

美味牛肝菌多糖对急性肝损伤小鼠的 保肝作用

Effect of *Boletus edulis* polysaccharides on liver protection
to CCl₄-induced acute hepatic damage mice

郑悄然¹ 张 恒² 李文峰¹

ZHENG Qiao-ran¹ ZHANG Heng² LI Wen-feng¹

陶 雯¹ 周 凤¹ 高晓旭¹

TAO Wen¹ ZHOU Feng¹ GAO Xiao-xu¹

(1. 长江师范学院现代农业与生物工程学院, 重庆 408100;

2. 雅安职业技术学院药学检验系, 四川 雅安 625014)

(1. College of Life Science and Technology, Yangtze Normal University, Chongqing 408100, China;

2. Pharmaceutical Inspection Department, Ya'an Polytechnic College, Ya'an, Sichuan 625014, China)

摘要:用不同剂量的美味牛肝菌多糖(*Boletus edulis* polysaccharides, BEP)给予小鼠灌胃连续 30 d 后,按 10 mL/kg 剂量腹腔注射含体积分数 0.2% CCl₄ 的花生油溶液,建立 CCl₄ 诱导小鼠肝损伤模型。测定肝脏指数、肝脏重量、血清谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST),以及肝组织中超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)及还原型谷胱甘肽(GSH)水平,并进一步观察肝脏组织病理学变化。结果表明:BEP 能显著抑制 CCl₄ 急性肝损伤小鼠肝脏指数、血清 ALT、AST 水平以及肝脏 MDA 含量的升高,提高肝脏 GSH-Px、SOD 及 GSH 活性,其中 800 mg/(kg BW · d) 剂量水平效果最佳,BEP 对 CCl₄ 急性肝损伤小鼠有一定的保护作用。

关键词:美味牛肝菌;多糖;CCl₄ 肝损伤;保护作用

Abstract: The mice in the treatment group were administrated with the BEP at doses of 200, 400, and 800 mg/(kg BW · d) for 30 consecutive days. The liver injury model was established by intraperitoneal injection of CCl₄. The alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST) contents in serum, and superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), glutathione peroxidase (GSH-Px) and glutathione (GSH) levels in liver were meas-

ured. Meanwhile, a hepatic pathological examination was conducted. The results of this study showed that *Boletus edulis* polysaccharides could, to some extent, protect mice from CCl₄-induced liver injury. In addition, *Boletus edulis* polysaccharides significantly prevent the increase in liver index spleen index, serum ALT, AST, and liver MDA levels, caused by CCl₄ in mice. *Boletus edulis* polysaccharides could also markedly increase the activities of liver SOD, GSH-Px, GSH. Among the tested doses, 800 mg/(kg BW · d) showed the best effect. Histopathological examinations further confirmed these results.

Keywords: *Boletus edulis*; polysaccharides; carbon tetrachloride-induced liver damage; protective effect

美味牛肝菌又称白牛肝菌、大脚菌,为担子菌亚门层菌纲菌目牛肝菌科大型菌根食用真菌^[1]。菌盖呈扁半球型或稍平展,在重庆彭水一带生长较多,因肉厚细软味道鲜美,深受当地百姓喜爱。研究发现,美味牛肝菌液体培养菌丝体和野生子实体均含有蛋白质、多糖、氨基酸、脂肪、纤维素、矿物质等多种营养成分^[2-3],具有增强免疫^[4]、抗氧化^[5]、抗肿瘤^[6]、降血脂^[7]等作用,经济价值极高。

肝脏是人体最大的腺体器官,在药物和有毒化学物质代谢中发挥着重要的作用。肝脏极易受有毒化学物质损伤,造成肝脏代谢功能紊乱。目前肝损伤已成为了尤为突出的全球性健康问题^[8-10]。多糖是牛肝菌所含的活性物质之一,具有明显的抗 S-180 肿瘤^[11]、抗氧化^[12]、保

基金项目:教育部春晖计划(编号:Z2016179);重庆市科委基础与前沿研究计划项目(编号:cstc2016jcyjA0414);重庆市教委科学技术研究项目(编号:KJQN201801436)

