

微囊藻毒素研究进展

闫海, 潘纲, 张明明

(中国科学院生态环境研究中心国家重点环境水化学实验室, 北京 100085)

摘要:随着大量含氮和磷的废水流入湖泊和江河, 导致淡水蓝藻水华污染现象日趋严重。蓝藻水华污染的最主要危害是释放以微囊藻毒素(Microcystin, MC)为主的多种藻毒素, 因此如何有效控制蓝藻水华污染和去除 MC 是摆在中外环境科学领域的一个难题。主要针对 MC 的产生、物化性质、毒性、分析方法和迁移转化方面的国内外最新研究进展进行了综述, 并对重要的研究领域进行了展望。

关键词:微囊藻毒素; 产生; 物化性质; 毒性; 分析; 转化

Advances in the Study of Microcystin Toxin

YAN Hai, PAN Gang, ZHANG Ming-Ming (State Key Lab. of Environmental Aquatic Chemistry, Research Center for Eco-environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2002, 22(11): 1968~1975.

Abstract: With the increase in discharging of wastewater containing a large amount of nitrogen and phosphorus to natural lake and river, harmful cyanobacterial bloom (HCB) in fresh water becomes more and more serious. The main harm of HCB is releasing a great amount of algal toxins mainly containing microcystin (MC), so how to control HCB and remove MC is an unsolved problem in the field of environmental science all over the world. The research advances in the production, physical-chemical character, toxicity, analytical method and transformation of MC were reviewed, and furthermore the promising research fields on MC were also prospected.

Key words: microcystin; physical-chemical character, toxicity; analysis; transformation

文章编号: 1000-0933(2002)11-1968-08 中图分类号: X17 文献标识码: A

水体富营养化是指湖泊、水库和河流中接纳过多的氮和磷等营养物质, 使水体的生态结构与功能发生变化, 导致藻类特别是蓝藻的异常繁殖生长而出现的蓝藻水华现象。当蓝藻水华严重时, 水面形成厚厚的蓝绿色湖靛, 散发出难闻的气味, 不仅破坏了健康平衡的水生生态系统, 而且因藻细胞破裂后释放出了多种藻毒素而对人和动物的饮用水安全构成了严重的威胁。目前, 世界上淡水湖泊蓝藻水华发生的频率与严重程度都呈现迅猛的增长趋势, 发生的地点遍布全球各地^[1~5]。欧洲、非洲、北美洲和南美洲分别有 53%、28%、48% 和 41% 的湖泊存在不同程度的富营养化现象, 亚太地区 54% 的湖泊处于富营养化状态^[6]。自 1878 年首次报道了动物由于饮用含蓝藻的水而死亡以来^[7], 国内外因藻毒素引起的水生动物、鸟类、畜类甚至人类死亡的事件频繁发生^[8~10]。天然水体富营养化已成为我国乃至世界所面临的重大环境污染问题之一。

在我国, 早在 20 世纪 60 年代太湖中就已经发现有蓝藻水华出现^[11]。20 世纪 80 年代初, 进行调查的 34 个湖泊中有一半以上的湖泊面积属于富营养化状态^[12]。90 年代以来, 全国淡水水体的富营养化状况更加严重, 60% 的天然淡水湖泊有不同程度的富营养化污染现象^[13]。除了云南滇池、江苏太湖和安徽巢湖三

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30270277, 20177029, 20073060)

收稿日期: 2001-10-31; 修订日期: 2002-07-20

作者简介: 闫海, 男, 北京市人, 博士, 副研究员。主要从事藻类和微生物的环境生物学研究。

大淡水湖泊已发生严重的蓝藻水华污染外^[11,14],长江、黄河中下游的许多湖泊和水库中也都相继发生了不同程度的蓝藻水华污染现象并检测到了藻毒素的存在^[15~17]。目前,全国每年都有许多自来水厂因蓝藻暴发而造成的水源污染而被迫减产或停产^[12],对市民的饮用水安全供给构成了越来越严重的威胁。

蓝藻水华污染所带来的主要危害是在有毒蓝藻细胞破裂后向水体中释放多种不同类型的藻毒素^[18],世界上 25%~70% 的蓝藻水华污染可产生藻毒素^[19],在已发现的各种不同藻毒素中,微囊藻毒素(Microcystin, MC)是一种在蓝藻水华污染中出现频率最高、产生量最大和造成危害最严重的藻毒素种类。研究结果显示 MC 的主要靶器是肝脏,MC 可从血液转移到肝脏。主要表现为使肝脏充血肿大^[20],严重时可导致肝出血和坏死,其致毒机理是通过抑制肝细胞中蛋白磷酸酶的活性,诱发细胞角蛋白高度磷酸化,导致哺乳动物肝细胞微丝分解、破裂和出血^[21]。另据调查发现,饮用水中 MC 的存在与人群中原发性肝癌和大肠癌的发病率有很大的相关性^[22~24]。

面对天然淡水水体富营养化程度日益加剧和蓝藻水华暴发越来越频繁的局势,如何控制蓝藻的过量繁殖生长和有效去除藻毒素已成为我国乃至世界环境科学领域的一个难题。本文针对在淡水中的主要藻毒素类型 MC 的产生、物理化学性质、毒性、分析方法和降解去除方面的研究进展进行综述。

