

文章编号: 1674-5566(2025)05-1029-10

DOI: 10.12024/jsou.20250404824

## 两种氨基酸类似物对拉氏尖头藻的抑藻作用

刘 瞳, 刘慧敏, 尹思成, 张 玮

(上海海洋大学 水产与生命学院环境DNA技术与水生生态健康评估工程中心, 上海 201306)

**摘 要:** 全球气候变暖促使入侵蓝藻拉氏尖头藻(*Raphidiopsis raciborskii*)向高纬度水体扩张,而目前针对该物种的防治技术研究仍较为有限。评估了两种氨基酸类似物左旋多巴(L-3,4-dihydroxyphenylalanine, L-DOPA)和高精氨酸(Homoarginine, Har)对拉氏尖头藻的抑藻效果,探究了拉氏尖头藻细胞在两种化合物处理后的生理响应。结果显示,两种氨基酸类似物均导致藻细胞内活性氧(ROS)显著富集,L-DOPA组中ROS富集程度高于Har组;均造成藻细胞内光合系统损伤。L-DOPA对光反应中心、电子传递链及叶绿素a(*Chl.a*)造成破坏,藻胆蛋白(PBP)含量显著降低,别藻蓝蛋白(APC)及藻红蛋白(PE)占比显著增加,藻丝断裂成极小片段(平均长度为对照组的9.70%),藻细胞大量损伤;Har引起藻细胞光反应中心、电子传递链损伤,PBP合成增加,PE占比显著增加,藻丝部分断裂(平均长度为对照组的22.33%),胞外聚合物(EPS)分泌显著增加。研究表明,L-DOPA及Har均对入侵蓝藻拉氏尖头藻具有抑制作用,L-DOPA抑藻活性高于Har,二者的作用方式可能存在差异,相关结果为研发新型蓝藻水华防治技术提供了重要基础数据。

**关键词:** 左旋多巴; 高精氨酸; 入侵蓝藻; 光合系统; 胞外聚合物; 活性氧

**中图分类号:** Q 948.8; X 52

**文献标志码:** A

随着全球气候变暖及水体富营养化加剧,原本主要分布在热带和亚热带的拉氏尖头藻(*Raphidiopsis raciborskii*)水华正不断向高纬度水体扩张,其暴发频率在全球范围内显著增加<sup>[1-2]</sup>。作为一种入侵性蓝藻,拉氏尖头藻通过其独特的生理特性包括固氮能力、磷储存机制、弱光适应性、浮力调节以及毒素产生等在新生境中形成显著的竞争优势,严重威胁本土水生生物多样性<sup>[3]</sup>。更值得关注的是,该藻种的大规模繁殖会直接导致饮用水源污染,引发公共健康危机<sup>[3]</sup>。拉氏尖头藻因为具有对环境的强适应性,导致极易形成蓝藻水华,引起水质下降,难以治理<sup>[3]</sup>。

目前对于拉氏尖头藻水华治理的研究包括通过电化学氧化法的物理控藻<sup>[4]</sup>,氧化剂如臭氧,游离氯的化学控藻<sup>[5]</sup>,浮游生物摄食、噬菌体寄生的生物控藻<sup>[6-7]</sup>,而化感物质去除拉氏尖头藻的研究仍有待开展。目前对于蓝藻水华的治理方式中,化感物质抑藻因具有高效、无二次污染及良

好生物安全性等优势而得到广泛关注<sup>[8]</sup>。在具有抑藻活性的化感物质中,含氮类化合物对蓝藻存在广谱抑制作用,生理活性显著且功能多样,具有良好的研究前景<sup>[9]</sup>。含氮类化合物主要包含了生物碱、蛋白类、肽类及氨基酸类物质<sup>[10]</sup>。目前的研究发现,含氮类化合物大多可从细菌的次级代谢产物中分离出来<sup>[11-13]</sup>,一般通过破坏藻细胞的光合系统及超微结构导致细胞死亡<sup>[9]</sup>。目前对于含氮类化合物的抑藻研究,主要集中在微囊藻属,而对于入侵物种拉氏尖头藻的影响,仍有待进一步探索。

氨基酸类物质是含氮类化合物中易获得,存在广泛且经济高效的一类活性物质。已知具有高效抑藻活性的氨基酸包括赖氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸等,均属于天然蛋白类氨基酸<sup>[10]</sup>,通过对微囊藻处理后发现,蛋白类氨基酸一般通过破坏藻细胞结构,使藻细胞裂解,从而导致细胞死亡,该过程常伴随抗氧化系统的损伤<sup>[13-14]</sup>。氨基酸类

