参与下消除机体内过量的ROS^[37]。在本研究中,GPX在1 h时,只有高剂量组鸡肝中GPX酶活力显著高于对照组,3 h时,3个染毒组GPX酶活力出现较小的下降、而后显著上升的趋势。这说明鸡肝出现了氧化应激现象,GPX和GSH共同参与了鸡肝中过量ROS的清除,可以作为监测MC-LR引起鸡毒性作用的生物标志物。

通讯作者简介:罗林广(1964—),男,博士,研究员,主要研究方向为畜禽产品质量安全风险,发表学术论文70余篇。

参考文献(References):

- [1] Buratti F M, Manganelli M, Vichi S, et al. Cyanotoxins: Producing organisms, occurrence, toxicity, mechanism of action and human health toxicological risk evaluation [J]. Archives of Toxicology, 2017, 91(3): 1049-1130
- [2] Svirčev Z, Drobac D, Tokodi N, et al. Toxicology of microcystins with reference to cases of human intoxications

- and epidemiological investigations of exposures to cyanobacteria and cyanotoxins [J]. Archives of Toxicology, 2017, 91(2): 621-650
- [3] 丁艳华. 蓝藻综合利用的研究进展[J]. 江苏环境科技, 2008, 21(S1): 147-149
Ding Y H. Research progress on the comprehensive use of cyanobacteria [J]. Jiangsu Environmental Science and Technology, 2008, 21(S1): 147-149 (in Chinese)
- [4] 许玲, 张无敌, 尹芳, 等. 蓝藻综合利用研究现状[J]. 现代农业科技, 2010(8): 283-284
Xu L, Zhang W D, Yin F, et al. Research status on integrated utilization of blue algae [J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2010(8): 283-284 (in Chinese)
- [5] 杨苏, 陈朝银, 赵声兰, 等. 滇池蓝藻资源综合利用的研究进展[J]. 云南化工, 2006, 33(3): 49-53
Yang S, Chen C Y, Zhao S L, et al. Research advance on the comprehensive use of cyanobacteria in Dianchi Lake [J]. Yunan Chemical Technology, 2006, 33(3): 49-53 (in Chinese)
- [6] Rastogi R P, Sinha R P, Incharoensakdi A. The cyanotoxin-microcystins: Current overview [J]. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology, 2014, 13(2): 215-249
- [7] Puddick J, Prinsep M R, Wood S A, et al. Further characterization of glycine-containing microcystins from the McMurdo dry Valleys of Antarctica [J]. Toxins, 2015, 7(2): 493-515
- [8] Kuiper-Goodman T, Falconer I, Fitzgerald J. Human Health Aspects. Chapter 4. [M]// Chorus I, Bartram J. eds. Toxic Cyanobacteria in Water, A Guide to Their Public Health Consequences, Monitoring and Management. London and New York: E & FN Spon, 1999: 113-153
- [9] 胡碧洋, 赵蕾, 周文静, 等. 我国水华蓝藻资源化研究现状、问题与对策[J]. 水生态学杂志, 2012, 33(3): 138-143
Hu B Y, Zhao L, Zhou W J, et al. Current situation, potential development issues and countermeasures of bloom-forming cyanobacteria in China [J]. Journal of Hydroecology, 2012, 33(3): 138-143 (in Chinese)
- [10] Chen L, Xie P. Mechanisms of microcystin-induced cytotoxicity and apoptosis [J]. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry, 2016, 16(13): 1018-1030
- [11] Paskerová H, Hilscherová K, Bláha L. Oxidative stress and detoxification biomarker responses in aquatic freshwater vertebrates exposed to microcystins and cyanobacterial biomass [J]. Environmental Sciences and Pollution Research, 2012, 19(6): 2024-2037
- [12] 王春雨. 微囊藻毒素对鸭的急性和亚慢性毒性研究[D]. 新乡: 河南师范大学, 2010: 1-51.
Wang C Y. Acute and subchronic toxicity of microcystins on duck [D]. Xinxiang: Henan Normal University, 2010: 1-51 (in Chinese)
- [13] 张晓波, 李晓青, 李璟, 等. 微囊藻毒素对鸭胚的毒性及半致死剂量研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(19): 11582-11583
Zhang X B, Li X Q, Li J, et al. Microcystin toxicity and its median lethal dose on duck embryo [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2011, 39(19): 11582-11583 (in Chinese)
- [14] 孙瑞元. 简捷实用的半数致死量综合计算法[J]. 药学报, 1963, 10(2): 65-74
Sun R Y. A practical combined method for computing the median lethal dose [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 1963, 10(2): 65-74 (in Chinese)
- [15] Zenick H, Clegg E D. Assessment of the Male Reproductive Toxicity: A Risk Assessment Approach [M]// Hayes A W. Principles and Methods of Toxicology. New York: Raven Press, 1989: 275
- [16] 李哲, 边爱, 沈丽珍, 等. 微囊藻毒素-LR 对小鼠毒性机制的研究[J]. 食品科学, 2010, 31(1): 247-250
Li Z, Bian A, Shen L Z, et al. Toxicological mechanisms of microcystin-LR in mice [J]. Food Science, 2010, 31(1): 247-250 (in Chinese)
- [17] 杨黎江, 沈放, 仝向荣, 等. 滇池微囊藻毒素对小鼠肝脏的毒性研究[J]. 昆明学院学报, 2013, 35(3): 45-47
Yang L J, Shen F, Tong X R, et al. On toxicity of microcystin in water of Dianchi Lake on mice liver [J]. Journal of Kunming University, 2013, 35(3): 45-47 (in Chinese)
- [18] 明俊超, 姜海洲, 袁新华. 微囊藻毒素对鱼类的毒性效应及其作用机理研究进展[J]. 中国农学通报, 2012, 28(35): 69-74
Ming J C, Jiang H Z, Yuan X H. A review of microcystin: Toxic effects and mechanisms in exposed fish [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2012, 28(35): 69-74 (in Chinese)
- [19] Yuan J L, Gu Z M, Zheng Y, et al. Accumulation and detoxification dynamics of microcystin-LR and antioxidant responses in male red swamp crayfish *Procambarus clarkii* [J]. Aquatic Toxicology, 2016, 177: 8-18
- [20] Pham T, Shimizu K, Dao T, et al. Microcystin uptake and biochemical responses in the freshwater clam *Corbicula leana* P. exposed to toxic and non-toxic *Microcystis aeruginosa*: Evidence of tolerance to cyanotoxins [J]. Toxicology Reports, 2015, 2: 88-98
- [21] Lushchak V L. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals [J]. Aquatic Toxicology, 2011, 101(1):