1 MC 的产生及物化性质

在淡水中目前已发现了 60 多种 MC,其基本结构是由 7 个氨基酸组成的环状多肽,也称 7 肽单环肝毒素,分子量都在 1000 左右,由于多肽组成中氨基酸种类的变化,导致了该类毒素的多样性^[25]。在已知的 MC 中均含有一种特殊的 3-氨基-9-甲基基-2,6,8-三甲基-10-苯基癸-4,6-二烯酸 (Adda)^[25,26]。在这些毒素中含量较大且能够购买到的标准只有 3 种类型,分别是 microcystin-LR、RR 和 YR^[8],其中铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)、鱼腥藻(*Anabaena*) 和颤藻(*Oscillatoria*)等是产生 MC 的主要藻类^[27]。经对采自于 2001 年 7 月 1 日的滇池水华蓝藻进行提取测定,发现藻中 microcystin-LR 和 RR 的含量分别为 0.8 和 1.3 mg/g。另外,已经从云南滇池中筛选出了能够产生 LR 毒素的铜绿微囊藻 DC-01,其在藻体内的含量高达 4.7 mg/g,是含 MC-LR 较高的藻种。

MC 的产生与否由基因决定,现已从铜绿微囊藻染色体中分离出了产生 MC 的 DNA 片断 Mcy,发现凡是能够产生藻毒素的藻种都含有 Mcy 基因,但不产生藻毒素的藻种有的也含有 Mcy 基因^[28,29],说明物化条件的改变可以调节和控制基因的表达。特别是确定了 MC-LR 的生物合成的途径^[30],在理论 and 应用两方面都具有非常重要的意义。有学者认为藻毒素的产生对藻类来说没有任何目的,属于次级代谢产物^[13]。但更多的研究结果表明藻毒素是初级代谢产物^[31,32],其主要作用是通过螯合使进入藻体内的重金属离子减轻毒性^[33]和抑制其它水生植物并促进其本身的生长^[34]。MC 在藻体内的含量因环境条件和藻类的不同生长阶段而变,相对来说低光强和低温以及 pH 的低(7)或高(9.2)有助于藻毒素的产生^[35]。Oh 等^[36]的研究表明,MC 产生速率与铜绿微囊藻特定生长率之间有正线性相关关系,并观察到了磷的限制可以刺激 MC 的产生。Sivonen^[37]研究了颤藻的产毒条件,发现氮浓度升高会导致产生 MC 增加,在 0.1~0.4 mg/L 范围随磷浓度增加产生 MC 增加,但更高磷浓度促进 MC 产生的效应不明显。Lee 等^[38]发现氮磷比为 16/1 时,铜绿微囊藻 UTEX 2388 产生 MC 的量最大,藻细胞中叶绿素 a 含量与 MC 含量之间有较好的正相关关系。Rapala 等^[39]研究了固氮水华鱼腥藻产毒条件,发现在 25℃ 以下主要产生 MC-LR,但在高于 25℃ 时产生的主要 MC 类型是 MC-RR。虽然众多学者在蓝藻产 MC 方面进行了大量研究,但总体来说在蓝藻产生 MC 的目的和作用及控制 MC 基因表达方面还有待于进一步研究。

MC 易溶解于水,在水中的溶解度达 1g/L 以上。由于 MC 分子结构含有羧基、氨基和酰氨基,所以在不同 pH 下,MC 有不同的离子化倾向^[40]。MC-LR 的正辛醇/水分配系数(logD_{ow})从 pH 为 1 的 2.18 降到 pH 为 10 时的 -1.76,因此在爆发水华时的高 pH(>8)条件下,MC 的生物富集效应较小^[41]。

2 MC 的毒性

虽然早在 1878 年就有泡沫节球藻水华引起家畜及禽类中毒死亡的研究报道^[7],但 MC 分子结构和毒理的研究只有百余年的历史。研究结果显示 MC 的致毒机理是通过与蛋白磷酸酶(protein phosphatase)中的丝氨酸/苏氨酸亚基结合,抑制其活性^[42],从而诱发细胞角蛋白高度磷酸化,使哺乳动物肝细胞微丝分

解、破裂和出血,使肝充血肿大,动物失血休克死亡^[43]。另外,由于蛋白磷酸酶的活性受到抑制,这样就相对增加了蛋白激酶的活力,打破了磷酸化和脱磷酸化的平衡,从而促进了肿瘤的发生^[19]。MC-LR 对小白鼠的致死量 LD50 在 36 到 122 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间^[21]。1996 年在巴西发生了 100 多人因藻毒素而发生急性肝功能故障,其中至少 50 人死亡,引起举世瞩目^[44]。饮用水中微量 MC 的存在与人群中原发性肝癌、大肠癌的发病率有很大的相关性^[22,24]。