作者简介:郑悄然(1983—),女,长江师范学院副教授,博士。

E-mail: zheng_qr@163.com

收稿日期:2019-08-20

护肾脏^[13]与肝脏^[14]等功效。笔者团队^[15]前期研究发现,美味牛肝菌多糖具有较强的体外抗氧化能力,但目前有关美味牛肝菌多糖对 CCl_4 导致的急性肝损伤的保护作用还未见报道。

四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl_4)是急性肝损伤造模的经典化学物质,会直接损害肝细胞而引起一些特异变化。试验拟采用 CCl_4 建立急性肝损伤小鼠模型,从体内抗氧化和病理切片方面讨论美味牛肝菌多糖对急性肝损伤小鼠的保护作用,旨在为开发保肝解毒的保健食品原料提供理论和试验依据,同时为武陵山区美味牛肝菌的精深加工提供一定的参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

美味牛肝菌:重庆彭水武陵山区;

雄性昆明小鼠:清洁级,许可证号 SCXK(川)2013-24,体重(20 ± 2) g,成都达硕实验动物有限公司;

谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、丙二醛(MDA)、还原型谷胱甘肽(GSH)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒:南京建成生物工程研究所;

四氯化碳:分析纯,成都市科龙化工试剂厂;

AB-8 大孔树脂:上海锐谷生物科技有限公司;

DEAE-52 纤维素:华中海威基因科技有限公司;

基础饲料:成都达硕实验动物有限公司;

其他试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

冷冻离心机:Heraeus MultifugeX3R 型,美国 Thermo Fisher Scientific 公司;

高速万能粉碎机:FW80 型,天津市泰斯特仪器有限公司;

旋转蒸发器:XD-52AA 型,上海贤德实验仪器有限公司;

全波长扫描式多功能读数仪:Varioskan Flash 型,芬兰 Thermo Scientific 公司;

超声波清洗机:SB-5200 DTDI 型,宁波新芝生物科技股份有限公司;

全自动新型热风干燥箱:ZFD-5040 型,上海智成分析仪器制造有限公司;

光学显微镜:Nikon Eclipse E100 型,日本尼康公司。

1.3 试验方法

1.3.1 美味牛肝菌多糖的制备与测定

(1) 美味牛肝菌多糖(*Boletus edulis* polysaccharides, BEP)的制备:将干燥的美味牛肝菌用超微植物粉碎机粉碎,60 目过筛,准确称量 1.00 g 美味牛肝菌粉末,加入 90 °C 热水 30 mL,充分搅拌,置于 300 W 超声波

清洗机中超声处理 20 min,然后 90 °C 水浴浸提 1 h。浸提后过滤除渣,旋转蒸发器浓缩至原体积的 1/3,加入 4 倍体积 95% 乙醇醇沉,静置过夜,4 000 r/min 离心 15 min,取下层沉淀,依次用两次无水乙醇、一次乙醚、一次丙酮洗涤,4 000 r/min 离心 15 min,取下层沉淀自然风干,即为美味牛肝菌粗多糖。牛肝菌粗多糖经 Sevage 法脱除蛋白,再采用 AB-8 大孔树脂脱色,而后通过 DEAE-52 纤维素离子交换柱,采用 NaCl 溶液梯度洗脱分离,得牛肝菌纯化多糖。

(2) 多糖含量测定:采用苯酚—硫酸法^[16],以葡萄糖绘制标准曲线(曲线方程 $y = 0.017\ 9x + 0.104\ 1$, $R^2 = 0.990\ 0$)。经测定,美味牛肝菌多糖提取率为 6.5%,多糖含量约为 90.2%。

1.3.2 动物饲养及模型建立

(1) 饲养条件:小鼠喂养 1 周,待适应环境后,随机分为 5 组,各组小鼠在室温 22 °C,自然光照条件下常规饲养。试验期间,BEP 低、中、高剂量组按每日灌胃 0.5 mL 分别给予 200,400,800 mg/(kg BW · d)牛肝菌多糖,空白组和模型组给予等体积 0.9% 的生理盐水,连续 30 d。各组小鼠自由摄食、饮水。每周称重一次,以调整灌胃浓度。