- 13-30
- [22] Amado L L, Monserrat J M. Oxidative stress generation by microcystins in aquatic animals: Why and how [J]. *Environmental International*, 2010, 36(2): 226-235
- [23] Goncalves-Soares D, Zanette J, Yepiz-Plascencia G M, et al. Expression and activity of glutathione S-transferases and catalase in the shrimp *Litopenaeus vannamei* inoculated with a toxic *Microcystis aeruginosa* strain [J]. *Marine Environmental Research*, 2012, 75(3): 54-61
- [24] Kondo F, Ikai Y, Oka H, et al. Formation, characterization and toxicity of the glutathione and cysteine conjugates of toxic heptapeptide microcystins [J]. *Chemical Research in Toxicology*, 1992, 5(5): 591-596
- [25] Kondo F, Matsumoto H, Yamada S, et al. Detection and identification of metabolites of microcystins formed *in vivo* in mouse and rat livers [J]. *Chemical Research in Toxicology*, 1996, 9(8): 1355-1359
- [26] Pflugmacher S, Wiegand C, Oberemm A, et al. Identification of an enzymatically formed glutathione conjugate of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin-LR: The first step of detoxication [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1998, 1425(3): 527-533
- [27] Li X Y, Liu Y D, Song L R, et al. Responses of antioxidant systems in the hepatocytes of common carp (*Cyprinus carpio* L.) to the toxicity of microcystin-LR [J]. *Toxicology*, 2003, 42(1): 85-89
- [28] Malbrouck C, Trausch G, Devos P, et al. Effect of microcystin-LR on protein phosphatase activity in fed and fasted juvenile goldfish *Carassius auratus* L. [J]. *Toxicology*, 2004, 43(3): 295-301
- [29] Angeles J, Silvia P. Toxic cyanobacterial cells containing microcystins induce oxidative stress in exposed tilapia fish (*Oreochromis* sp.) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2005, 72(3): 261-271
- [30] Priero A I, Jos Á, Pichardo S, et al. Differential oxidative stress responses to microcystins LR and RR in intraperitoneally exposed tilapia fish (*Oreochromis* sp.) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2006, 77(3): 314-321
- [31] Priero A I, Pichardo S, Jos Á, et al. Time-dependent oxidative stress response after acute exposure to toxic cyanobacterial cells containing microcystins in tilapia fish (*Oreochromis niloticus*) under laboratory conditions [J]. *Aquatic Toxicology*, 2007, 84(3): 337-345
- [32] 李效宇, 刘永定, 宋立荣, 等. 鲤肝细胞抗氧化系统对微囊藻毒素毒性的反应[J]. *水生生物学报*, 2003, 27(5): 472-475
- Li X Y, Liu Y D, Song L R, et al. Responses of antioxidant systems in the hepatocytes of common carp (*Cyprinus carpio* L.) to the toxicity of microcystin-LR [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2003, 27(5): 472-475 (in Chinese)
- [33] 陈家长, 宋超, 胡庚东, 等. 微囊藻毒素-LR 对罗非鱼肝脏活性氧自由基含量及相关抗氧化酶活性的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2011, 30(8): 1521-1525
- Chen J C, Song C, Hu G D, et al. Effects of microcystin-LR on antioxidant enzymes and reactive oxygen species in tilapia fish [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(8): 1521-1525 (in Chinese)
- [34] Li L, Xie P, Guo L G. Antioxidant response in liver of the phytoplanktivorous bighead carp (*Aristichthys nobilis*) intraperitoneally-injected with extracted microcystins [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2010, 36(2): 165-172
- [35] Burmester V, Nimptsch J, Wiegand C. Adaptation of freshwater mussels to cyanobacterial toxins: Response of biotransformation and antioxidant enzymes [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2012, 78(2): 296-309
- [36] Zhang J Q, Xie Z C, Wang Z. Oxidative stress responses and toxin accumulation in the freshwater snail *Radix swinhoi* (Gastropoda, Pulmonata) exposed to microcystin-LR [J]. *Environmental Sciences and Pollution Research*, 2016, 23(2): 1353-1361
- [37] Muthukumar K, Rajakumar S, Sarkar M N, et al. Glutathione peroxidase 3 of *Saccharomyces cerevisiae* protects phospholipids during cadmium-induced oxidative stress [J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2011, 99(4): 761-771 ◆