收稿日期: 2025-04-08 修回日期: 2025-05-24

项目基金: 国家重点研发计划(2022YFC2601305)

作者简介: 刘 瞳(1999—),女,硕士研究生,研究方向为藻类生物学。E-mail: aqualitong@163.com

通信作者: 张 玮, E-mail: weizhang@shou.edu.cn

版权所有 ©《上海海洋大学学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)

Copyright © Editorial Office of Journal of Shanghai Ocean University (CC BY-NC-ND 4.0)

<http://www.shhydx.com>

似物是氨基酸经合成后修饰,不存在于蛋白质中的氨基酸类化合物<sup>[15]</sup>,从植物及微生物中分离获得的氨基酸类似物通常具有化学防御功能,对其他生物存在毒害作用。由于氨基酸类似物与蛋白类氨基酸相似的结构特征,可以通过干扰细胞内代谢通路导致细胞死亡,对于氨基酸类似物的研究大多集中在除草剂、杀虫剂及药物的研发,而缺乏氨基酸类似物对有害蓝藻,尤其是入侵蓝藻拉氏尖头藻作用的研究<sup>[16-17]</sup>。高精氨酸(Har)与左旋多巴(L-DOPA)作为两种氨基酸类似物,已被证实具有良好的生物活性。Har是一种精氨酸类似物,与精氨酸均可作为一氧化氮合酶的底物,参与细胞内一氧化氮(NO)的合成,过量的NO对光合系统产生抑制作用<sup>[18]</sup>,同时,Har也被证实具有一定的抑菌作用<sup>[19]</sup>;L-DOPA是一种酪氨酸类似物,可替代蛋白质内酪氨酸,引起蛋白质的错误折叠,具有良好的除草效果<sup>[19]</sup>,另外,L-DOPA在帕金森病的治疗中得到关注。但L-DOPA会在细胞中氧化生成活性氧(ROS),引起细胞强烈氧化损伤,因此使用受到限制<sup>[20]</sup>。探究两种氨基酸类似物对于拉氏尖头藻的抑制作用,具备潜在价值。

本研究首次探索了两种氨基酸类似物L-DOPA及Har对入侵蓝藻拉氏尖头藻的生理功能的影响,本研究推测:(1)两种氨基酸类似物会破坏藻细胞光合系统;(2)诱导细胞内活性氧富集;(3)同时引起藻细胞胞外聚合物(Extracellular polymeric substances, EPS)改变,导致藻丝断裂,证实两种氨基酸类物质具有抑制拉氏尖头藻的作用,为入侵蓝藻拉氏尖头藻水华治理提供可行修复方案。

## 1 材料与方法

### 1.1 藻种及氨基酸类似物的来源

本实验的藻种拉氏尖头藻(*Raphidiopsis raciborskii*)FACHB-1503购买自中国科学院水生生物研究所淡水藻种库。在实验正式开始前,使用蓝绿藻培养基BG11对拉氏尖头藻进行预培养和扩大培养。培养装置使用恒温光照培养箱,条件设置为:25℃,光照周期为光照:黑暗=12 h:12 h,光照强度为1 500 lx。培养藻类过程中,每天两次,按时手动摇晃培养瓶,并监测拉氏尖头藻的生长情况,直至培养至对数生长期( $1.0 \times 10^7$  cells/

mL)用于开展实验。

两种氨基酸类似物左旋多巴(L-DOPA, D807434)和高精氨酸(Har, H811372)购买自麦克林,使用BG11作为溶剂制成浓缩原液,在实验前通过孔径为0.22 μm的注射式过滤器(Millipore, Millex-GP, 美国)进行过滤除菌,L-DOPA原液配置时使用二甲基亚砜(DMSO)作为助溶剂,实验中终浓度不超过1%。