(2) CCl_4 肝损伤模型的建立:末次灌胃 1 h 后,以 10 mL/kg 剂量,空白组小鼠腹腔注射花生油,其他各组腹腔注射体积分数 0.2% CCl_4 花生油溶液,禁食不禁水。造模 16 h 后称重,眼球取血后以 3 000 r/min 离心 15 min 分离血清备用。脱臼处死小鼠后,立即解剖并取出肝脏,用生理盐水冲洗残血后,滤纸滤干、称重并计算肝脏指数(肝脏质量与小鼠体重的质量百分比)^[17]。

1.3.3 血清指标的测定 血清谷丙转氨酶、谷草转氨酶活性按照试剂盒说明书进行测定。

1.3.4 肝脏指标的测定 取适量小鼠肝脏,按 1:9 (g/mL)比例加入生理盐水,充分研磨制成质量浓度 10% 的肝脏匀浆,3 000 r/min 离心 20 min,取上清液,按照试剂盒说明书测定超氧化物歧化酶、谷胱甘肽、谷胱甘肽过氧化物酶、丙二醛含量。

1.3.5 肝脏病理组织学观察 将各组小鼠的新鲜肝脏切成小方块,浸入 10% 福尔马林固定,经石蜡包埋、切片,常规 HE 染色后,在光学显微镜下观察。

1.3.6 统计分析 试验数据采用($\bar{x} \pm SD$)表示,SPSS 11.0 软件进行数据处理及分析。

2 结果与分析

2.1 对 CCl_4 急性肝损伤小鼠体重、肝重及肝脏指数的影响

美味牛肝菌多糖对 CCl_4 急性肝损伤小鼠体重、肝重及肝脏指数的影响见表 1。

表1 BEP对CCl₄急性肝损伤小鼠体重与肝指数的影响
Table 1 Effect of BEP on body weight and liver weight indexes in mice with liver injury (*n*=10)

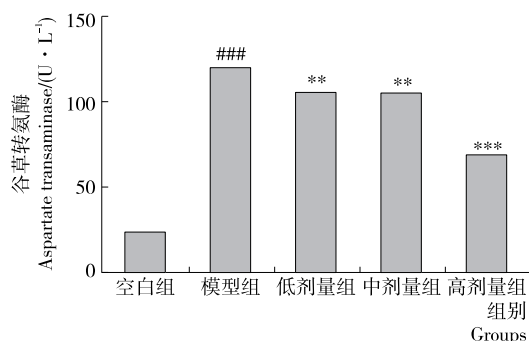
组别	终体重/g	肝脏重量/g	肝脏指数/%
空白组	38.81±1.63	1.18±0.10	3.02±0.21
模型组	38.19±2.92	1.38±0.16 ^{##}	3.55±0.28 ^{###}
低剂量组	38.25±1.15	1.28±0.05	3.34±0.15 [*]
中剂量组	37.13±3.85	1.28±0.20	3.29±0.24 ^{**}
高剂量组	37.80±2.22	1.21±0.07 ^{**}	3.29±0.14 ^{**}

† 相对于空白组, ^{##} *P*<0.01, ^{###} *P*<0.001; 相对于模型组, ^{*} *P*<0.05, ^{**} *P*<0.01。

由表1可以看出,BEP对小鼠体重无显著性影响。模型组小鼠肝重及肝指数均显著高于空白对照组(*P*<0.01),说明CCl₄会导致小鼠肝脏受损,肝脏肿大,建模成功;与模型组相比,高剂量BEP显著降低急性肝损伤小鼠的肝重(*P*<0.01),各剂量组BEP均显著降低了小鼠的肝指数(低剂量组*P*<0.05,中、高剂量组*P*<0.01),由此说明,一定剂量的BEP能有效抑制CCl₄所致的小鼠肝脏肿大。