水体中含一定浓度的 MC 可导致鱼卵变形,蚕类死亡,鱼类行为和生长异常及死亡^[45]。在泥鳅胚胎和幼体发育阶段,泥鳅卵发育阶段对 MC-LR 最敏感,泥鳅发育异常的主要表现为心脏发育异常、小头和身体弯曲,并发现心脏和肝是 MC-LR 的主要攻击目标^[46]。McElhiney 等^[47]发现 MC-LR 的存在可对茄属植物 (*Solanum*) 的生长和豆类植物 (*Phaseolus vulgaris*) 根的发育产生不良影响。Singh 等^[34]研究了 MC 对藻类、微生物和真菌生长的效应,发现在初始 50 mg/L 的 MC 可完全抑制灰色念珠藻和鱼腥藻的生长并使藻细胞溶解,观察到了 MC 对二氧化碳的吸收和光合作用的不良影响,同时推断出铜绿微囊藻通过 MC 的杀藻作用是保持其在自然条件下保持为优势藻种的重要原因。

3 MC 的分析测定方法

由于 MC 来源于藻且对人和水生动物具有很高的毒性及潜在危害,因此对于藻毒素分析检测的研究对于维护环境安全和人类健康具有重要意义,世界卫生组织规定饮用水中的 MC 浓度不得高于 1.0 $\mu\text{g}/\text{L}$ ^[48]。目前对于 MC 的分析主要有化学分析法,免疫检测法和生物毒理检测法。化学分析方法主要包括液相色谱(HPLC)、气相色谱(GC)和薄层层析(TLC)等方法,可对 MC 进行准确定量测定。HPLC 法测定 MC 是目前应用最广泛的方法^[49~51],MC 的最大紫外吸收波长为 238 nm。本文的研究发现,在岛津液相色谱(LC10A)上用二极管紫外检测器测定,发现 MC-LR 和 RR 毒素都在 239nm 波长下有最大的吸收峰。对于流动相,一般采用乙腈/水或甲醇/水体系的不同浓度梯度淋洗,在水相中加入一定比例的三氟乙酸或采用酸性的磷酸盐缓冲溶液以保持酸性(pH 2.5 左右),用 C18 ODS 柱对 MC 进行分离。因为 HPLC 对 MC 的检测限为 1 mg/L 左右,而天然水体中的 MC 含量仅为 $\mu\text{g}/\text{L}$ 水平,故水样一般要通过富集柱进行浓缩并洗脱后再进行 HPLC 测定。

因为 MC 的种类繁多且对人类和动物的毒性效应比较相似,故日本学者研究出了测定总 MC 的方法^[52,53],其原理是用碘酸钠和高锰酸钾对 MC 进行初步氧化后,可产生一种共同的中间产物赤-2-甲基-3-甲氧基-4-苯基酚酸(MMPB),通过用气相色谱对 MMPB 进行测定,间接获得总 MC 的浓度,但无法对各种 MC 的类型进行区分。

免疫检测法(ELISA)是近 10a 来迅速发展起来的一项技术,其原理是用制备的 MC 多克隆抗体测定 MC 总量^[54]。日本 MBC 和美国等公司制备了单克隆抗体的试剂盒,可以检测到 0.05~1.0 ng/ml 的 MC 浓度,其灵敏度是 HPLC 测定的 100 万倍左右。此种分析方法快速高效简便,但因不同类型 MC 的结构非常相似,因此也不能识别出 MC 的特定类型。此外,用 MC 对蛋白磷酸酶的抑制分析也可以推断出 MC 的浓度^[55,56]。生物毒理学的检测方法是通过对动物口服或注射 MC 后的急性毒性实验来间接推算 MC 的含量,但无法准确定量^[57]。

4 MC 的迁移和转化

MC 是细胞内毒素,但当细胞死亡并破裂后则将毒素释放到水体中。一般天然水体中的 MC 浓度在 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ 以下,而在细胞中毒素的含量可高出其 100 万倍左右。虽然在天然水体中细胞释放的毒素会被大量的水体稀释,但当大面积严重的藻类水华发生后会使水体中的毒素浓度达到 mg/L 水平,从而威胁人和动物的饮用水安全。目前,传统的水处理工艺很难将 MC 彻底去除^[58]。

因为 MC 对人类和动物具有直接的或潜在的危害,国内外在光解、吸附和生物降解等方法去除 MC 方面进行了大量的研究。

在 MC 光降解研究中,Welker 等^[59]以腐植质作为光敏剂,在日光照射下初始 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ MC 浓度下,半衰期需要 10 小时。另外,蓝藻色素对 MC 的研究显示,MC 在日光或紫外光照射下均不发生变化,但在加入光催化剂 TiO_2 时才发生显著降解,在 MC 初始为 80 $\mu\text{g}/\text{L}$ 时,其半衰期可降低到 10 min 左右^[60]。另外,蓝藻色素对 MC