### 1.2 数据采集

#### 1.2.1 氨基酸类似物最佳浓度测定

拉氏尖头藻细胞初始密度设置为 $2 \times 10^6$  cells/mL,对两种氨基酸类似物分别设置6个浓度梯度<sup>[13]</sup>,Har组:1 600、1 300、1 000、700、300、0 μmol/L;L-DOPA组:250、200、150、100、50、0 μmol/L;在96 h时测定拉氏尖头藻细胞光合参数。使用浮游植物分类荧光仪(PHYTO-PAM, WALZ)对拉氏尖头藻的光合系统II(PS II)进行评价,以PS II光化学能转换的有效量子产率(Yield)作为毒性测试参考,叶绿素a(Chlorophyll a, Chl.a)浓度作为生物量参考<sup>[21]</sup>。抑制率计算公式如下:

$$I_r(\%) = 1 - \frac{N_t}{N_0} \quad (1)$$

式中: $I_r$ 表示抑制率; $N_t$ 表示加入氨基酸类似物处理后的藻细胞Yield; $N_0$ 表示未加入氨基酸类似物处理的藻细胞Yield。

选择最佳浓度处理拉氏尖头藻,于0、6、24、48、72、96 h时取样,在光学显微镜(Olympus BX53, ×400),使用浮游植物计数框计数,并测量每根藻丝长度(100个视野数),各实验组藻丝的相对长度计算公式如下:

$$R_l(\%) = \frac{L_t}{L_0} \quad (2)$$

式中: $R_l$ 表示相对长度,%; $L_t$ 表示加入实验组藻细胞平均长度,μm; $L_0$ 表示对照组藻细胞平均长度,μm。

根据实验1.2.1节的结果,选择最佳氨基酸类似物浓度对拉氏尖头藻细胞进行处理,根据氨基酸类似物的种类分为左旋多巴(L-DOPA)组及高精氨酸(Har)组,对照组(Ctr)加入等体积BG11作为空白对照,每组设置3组平行实验。于0、6、24、48、72、96 h时取样。

### 1.2.2 光合系统测定

测定藻细胞光合参数:PS II 的最大光化学量子产率( $F_v/F_m$ )、有效量子产率(Yield)、叶绿素 a 含量( $Chl.a$ )、最大光利用系数( $\alpha$ )和最大电子传输速率( $ETR_{max}$ )<sup>[21]</sup>。

测定藻细胞内藻胆蛋白(Phycobiliproteins, PBP)含量:利用反复冻融法提取细胞内藻胆蛋白<sup>[22]</sup>。取各组藻液 10 mL 于冷冻离心机离心(5810 R),4 °C,3 500 r/min 离心 30 min。弃去上清液,沉淀用 1 mL BG11 重悬,液氮反复冻融 6 次,3 min/次,再使用冷冻离心机 10 000 r/min×7 min 离心,取上清,紫外分光光度计于波长 620 nm、652 nm、562 nm 测定吸光度<sup>[23]</sup>。藻胆蛋白计算公式:

$$X_1 = 0.187 \times A_{620} - 0.089 \times A_{652} \quad (3)$$

$$X_2 = 0.196 \times A_{652} - 0.041 \times A_{620} \quad (4)$$

$$X_3 = 0.104 \times A_{562} - 0.251 \times X_1 - 0.088 \times X_2 \quad (5)$$

$$X_4 = X_1 + X_2 + X_3 \quad (6)$$

式中: $X_1$ 为藻蓝蛋白(Phycocyanin, PC)的量,mg/mL; $X_2$ 为别藻蓝蛋白(Allophycocyanin, APC)的量,mg/mL; $X_3$ 为藻红蛋白(Phycoerythrin, PE)的量,mg/mL; $X_4$ 为藻胆蛋白总量,mg/mL; $A_{562}$ 、 $A_{620}$ 、 $A_{652}$ 是波长为 562 nm、620 nm、652 nm 时的吸光度。

### 1.2.3 活性氧检测

使用 Servicebio 活性氧(ROS)检测试剂盒 G1706 100T 测定细胞 ROS 含量,取 10 mL 藻液,冷冻离心机(5810 R)3 500 r/min,4 °C 离心 30 min,去除上清液,加入 5 mL PBS 缓冲液洗涤 2 次,1 000 r/min,4 °C 离心 5 min,去除上清液,加入 1 mL DCFH-DA 工作液转移至 1.5 mL 离心管中,37 °C 避光孵育 30 min,每隔 5 min 晃动混匀,孵育结束后 1 000 r/min,离心 5 min,去除上清液,加入 1 mL PBS 洗涤 2 次(1 000 r/min,5 min),加入 1 mL PBS 重悬,于正置荧光显微镜(Ci-L)观察拍照。荧光强度通过 Image J 量化,结果以平均灰度值(Mean gray value, MGA)表示,单位为 arbitrary units(A.U.),图像采集时,曝光时间、发射光强等条件均保持一致。