2.2 对CCl₄急性肝损伤小鼠血清AST、ALT的影响

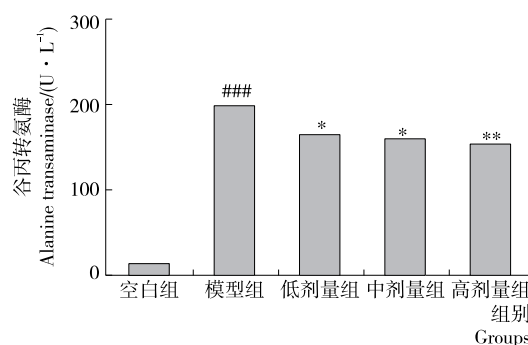
谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)是评价肝脏受损的两个重要血清生化指标。正常情况下,ALT和AST在血清中的含量较低,而当肝脏受损时,会有大量ALT和AST释放入血液,引起血清中这两种酶的活性明显提高^[18]。如图1、2所示,模型组小鼠血清中ALT、AST活性显著高于空白组(*P*<0.001),说明造模成功。与模型组相比,低、中剂量组小鼠血清ALT、AST显著降低(*P*<0.01),高剂量组小鼠血清ALT、AST极显著低于模型组(*P*<0.001),表明BEP具有一定的保肝作用。



相对于空白组, ^{###} *P*<0.001; 相对于模型组, ^{**} *P*<0.01, ^{***} *P*<0.001

图1 BEP对CCl₄急性肝损伤小鼠血清中谷草转氨酶(AST)的影响

Figure 1 Effect of BEP on the serum aspartate transaminase (AST) levels in mice with liver injury (*n*=10)



相对于空白组, ^{###} *P*<0.001; 相对于模型组, ^{*} *P*<0.05, ^{**} *P*<0.01

图2 BEP对CCl₄急性肝损伤小鼠血清中谷丙转氨酶(ALT)的影响

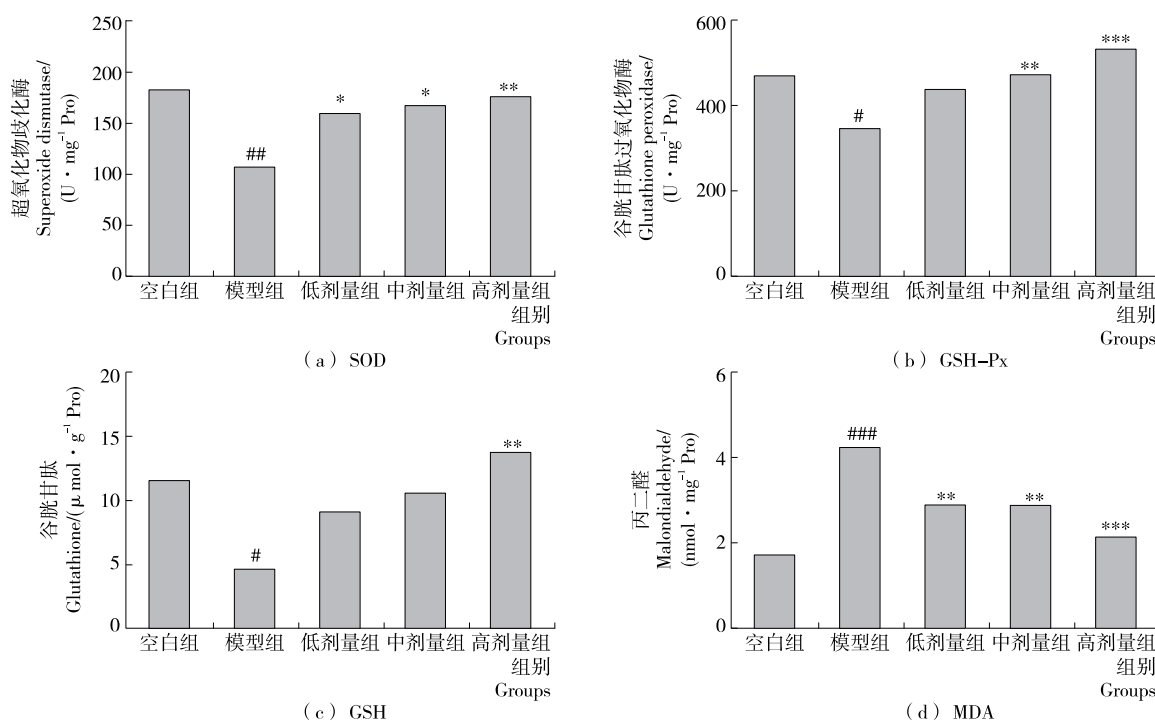
Figure 2 Effect of BEP on the serum alanine transaminase (ALT) levels in mice with liver injury (*n*=10)