在天然水体中的光降解也有一定的促进作用,这可能是天然水体中去除 MC 的一个重要因素^[61]。

在应用各种吸附材料吸附 MC 研究方面,Pendleton^[62]发现木基活性炭因含有微孔和中孔比仅含微孔的椰壳基活性炭吸附的 MC-LR 量大,且吸附量主要因 pH 的变化而发生明显的变化,在 pH 为 2.5 时吸附量最大。Morris^[63]研究了天然粘土对 MC 的吸附作用,发现含高岭土和蒙脱土的细颗粒粘土材料可以去除 81% 的 MC-LR。Miller 等^[64]发现具有高有机碳含量和高粘土含量的土壤可以最有效地吸附和降解 MC,并认为降解是去除 MC 的一个限制性步骤。

虽然微生物降解是去除 MC 的一条非常有前途的方法,但 MC 的环状结构和间隔双键具有相当的稳定性,一般的多肽分解酶不能对 MC 进行分解^[65],只有一些特殊的微生物菌种具备对 MC 的降解能力,这也是 MC 在天然水体中能够存在很长时间的一个重要原因。吕锡武等^[66]采用序批式生物膜反应器对 3 种 MC 进行降解的实验显示,混合菌对 MC 有一定的降解能力,对 MC 的降解好氧条件好于厌氧条件,但在 3 d 内 MC 的去除量都低于 400 $\mu\text{g/L}$ 。Takenaka 和 Watanabe^[67]发现从天然水体中分离出的铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 对 MC-LR 有降解能力,在初始 50 mg/L 高初始浓度下,20 d 的除去率为 90% 以上,并发现铜绿假单胞菌所分泌的碱性蛋白酶(alkaline protease)主要负责催化降解 MC-LR 至(2S, 3S, 8S)-3-amino-2,6,8-trimethyl-10-phenyldeca-4E, 6E-dienoic acid。Park 等^[68]发现了一株具备对 MC 有降解能力的鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas*),对 MC-RR 和 LR 的最大降解速率分别达到每天 13.0 和 5.4 mg/L,这是目前世界上报道的最大 MC 生物降解速率。澳大利亚学者 Bourne 等^[69]研究了鞘氨醇单胞菌对 MC-LR 的降解途径,发现环状 MC-LR 首先被开环变成线型的 MC-LR(NH_2 -Adda-Glu-methyldehydroal-anine-Ala-Leu- β -methylaspartate-Arg-OH),然后再进一步降解成四肽化合物(NH_2 -Adda-Glu-methyldehydroal-anine-Ala-OH)(图 1),并证明了这 2 种中间代谢产物抑制 50% 鸡脑蛋白磷酸酶活性的浓度都远远高于 MC-LR,这说明中间代谢产物的毒性明显低于 MC-LR 本身。Bourne 等^[70]的更进一步研究显示,在鞘氨醇单胞菌降解 MC-LR 过程中,至少有 3 种微囊藻毒素酶(microcystinase)参与了 MC-LR 的催化降解反应,并将对应的基因进行了克隆和分子特点识别。尽管还有其它学者在纯菌种和混合菌对 MC 的可降解性进行了研究^[71~75],但在如何提高微生物降解 MC 比活性研究方面还有待于进一步加强。

在生物降解 MC 的研究工作中,本文作者在国内率先从云南滇池底泥中分离出了能够降解 MC 的微生物纯菌种,经中国科学院微生物研究所鉴定为 *Ralstonia solanacearum*。研究发现此菌种在 3 d 内可将初始浓度分别为 50.2 和 30.1 mg/L 的 MC-RR 和 LR 全部降解,日平均降解 MC-RR 和 LR 的速率分别高达 16.7 和 9.4 mg/L(图 2),远高于国外最新报道的日降解 MC-RR 和 LR 速率 13.0 和 5.4 mg/L 的水平^[68]。

5 研究展望

如何控制并有效治理蓝藻水华污染已成为世界各国共同面临的一个环境科学难题。

5.1 MC 分析与毒理研究方面 研究建立一套对于 MC 量大面广的类型如 LR、RR 和 YR 的标准品制备和准确的测定方法。为了保护人们的健康和生态安全,使环境检测和管理部门制定出一套检测 MC 的标准方法和控制标准。进一步搞清楚 MC 危害人体的作用机制,并研究出缓解 MC 对人体毒害的药物。同时要积极研究 MC 本身的应用途径和药用价值,这样可以变废为宝。

5.2 MC 产生与去除方面 研究蓝藻产生 MC 的机制,特别是哪些环境因素对蓝藻调控和表达 mcy 基因发挥重要作用,如何在天然水环境中对 mcy 基因的表达进行有效的控制。在 MC 去除方面,重点是首先筛选出对 MC 有很强降解能力的微生物菌种,然后对其降解 MC 的活性和途径进行研究。从整个水生生态系统考虑,研究其它水生生物、如微生物(包括病毒)、底栖生物、水生植物和鱼类通过侵染、克生或食物链等作用控制蓝藻过量繁殖生长的机制和方法。

在 MC 生物降解去除领域,采用粘土矿物加载微生物是去除 MC 的最有效方法之一。其原因是首先微生物是 MC 降解去除的主要成员之一,但是因为 MC 易溶解于水,因此虽然特殊的微生物菌种能够降解 MC,但因在**环境中的 MC 浓度太低**而无法对其进行高效降解。因为高岭土和蒙脱土等粘土具备吸附 MC 的能力,因此用粘土加载微生物后就可以在粘土表面形成局部很高的 MC 浓度,而微生物容易