### 1.2.4 胞外聚合物(EPS)测定

取藻液 40 mL,冷冻离心(3 500 r/min,4 °C,15 min)收集藻细胞。使用 5 mL,0.9 % NaCl 重

悬藻细胞,于 60 °C 的水浴中提取 3 h,并使用 0.45  $\mu$ m 水系滤膜获得 EPS<sup>[24]</sup>。使用考马斯亮蓝法测定 EPS 蛋白含量。使用硫酸苯酚法测定 EPS 中的多糖含量:取 2 mL 拉氏尖头藻细胞胞外多糖溶液样品,加入 6% 的苯酚溶液 1 mL,然后用移液管直接对着液体表面加入 5 mL 浓硫酸,涡旋震荡 5 s,室温静置 30 min。用 2 mL 蒸馏水进行同样的操作处理,作为空白对照。用紫外分光光度计测定在 490 nm 处的吸光度( $OD_{490}$ )。配置葡萄糖溶液制作标准曲线。

### 1.3 数据处理

本研究所有数据均采用平均值±标准差表示。采用 SPSS 26.0 对数据进行统计分析,采用  $P < 0.05$  为差异显著,荧光显微镜拍摄图片中的荧光强度通过 Image J 软件进行计算,将计算获得平均灰度值(MGA)进行 Log(MGA+1) 转化后进行分析。所有统计图均使用 Origin 2021 进行绘制。