2.3 对CCl₄急性肝损伤小鼠肝脏组织SOD、GSH、GSH-Px活性及MDA含量的影响

如图3所示,与空白组比较,模型组CCl₄造成肝组织的SOD、GSH-Px及GSH活性显著降低(*P*<0.01),而MDA在肝脏堆积(*P*<0.001),并进一步破坏细胞膜结构,说明CCl₄引起的小鼠肝损伤与氧化应激有关^[19];SOD是生物体内重要的抗氧化酶,能有效清除代谢过程中产生的氧自由基,减缓细胞衰老进程,其活性高低可间接反映机体的抗氧化能力^[20];而MDA是脂质过氧化的终产物之一,其含量的多少直接反映了细胞损伤程度^[21]。与模型组比较,灌胃BEP各剂量组小鼠肝组织中SOD活性均显著增强(*P*<0.05),MDA含量显著降低(*P*<0.01),见图3(a)和(d);GSH-Px是机体中广泛存在的一种含硒酶,同样具有清除自由基的作用,其活性越高,自由基清除速率越快,如图3(b)所示,BEP中剂量组和高剂量组肝脏GSH-Px活性显著高于模型组,而低剂量组与模型组差异不显著(*P*>0.05);灌胃高剂量的BEP能显著提高小鼠肝脏GSH活性(*P*<0.01),见图3(c)。以上结果说明,BEP能通过提高肝脏SOD、GSH-Px及GSH活性,有效清除自由基,抑制自由基引起的脂质过氧化,延缓小鼠肝脏氧化进程,提高肝脏抗氧化能力,从而降低MDA含量,避免肝脏损伤,同时,这种肝脏保护作用存在一定的剂量效应。

2.4 对CCl₄急性肝损伤小鼠肝脏组织形态的影响

HE染色结果表明,空白组小鼠肝小叶结构完整、轮廓清晰,细胞排列整齐,未见细胞变性坏死及炎症细胞浸润,见图4(a);而模型组可以观察到肝细胞大片坏死,排列紊乱,细胞核大小不一,说明造模成功,见图4(b);低剂量组和中剂量组出现炎症细胞浸润,但与模型组相比,肝



相对于空白组, #, $P < 0.05$, # #, $P < 0.01$, # # #, $P < 0.001$; 相对于模型组, *, $P < 0.05$, **, $P < 0.01$, ***, $P < 0.001$

图 3 BEP 对 CCl₄ 急性肝损伤小鼠肝脏中 SOD、GSH-Px、GSH 和 MDA 的影响

Figure 3 The effects of BEP on the hepatic superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) levels in mice with liver injury ($n=10$)

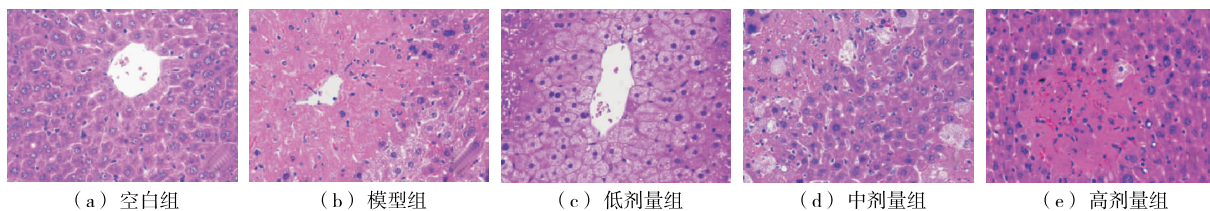


图 4 小鼠肝组织切片

Figure 4 Liver sections stained with H & E (×400)

细胞病变减少,说明一定程度上减轻了肝细胞损伤程度见图 4(c)和(d);高剂量组肝细胞结构较为完整,炎性细胞数量较少,炎性细胞浸润程度明显减轻,见图 4(e),由此说明,美味牛肝菌多糖可有效保护肝细胞抵御 CCl₄ 的损害。

3 结论

研究了美味牛肝菌多糖对四氯化碳急性肝损伤小鼠的保护作用。结果表明:一定剂量的美味牛肝菌多糖能减轻 CCl₄ 引起的小鼠肝损伤,降低血清谷草转氨酶和谷丙转氨酶活性及肝脏丙二醛含量,提高肝脏抗氧化能力,对 CCl₄ 所致小鼠肝损伤有保护作用,其具体的作用机制还有待于进一步的研究。

参考文献

[1] 郭磊,肖志晖,李鹏,等. 响应面法优化美味牛肝菌挥发性风味物质的萃取工艺[J]. 中国调味品, 2018, 43(2): 38-41.