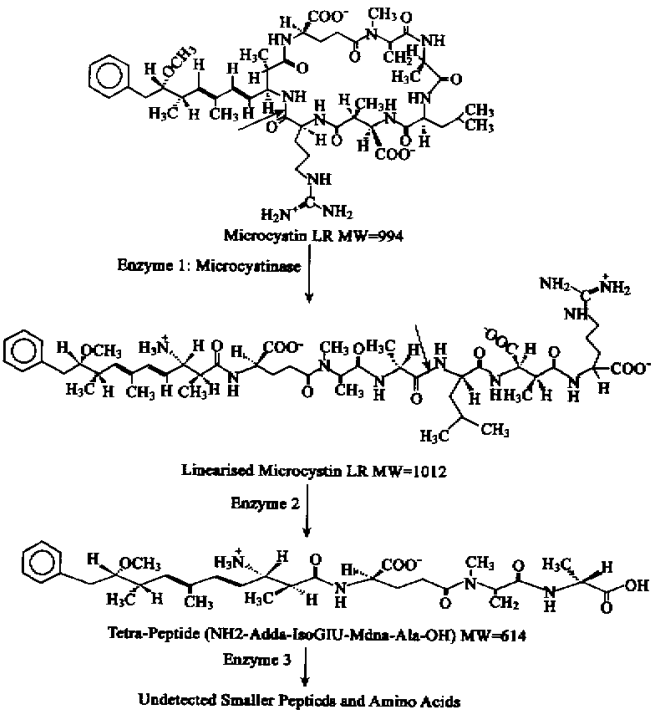


图 1 鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas*)酶降解 MC-LR 的途径

Fig. 1 Enzymatic pathway of MC-LR biodegradation by *Sphingomonas* species

附着于颗粒物表面,这样有利于微生物对 MC 进行高效降解。其方法是在筛选出能够高效降解 MC 菌种的基础上,在可控条件下培养出高微生物浓度高降解 MC 活性的菌液,同时筛选出对 MC 有很强吸附能力的粘土,按一定比例加载微生物后直接投放到水体中,这样可为去除饮用水源中 MC 的应用奠定基础。另外微生物对 MC 的降解途径和分子机理的研究也是一个非常重要的探索领域。

5.3 蓝藻水华预警方面 随着含氮磷废水排放的增加,我国富营养化湖泊的数量和程度可能还会增加和加重,因此通过对已有数据的收集、处理和总结,应用计算机建立一套蓝藻水华污染预警的专家系统十分必要。通过对现有环境检测数据和参数的输入,计算或判别对蓝藻水华爆发的时间和强度进行预警,可以有效地对蓝藻水华污染进行有针对性的预防与控制。