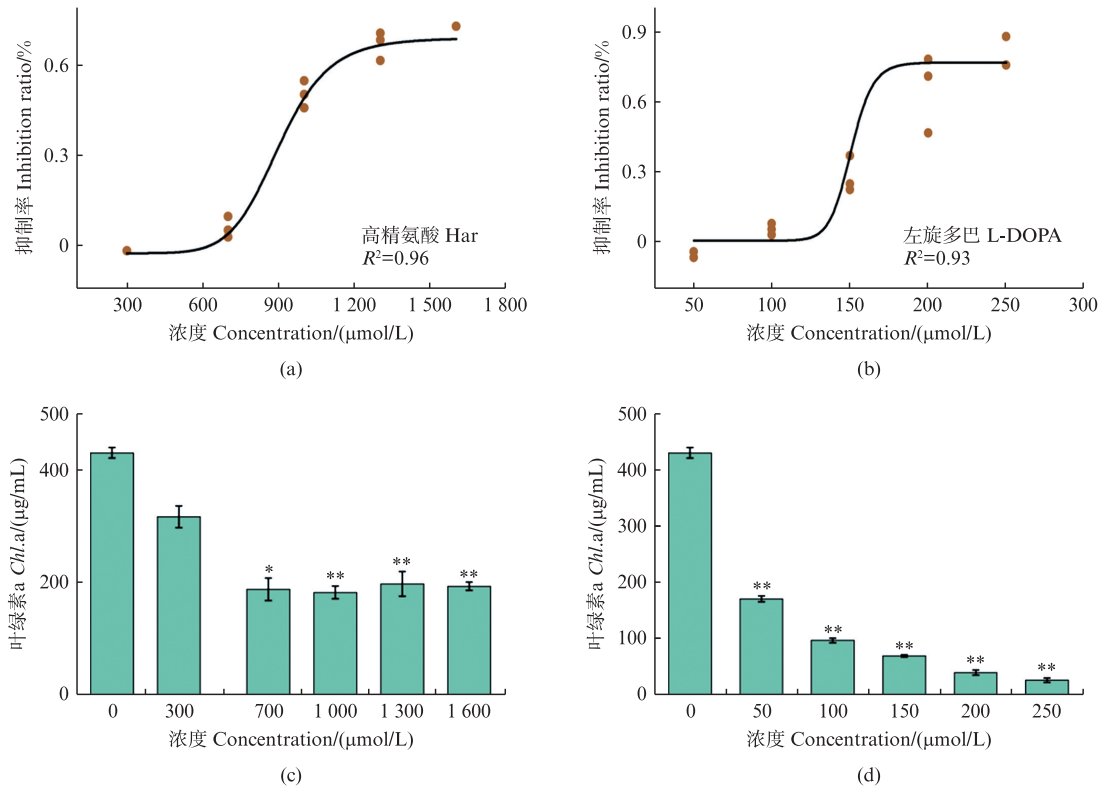
## 2 结果与分析

### 2.1 氨基酸类似物最佳浓度测定

将不同浓度氨基酸类似物对拉氏尖头藻处理 96 h,发现随着氨基酸类似物浓度的升高,藻细胞有效量子产率(Yield)抑制率提高,Har 处理组在浓度高于 700  $\mu$ mol/L 时,Yield 的抑制率迅速提高,叶绿素 a( $Chl.a$ )浓度发生显著性降低,浓度达到 1 600  $\mu$ mol/L 时,抑制率达到最高且逐渐维持稳定(图 1a 和 1c),而随着 Har 浓度的上升, $Chl.a$  含量未发生显著变化(图 1c),L-DOPA 处理组在浓度高于 100  $\mu$ mol/L 时,Yield 的抑制率迅速提高,250  $\mu$ mol/L 时,抑制率达到最高且逐渐维持稳定(图 1b),浓度高于 50  $\mu$ mol/L 时, $Chl.a$  含量显著性降低,随着 L-DOPA 浓度的升高, $Chl.a$  含量逐渐下降(图 1d)。

选择 Har 浓度为 1 600  $\mu$ mol/L 及 L-DOPA 浓度为 250  $\mu$ mol/L 处理藻细胞后,通过浮游植物计数框对拉氏尖头藻藻丝长度进行统计发现,Har 处理组中,藻丝在 96 h 时,平均长度为对照组(Ctr)的 46.92%(图 2a)。L-DOPA 处理组中,在处理 24 h 后,藻丝发生明显断裂,平均长度为 Ctr 组的 22.33%,处理 72 h 后,藻丝长度为 Ctr 组的 9.70%(图 2b)。

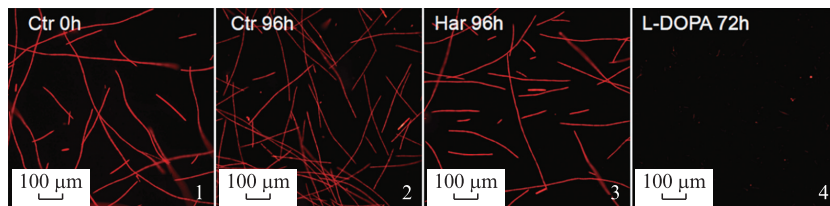
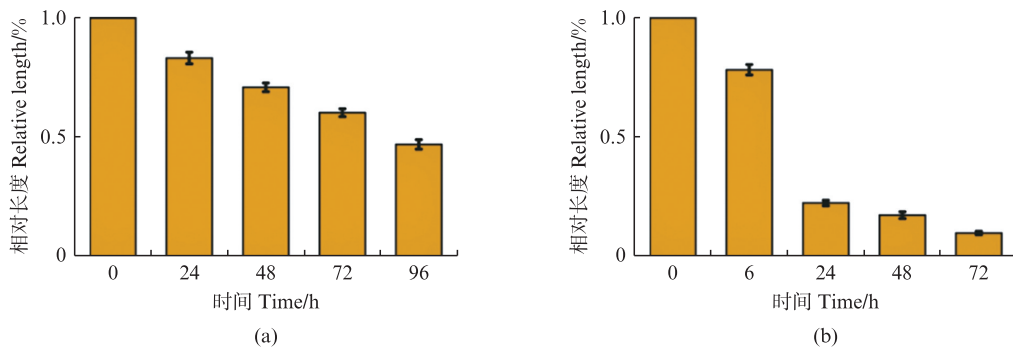




柱状图上方含“\*”代表其他浓度实验组与浓度为0的实验组相比,存在显著性差异 (“\*” $P<0.05$ , “\*\*” $P<0.01$ , “\*\*\*” $P<0.001$ ); (a), (b). Har, L-DOPA的Yield抑制率变化; (c), (d). Har, L-DOPA的Chl. a浓度的变化。  
The “\*” above the histogram showed the significant difference compared to the 0  $\mu\text{mol/L}$  concentration group (“\*” $P<0.05$ , “\*\*” $P<0.01$ , “\*\*\*” $P<0.001$ ). (a), (b). the change of Yield inhibition ratio in Har and L-DOPA group; (c), (d). the change of Chl. a concentration in Har and L-DOPA group.

图1 不同浓度氨基酸类似物对拉氏尖头藻处理96 h后藻细胞Yield抑制率及Chl. a浓度变化

Fig. 1 Inhibition of Yield and Chl. a concentration in *R. raciborskii* exposed to amino acid analogs with concentration gradient for 96 h



(a) Har组与Ctr组中藻丝平均长度比值; (b) L-DOPA组与Ctr组中藻丝平均长度比值; 图1-4为Ctr组0 h, 96 h, Har组96 h及L-DOPA组72 h荧光显微镜拍摄情况, 红色为藻细胞叶绿素荧光颜色。

(a) Har/Ctr filament length ratio; (b) L-DOPA/Ctr filament length ratio; Panels 1-4. fluorescence microscopy of Ctr (0 h, 96 h), Har (96 h), and L-DOPA (72 h). Red indicated chlorophyll fluorescence.