- [2] 邓百万, 陈文强, 李新生. 美味牛肝菌丝体与野生子实体营养成分的比较分析[J]. 食品科学, 2004, 25(11): 255-258.
- [3] 江洁, 李学伟, 金怀刚. 美味牛肝菌菌丝体与子实体蛋白质营养价值的评价[J]. 食品科学, 2013, 34(3): 253-256.
- [4] 王涛, 李丽娟, 申元英. 牛肝菌对小鼠免疫功能影响的实验研究[J]. 大理学院学报, 2012, 11(6): 20-22.
- [5] 李娟, 李平, 卜可华. 几种牛肝菌抗氧化能力的研究[J]. 中国食品添加剂, 2007(1): 49-53.
- [6] WANG Dong, SUN Shu-qing, WU Wei-zhen, et al. Characterization of a water-soluble polysaccharide from Boletus edulis and its antitumor and immunomodulatory activities on renal cancer in mice[J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 105: 127-134.
- [7] 王一心, 杨桂芝, 狄勇, 等. 黑牛肝菌降血脂及抗氧化作用的实验研究[J]. 大理学院学报: 综合版, 2004, 3(3): 6-8.
- [8] CHEN Jian, SUN Hong-nan, SUN Ai-dong, et al. Studies of the protective effect and antioxidant mechanism of blueberry anthocy-