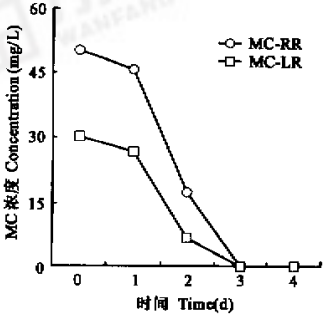


图 2 筛选的 *Ralstonia solanacearum* 菌对 MC 的生物降解

Fig. 2 Biodegradation of MC by an isolated *Ralstonia solanacearum*

参考文献

- [1] Lee T H, Chen Y M, Chou H N. First report of microcystins in Taiwan. *Toxicon*, 1998, **36**(2):247~255.
- [2] Brittain S, Mohamed Z A, Wang J, *et al.* Isolation and characterization of microcystins from a River Nile Strain of *Oscillatoria tenuis* Agardh ex Gomont. *Toxicon*, 2000, **38**:1759~1771.
- [3] Mez K, Hanselmann K, Preisig H R. Environmental conditions in high mountain lakes containing toxic benthic cyanobacteria. *Hydrobiologia*, 1998, **368**:1~15.
- [4] Matthiensen A, Beattie K A, Yunes J S, *et al.* [D-leu] Microcystin-LR, from the cyanobacterium *Microcystis* RST 9501 and from a *Microcystis* Bloom in the Patos Lagoon Estuary, Brazil. *Phytochemistry*, 2000, **55**:383~387.
- [5] Vasconcelos V M, Sivonen K, Evans W R, *et al.* Hepatotoxic microcystin diversity in cyanobacterial blooms collected in Portuguese freshwaters. *Wat. Res.*, 1996, **30**(10):2377~2384.
- [6] Ingrid C and Jamie B. *Toxic cyanobacteria in water*. London and New York. E&FN Spon Publisher, 1999.
- [7] Frandis G. Poisonous Australian lake. *Nature*, 1878, **18**:11~12.
- [8] Harada K. Recent advances of toxic Cyanobacteria Research. *J. of Health Science*, 1999, **45**(3):150~165.
- [9] Falconer I R. Toxic cyanobacterial bloom problems in Australian waters: risks and impacts on human health. *Phycologia*, 2001, **40**(3):228~233.
- [10] Zimba P V, Khoo L, Gaunt P S, *et al.* Confirmation of catfish, *Ictalurus Punctatus* (Rafinesque), mortality from *Microcystis* toxins. *J. of Fish Diseases*, 2001, **24**(1):41~47.
- [11] Gu G (顾岗). Reason and control on blue-green algae fast growth of eutrophication in Taihu Lake. *Shanghai Environ. Sci.* (in Chinese) (上海环境科学), 1996, **15**(12):10~11.
- [12] Shen J G (沈建国). Pollution, toxicology and detection of microcystins. *J. of Preventive Medicine Information* (in Chinese) (预防医学情报杂志), 2001, **17**(1):10~11.
- [13] Zhang W H (张维昊), Xu X Q (徐晓清), Qiu Ch Q (丘昌强). Advance in study on microcystins in aquatic environment. *Research of Environmental Sciences* (in Chinese) (环境科学研究), 2001, **14**(2):57~61.
- [14] Deng Y M (邓义敏). Study on microcystin toxin in Dianchi Lake. *Yunnan Environ. Sci.* (in Chinese) (云南环境科学), 2000, **19**(增刊):117~119.
- [15] Dong C H (董传辉), Yu Sh Zh (俞顺章), Chen G (陈刚), *et al.* Detection of microcystins in water samples came from four zones and a lake of Jiangsu province. *J. of Environ. and Health* (in Chinese) (环境与健康杂志), 1998, **3**:111~113.
- [16] Meng Y Z (孟玉珍), Zhang D (张丁), Wang X G (王兴国), *et al.* Study on the contamination of algae and microcystins in water sources of Zhengzhou city. *J. of Hygiene Research* (in Chinese) (卫生研究), 1999, **2**:100~101.
- [17] Liu Y B (刘元波), Chen W M (陈伟明), Fan Ch X (范成新), *et al.* Ecological simulation of blue algal bloom in Meiliang bay, Taihu lake and analysis of its harness strategies. *J. of Lake Sciences* (in Chinese) (湖泊科学), 1998, **10**(4):53~60.
- [18] Kenefick S L, Hrudey S E, Peterson H G, *et al.* Toxin release from *Microcystis aeruginosa* after chemical treatment. *Wat. Sci. Tech.*, 1993, **27**(3~4):433~440.
- [19] Duy T N, Lam P K S, Shaw G R. Toxicology and risk assessment of fresh water cyanobacterial (Blue-green algae) toxins in water. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, 2000, **163**:113~186.
- [20] Lin Y X (林毅雄), Liu X F (刘秀芬), Yan H (闫海), *et al.* Toxin of *Microcystis aeruginosa* Kuitz in dianchi and its change in water body. *Techniques and Equipment for Environmental Pollution Control* (in Chinese) (环境污染治理技术与设备), 2001, **2**(5):10~13.
- [21] Dawson R M. The toxicology of microcystins. *Toxicon*, 1998, **36**(7):953~962.
- [22] Zhou L (周伦), Yu D (鱼达), Yu H 余海, *et al.* Drinking water types, microcystins and colorectal cancer. *China J. Preventive Medicine* (in Chinese) (中华预防医学杂志), 2000, **34**(4):224~226.
- [23] Yu S Z (俞顺章), Zhao N (赵宁), Zi X L (资晓林), *et al.* The relationship between cyanotoxin (microcystin, MC) in pond-ditch water and primary liver cancer in China. *China J. Oncol* (in Chinese) (中华肿瘤杂志), 2001, **23**(2):96~99.
- [24] Chen G (陈刚), Yu S Z (俞顺章), Wei G R (卫国荣), *et al.* Study on microcystin content in different drinking water in highly endemic area of liver cancer. *China J Preventive. Medicine* (in Chinese) (中华预防医学杂志), 1996, **30**(1):1~4.
- [25] Park H, Namikoshi M, Brittain S M, *et al.* [-Leu1] microcystin-LR, a new microcystin isolated from waterbloom

in a Canadian prairie lake. *Toxicon*, 2001, **39**:855~862.