图2 最佳浓度氨基酸类似物处理后不同时间点拉氏尖头藻藻丝的相对长度变化

Fig. 2 Relative filament length changes of *R. raciborskii* over time under optimal amino acid analog treatment

## 2.2 光合系统测定

实验结果发现(图3),Har处理组中,*Chl.a*含量在24,48 h时增加,72,96 h逐渐减少,抑制率最高达到30.86%, $F_v/F_m$ 、Yield及 $\alpha$ 在48 h后受到明显抑制(58.06%,93.09%,83.48%),抑制率最高达到84.62%、100.00%、95.68%, $ETR_{max}$ 在24 h时受到明显抑制(62.94%),抑制率最高达到89.19%;L-DOPA处理组中,*Chl.a*含量随处理时间延长逐渐减少,24 h时明显减少(68.72%),抑制率最高达到93.97%, $F_v/F_m$ 、Yield及 $\alpha$ 在24 h后受到明显抑制(95.90%,100.00%,89.55%),抑制率最高达到100.00%、100.00%、96.98%, $ETR_{max}$ 在6 h时受到明显抑制(55.31%),抑制率最高达到97.71%。对藻胆蛋白(PBP)的测定结果发现(图4),Har组中,96 h时PBP含量与Ctr组相比显著升高(0.084,0.052 mg/mL; $P<0.05$ ),藻蓝蛋白(PC)及APC占比显著降低(Ctr:36.90%,45.10%;Har:24.00%,28.20%; $P<0.05$ ),PE占比显著增加(Ctr:18.00%;Har:47.90%; $P<0.05$ );L-DOPA组中,72 h时PBP含量与Ctr组相比显著降低

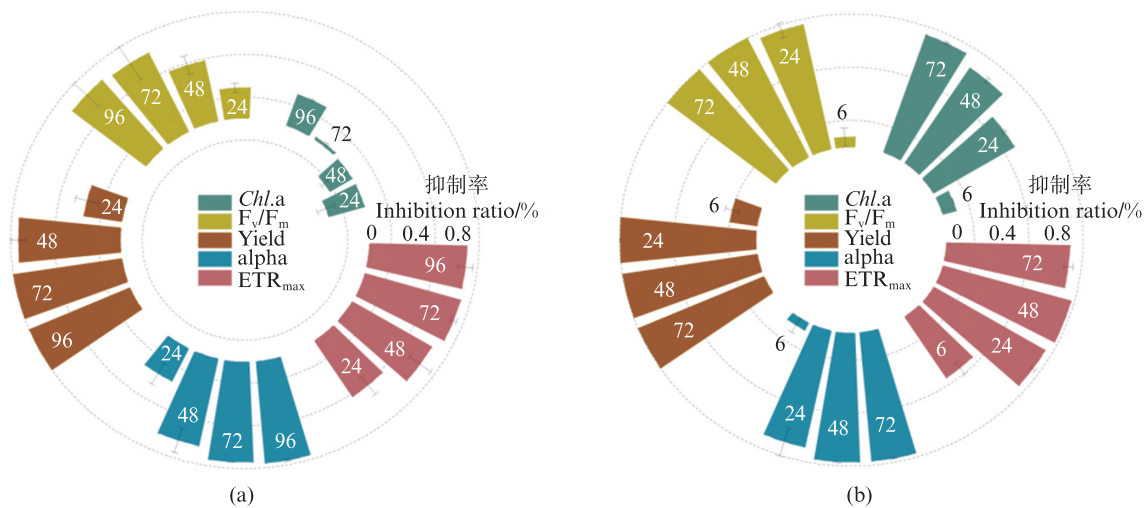
(0.036,0.045 mg/mL; $P<0.05$ ),培养24 h后,PC占比显著降低(Ctr:38.00%;L-DOPA:31.10%; $P<0.05$ ),APC及PE占比显著增加(Ctr:45.40%,16.60%;L-DOPA:47.30%,21.60%; $P<0.05$ )。