- anins in a CCl₄-induced liver injury model in mice[J]. Food and Agricultural Immunology, 2012, 23(4): 352-362.
- [9] PATSENKER E, CHICCA A, PETRUCCI V, et al. 4-O'-methylhonokiol protects from alcohol/carbon tetrachloride-induced liver injury in mice[J]. Journal of Molecular Medicine, 2017, 95(10): 1 077-1 089.
- [10] WU Hao, QIU Yong, SHU Zi-yang, et al. Protective effect of Trillium tschonoskii saponin on CCl₄-induced acute liver injury of rats through apoptosis inhibition[J]. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 2016, 94(12): 1 291-1 297.
- [11] 唐薇, 鲁新成. 美味牛肝菌多糖的生物活性及其抗 S-180 肿瘤的效应[J]. 西南师范大学学报: 自然科学版, 1999, 24(4): 478-481.
- [12] 李志洲. 美味牛肝菌多糖的抗氧化性[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(4): 49-51.
- [13] 赵霞霞, 陶明焯, 程光宇, 等. 黑牛肝菌多糖对小鼠酒精性肾损伤保护作用的研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(20): 368-371.
- [14] 郭永月, 陶明焯, 程光宇, 等. 黑牛肝菌多糖对急性酒精肝损伤小鼠的保护作用[J]. 中国食品学报, 2016, 16(1): 35-41.
- [15] 郑悄然, 周凤, 邢洁, 等. 干燥方式对牛肝菌干燥特性、品质及抗氧化能力的影响[J]. 食品与机械, 2018, 34(11): 45-49.
- [16] 王金玺, 顾林, 孔凡伟, 等. 鸡腿菇粗多糖的体外抗氧化性[J]. 食品科学, 2012, 33(13): 79-82.
- [17] NIU Xiao-feng, LIU Fang, LI Wei-feng, et al. Hepatoprotective effect of fraxin against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in vitro and in vivo through regulating hepatic antioxidant, inflammation response and the MAPK-NF- κ B signaling pathway[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2017, 95(11): 1 091-1 102.
- [18] COSTA M M, FRANÇA R T, DA SILVA A S, et al. *Rangelia vitalii*: Changes in the enzymes ALT, CK and AST during the acute phase of experimental infection in dogs[J]. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 2012, 21(3): 243-248.
- [19] ZHANG Ke-feng, GAO Ya, ZHONG Min-li, et al. Hepatoprotective effects of *Dicliptera chinensis* polysaccharides on dimethyl nitrosamine-induced hepatic fibrosis rats and its underlying mechanism[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2016, 179(17): 38-44.
- [20] HAN Bing, GAO Yang, WANG Yan-li, et al. Protective effect of a polysaccharide from *Rhizoma Atractylodis Macrocephalae* on acute liver injury in mice[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 87(6): 85-91.
- [21] AL-RASHEED N M, ATTIA H A, MOHAMAD R A, et al. Aqueous date flesh or pits extract attenuates liver fibrosis via suppression of hepatic stellate cell activation and reduction of inflammatory cytokines, transforming growth factor- β 1 and angiogenic markers in carbon tetrachloride-intoxicated rats[J]. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, 2015, 19: 1-20.
-
- (上接第 55 页)
- [3] 刘选成, 张东跃, 赵德义, 等. 数字化酿造工艺管理系统在浓香型白酒机械化、自动化和智能化酿造生产中的应用[J]. 酿酒科技, 2018(11): 70-74, 79.
- [4] 周金虎. 论传统白酒生产机械化智能化设备[J]. 酿酒, 2017, 44(4): 21-24.
- [5] 赵立强, 张东跃, 郭学风, 等. 浓香型白酒酿造生产自动化智能化简介[J]. 酿酒科技, 2017(4): 82-87.
- [6] 刘志江. 七二二所成功“跨界”白酒智能化生产设备行业[J]. 中国军转民, 2018(3): 50.
- [7] 徐姿静, 唐清兰, 徐占成, 等. 中国传统白酒工艺技术智能化升级研究[J]. 酿酒, 2017, 44(5): 19-24.
- [8] 周海燕, 张宿义, 敖宗华, 等. 白酒摘酒工艺的研究进展[J]. 酿酒科技, 2015(3): 105-107.
- [9] 陈林, 庾先国, 张贵宇, 等. 基于酒精度重建模型的摘酒技术研究[J]. 中国酿造, 2019, 38(3): 23-27.
- [10] 何盛国, 冯涛, 孙毅, 等. 温度、压力和酒精度控制量质摘酒装置: 中国, 203096042U[P]. 2013-07-31.
- [11] 冯涛, 孙毅, 何盛国, 等. 风味物质在线量质摘酒装置: 中国, 203096043U[P]. 2013-07-31.
- [12] 韩四海, 郭玉姗, 李璇, 等. 基于近红外光谱技术检测白酒基酒中乙醇含量的研究[J]. 中国酿造, 2018, 37(9): 158-161.
- [13] 路江浩, 刘明, 徐姿静, 等. 白酒品尝中挥发性风味物质实时在线检测方法的研究[J]. 中国食品学报, 2018, 18(8): 224-231.
- [14] 孙时光, 左勇, 张晶, 等. 酱香型白酒中的风味物质及功效[J]. 中国酿造, 2017, 36(12): 10-13.
- [15] 杨国迪. 基于近红外光谱的白酒基酒分析模型的建立[D]. 洛阳: 河南科技大学, 2016: 13-19.
- [16] 尚柯, 韩兴林, 王德良, 等. 酱香白酒高温堆积酒醅挥发性风味物质的检测分析[J]. 中国酿造, 2016, 35(2): 139-143.
- [17] 李一雷. 一种自适应阈值二值法在泡界线检测中的应用[J]. 浙江交通职业技术学院学报, 2018, 19(1/2): 49-53.
- [18] 曹爽. 基于 OTSU 算法的图像阈值分割技术[D]. 太原: 太原理工大学, 2018: 9.
- [19] 燕红文, 邓雪峰. OTSU 算法在图像分割中的应用研究[J]. 农业开发与装备, 2018(11): 103, 108.
- [20] 赵世峰, 何哲健. 基于 OpenCV 的复杂环境下图像二值化方法[J]. 电子测量技术, 2018, 41(6): 55-59.
- [21] 梁肇峻, 钟俊. 基于 Otsu 算法与直方图分析的自适应 Canny 算法的改进[J]. 现代电子技术, 2019, 42(11): 54-58.
- [22] 刘丽霞, 李宝文, 王阳萍, 等. 改进 Canny 边缘检测的遥感影像分割[J]. 计算机工程与应用, 2019, 55(12): 54-58, 180.