- [26] Rivasseau C, Martins S, Hennion M-C. Determination of some physiochemical parameters of microcystins (cyanobacterial toxins) and trace level analysis in environmental samples using liquid chromatography. *J. of Chromatography*, 1998, **799**:155~169.
- [27] Harada K-I, Mayumi T, Shimada T, *et al.* Co-production of microcystins and aeruginopeptins by natural cyanobacterial bloom. *Environ. Toxicol.*, 2001, **16**:298~305.
- [28] Nishizawa T, Asayama M, Fujii K, *et al.* Genetic analysis of the peptide synthetase genes for a cyclic heptapeptide microcystin in *Microcystis* spp. *J. of Biochemistry*, 1999, **126**(3):520~529.
- [29] Otsuka S, Suda S, Li R, *et al.* Phylogenetic relationship between toxic and non-toxic strains of genus *Microcystis* based on 16S to 23S internal transcribed spacer sequence. *FEMS Microbiology Letters*, 1999, **172**:15~21.
- [30] Tillett D, Dittmann E, Erhard M, *et al.* Structural organization of microcystin biosynthesis in *Microcystis aeruginosa*-PCC7806; an integrated peptide-polyketide synthetase system. *Chem. & Biology*, 2000, **7**(10), 753~764.
- [31] Orr P T and Jones G J. Relationship between microcystin production and cell division rates in nitrogen-limited *Microcystis aeruginosa* cultures. *Limnol. Oceanogr.*, 1998, **43**(7):1604~1614.
- [32] Dittmann E, Neilan B A, Borner T. Molecular biology of peptide and polyketide biosynthesis in cyanobacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2001, **57**:467~473.
- [33] Humble A V, Gadd G M, Codd G A. Binding of copper and zinc to three cyanobacterial microcystins qualified by different pulse polarography. *Wat. Res.*, 1997, **31**(7):1679~1686.
- [34] Singh D P, Tyagi M B, Kumar A, *et al.* Antialgal activity of a hepatotoxin-producing cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa*. *World J. of Microbiol. & Biotech.*, 2001, **17**:15~22.
- [35] Song L R, Sano T, Li R, *et al.* Microcystin production of *Microcystis viridis* (cyanobacteria) under different culture conditions. *Phycological Res.*, 1998, **46**(Suppl.), 19~23.
- [36] Oh H-M, Lee S J, Jang M-H, *et al.* Microcystin production by *Microcystis aeruginosa* in a phosphorus—limited chemostat. *Applied and Environ. Microbiol.*, 2000, **66**(1):176~179.
- [37] Sivonen K. Effects of light, temperature, nitrate, orthophosphate and bacteria on growth of and hepatotoxin production by *Oscillatoria agardhii* strains. *Applied and Environ. Microbiol.* 1990, **56**:2658~2666.
- [38] Lee S, Jang M, Kim H, *et al.* Variation of microcystin content of *Microcystis aeruginosa* relative to medium N:P ratio and growth stage. *J. of Appl. Microbiol.*, 2000, **89**(2), 323~329.
- [39] Rapala J, Sivonen K, Lyra C, *et al.* Variation of microcystins, cyanobacterial hepatotoxins, in *Anabaena* spp. as a function of growth stimuli. *Appl. and Environ. Microbiol.* 1997, **63**(7):2206~2212.
- [40] Rivasseau C, Martins S, Hennion M-C. Determination of some physiochemical parameters of microcystins (cyanobacterial toxins) and trace level analysis in environmental samples using liquid chromatography. *J. of Chromatography*, 1998, **799**:155~169.
- [41] Maagd G, Hendriks J, Sijm D, *et al.* pH-dependent hydrophobicity of the cyanobacteria toxin microcystin LR. *Wat. Res.*, 1999, **33**(5):677~680.
- [42] An J, Carmichael W W. Use of a colorimetric protein phosphatase inhibition assay and enzyme linked immunosorbent assay for the study of microcystins and nodularin. *Toxicon*, 1994, **32**(1):495~507.
- [43] Honkanen R E, Zwiller J, Moore R E, *et al.* Characterization of microcystin-LR, a potent inhibitor of type 1 and 2a protein phosphatases. *J. Biol. Chem.*, 1990, **265**:19401~19404.
- [44] Pouria S. A fatal microcystin intoxication in haemodialysis unit in Caruaru. *Brazil Lancet*, 1998, **352**(2):21~26.
- [45] Tore L, Petra O, Katriina K-H, *et al.* Toxic algae and fish mortality in a brackish-water lake in Åland, SW Finland. *Hydrobiologia*, 1999, **397**:109~120.
- [46] Liu Y D, Song L R, Li X Y, *et al.* The toxic effects of microcystin-LR on embryo-larval and juvenile development of loach, *Misgurnus mizolepis* Gunthe. *Toxicon*, 2002, **40**:395~399.
- [47] McElhiney J, Lawton L A, Leifert C. Investigations into the inhibitory effects of microcystins on plant growth, and the toxicity of plant tissues following exposure. *Toxicon*, 2001, **39**(9):1411~1420.
- [48] Bell S G, Codd G A. *Cyanobacterial toxins and human health*, 1994, **5**:256~264.
- [49] Lee H S, Jeong C K, Lee H M, *et al.* On-line trace enrichment for the simultaneous determination of microcystins in aqueous samples using high-performance liquid chromatography with diode-array detection. *J. of Chromatography A*, 1999, **848**:179~184.
- [50] Lawton L A, Edwards C, Codd G A. Extraction and high-performance liquid chromatographic method for the determination of microcystins in raw and treated waters. *Analyst*, 1994, **119**:1525~1530.
- [51] Moollan R W, Rae B, Verbeek A. Some comments on the determination of microcystin toxins in waters by high-