## 2.3 活性氧检测

实验结果发现(图5),L-DOPA组,在培养24,72 h时,藻细胞内ROS水平显著上升( $P<0.05$ );Har组,在培养48 h后,ROS水平显著上升( $P<0.05$ ),荧光显微镜图像显示,Har组中,48、96 h藻细胞绿色荧光明显高于Ctr组,藻丝出现部分断裂;L-DOPA组中,藻细胞明显断裂,且出现大量黑色沉淀(图5b)。

## 2.4 胞外聚合物(EPS)测定

实验结果发现(图6),Har组中,EPS总量在24、72 h显著增加(Ctr<sub>24h</sub>:0.036 mg/L,Har<sub>24h</sub>:0.052 mg/L;Ctr<sub>72h</sub>:0.035 mg/L,Har<sub>72h</sub>:0.060 mg/L),其中,蛋白质显著增加,多糖显著减少( $P<0.05$ ),L-DOPA组中,EPS总量在72 h显著增加(Ctr:0.035 mg/L,L-DOPA:0.066 mg/L),其中,蛋白质显著增加,多糖显著减少( $P<0.05$ )。

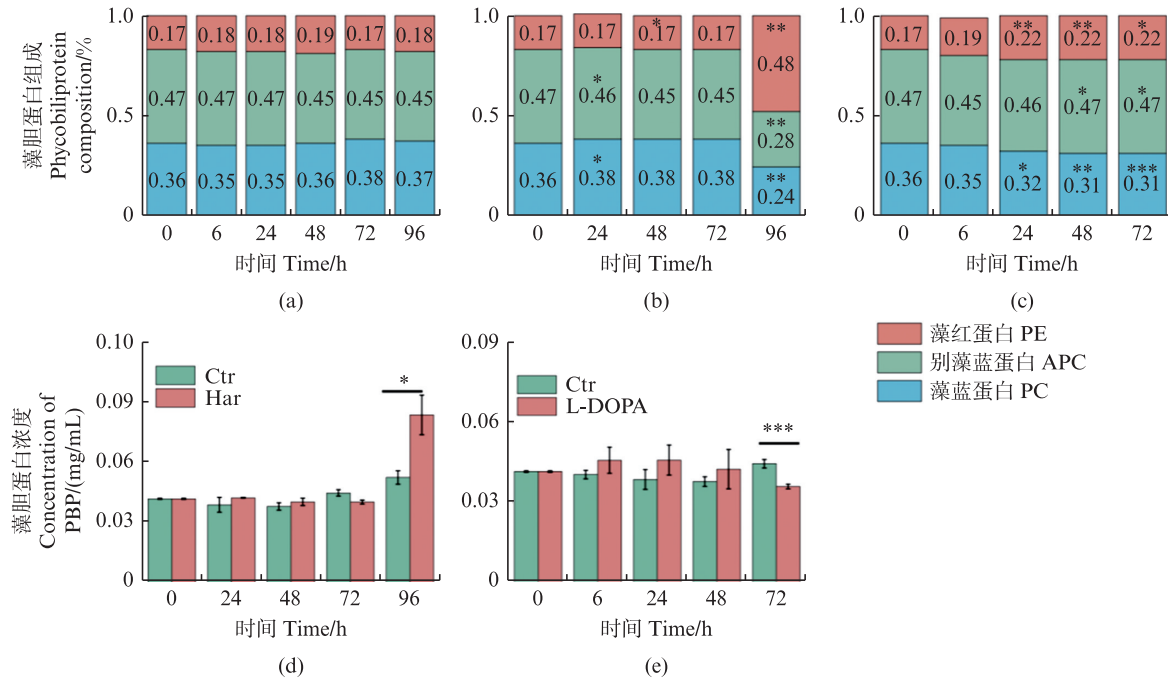


(a)Har组;(b)L-DOPA组; $F_v/F_m$ ·最大光化学量子产率;Yield·有效量子产率;*Chl.a*·叶绿素a; $\alpha$ ·最大光利用系数; $ETR_{max}$ ·最大电子传输速率。

(a) Har group; (b) L-DOPA group;  $F_v/F_m$ ·Maximum photochemical quantum yield; Yield·Effective quantum yield; *Chl.a*·Chlorophyll a; Alpha·Maximum light utilization efficiency;  $ETR_{max}$ ·Maximum electron transport rate.