- performance liquid chromatography. *Analyst*, 1996, **121**:233~238.
- [52] Tsuji K, Masui H, Uemura H, *et al.* Analysis of Microcystins in Sediments using MMPB Method. *Toxicon*, 2001, **39**(5):687~692.
- [52] Kaya K, Sano T. Total Microcystin Determination Using Erythro-2-methyl-3-(methoxy-d3)-4-phenylbutyric Acid (MMPB-d3) as the Internal Standard. *Analytica Chimica Acta*, 1999, **386**:107~112.
- [53] Rivasseau C *et al.* Evaluation of an ELISA Kit for the Monitoring of Microcystins (Cyanobacterial Toxins) in Water and Algae Environmental Samples. *Environ. Sci. Technol.*, 1999, **33**(12):1520~1527.
- [54] Chu F S, Huang X, Wei R D, *et al.* Production and characterization of antibodies against microcystins. *Appl. and Environ. Microbiol.*, 1989, **55**:1928~1933.
- [55] Wirsing B, Flury T, Gaete V, *et al.* Estimation of the microcystin content in cyanobacterial field samples from German lakes using the colorimetric protein-phosphatase inhibition assay and RP-HPLC. *Environ. Toxicol.*, 1999, **14**(1):23~28.
- [56] Kondo F, Matsumoto H, Yamada S, *et al.* Immunoaffinity purification method for detection and quantification of microcystins in lake water. *Toxicon*, 2000, **38**(6):813~823.
- [57] Li X Y (李效宇), Song L R (宋立荣), Liu Y D (刘永定). The production, detection and toxicology of microcystins. *Acta Hydrobiologia Sinica* (in Chinese) (水生生物学报), 1999, **23**(5):517~523.
- [58] Ding Z (丁震), Chen X D (陈晓东), Lin P (林萍). The study of control and treatment of pollution on algae and algal toxin in drinking water. *Practical Preventive Medicine* (in Chinese) (实用预防医学), 2001, **8**(6):478~480.
- [59] Welker M, Steinberg C. Indirect photolysis of cyanotoxins; one possible mechanism for their low persistence. *Wat. Res.*, 1999, **33**:1159~1164.
- [60] Feitz A, Walte D, Jones G, *et al.* Photocatalytic degradation of the blue green algal toxin microcystin-LR in a natural organic-aqueous matrix. *Environ. Sci. Technol.*, 1999, **33**:243~249.
- [61] Zhang W H (张维昊), Fang T (方涛), Xu X Q (徐小清). Study on photodegradation of cyanobacterial toxin blooms of Dianchi Lake. *China Environmental Sci.* (in Chinese) (中国环境科学), 2001, **21**(1):1~3.
- [62] Pendleton P, Schumann R, Wong S H. Microcystin-LR adsorption by activated carbon. *J. of Colloid and Interface Sci.*, 2001, **240**(1):1~8.
- [63] Morris R J, Williams D E, Luu H A, *et al.* The adsorption of microcystin-LR by natural clay particles. *Toxicon*, 2000, **38**:303~308.
- [64] Miller M J, Critchley M M, Hutson J, *et al.* The adsorption of cyanobacterial hepatotoxins from water onto soil during batch experiments. *Wat. Res.*, 2001, **35**(6):1461~1468.
- [65] Tsuji K T, Watanuki F. Stability of microcystins from cyanobacteria-IV. Effect of chlorination on decomposition. *Toxicon*, 1997, **35**(7):1033~1041.
- [66] Lu X W (吕锡武), Yuhei I (稻森悠平), Ding G J (丁国际). Degradation of Microcystis viridis and microcystins with biological reactors. *China Environmental Sci.* (in Chinese) (中国环境科学), 1999, **19**(2):138~140.
- [67] Takenaka S, Watanabe M F. Microcystin LR degradation by *Pseudomonas aeruginosa* alkaline protease. *Chemosphere*, 1997, **34**(4):749~757.
- [68] Park H D, Sasaki Y, Maruyama T, *et al.* Degradation of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin by a new bacterium isolated from a hypertrophic lake. *Environ. Toxicol.*, 2001, **16**(4):337~343.
- [69] Bourne D G, Jones G J, Blakeley B L, *et al.* Enzymatic pathway for the bacterial degradation of the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin LR. *Applied and Environ. Microbiology*, 1996, **62**(11):4086~4094.
- [70] Bourne D G, Riddles P, Jones G J, *et al.* Characterisation of a gene cluster involved in bacterial degradation of the cyanobacterial toxin microcystin LR. *Environ. Toxicol.*, 2001, **16**:523~534.
- [71] Lam A K-Y, Fedorak P M, Prepas E. Biotransformation of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin-LR, as determined by HPLC and protein phosphatase bioassay. *Environ. Sci. Technol.*, 1995, **29**:242~246.
- [72] Cousins I T, Bealing D J, James H A, *et al.* Biodegradation of microcystin-LR by indigenous mixed bacterial populations. *Wat. Res.*, 1996, **30**(2):481~485.
- [73] Christoffersen K, Lyck S, Winding A. Microbial activity and bacterial community structure during degradation of microcystins. *Aqua. Microbial Eco.*, 2002, **27**:125~136.
- [74] Miller M J, Fallowfield H J. Degradation of cyanobacterial hepatotoxins in batch experiments. *Wat. Sci. and Technol.*, 2001, **43**(12):229~232.
- [75] Jones G J, Bourne D G, Blakeley R L, *et al.* Degradation of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin by aquatic bacteria. *Natural Toxins*, 1994, **2**(4):228~235.