图3 氨基酸类似物处理后拉氏尖头藻藻细胞光合系统抑制情况

Fig. 3 Inhibition of PSII in *R. raciborskii* after amino acid analog treatment

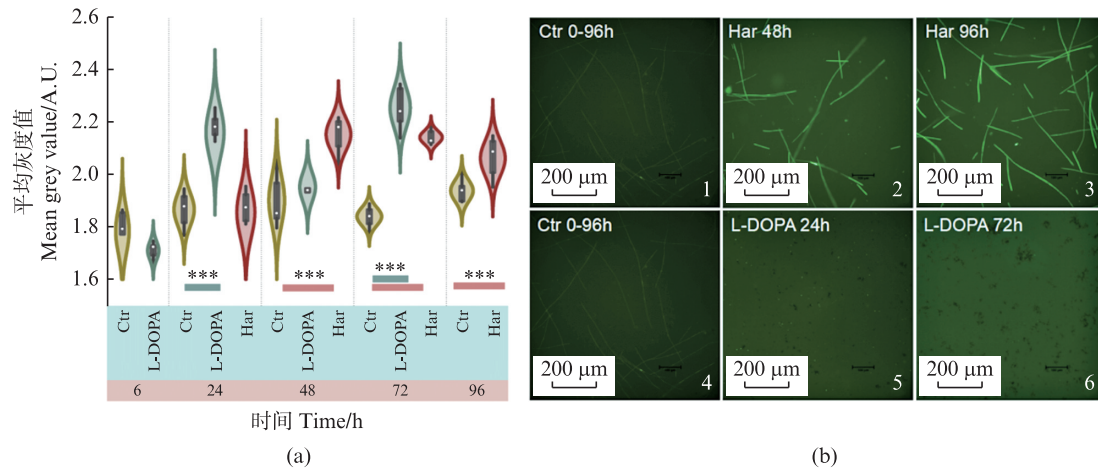


柱状图上方含“\*”代表实验组与 Ctr 相比,存在显著性差异 (“\*” $P<0.05$ , “\*\*” $P<0.01$ , “\*\*\*” $P<0.001$ ); (a), (b), (c). Ctr、Har、L-DOPA 组中藻胆蛋白组成; (d), (e). Har 及 L-DOPA 组中藻胆蛋白含量与 Ctr 的比较。

The “\*” above the histogram showed the significant difference compared to Ctr group (“\*” $P<0.05$ , “\*\*” $P<0.01$ , “\*\*\*” $P<0.001$ ); (a), (b), (c). Phycobiliprotein composition in Ctr, Har, and L-DOPA groups; (d), (e). Phycobiliprotein content in Har and L-DOPA groups compared to Ctr.

图 4 拉氏尖头藻藻细胞内藻胆蛋白组成及含量变化

Fig. 4 Changes in phycobiliprotein composition and concentration in *R. raciborskii*

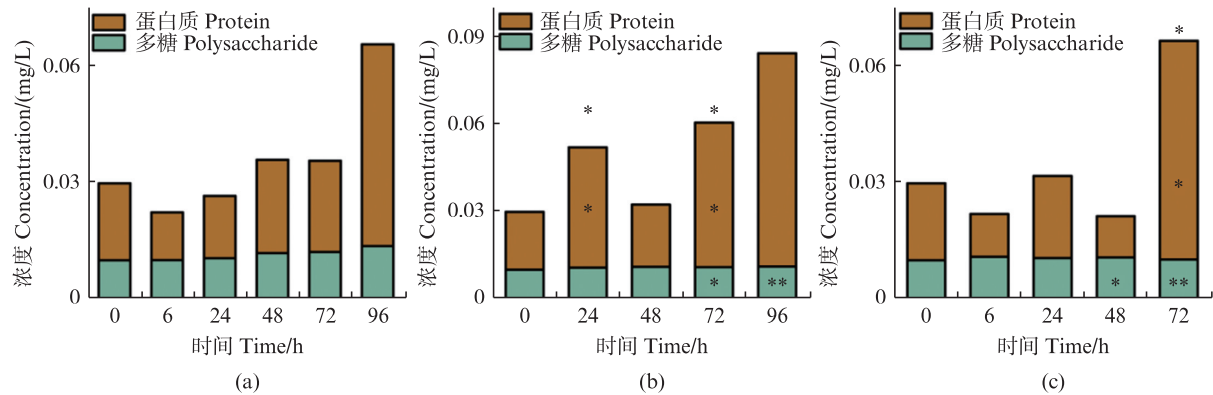


小提琴图下方含“\*”代表实验组与 Ctr 相比,存在显著性差异 (“\*” $P<0.05$ , “\*\*” $P<0.01$ , “\*\*\*” $P<0.001$ ); (a) 探针荧光强度; (b) 荧光显微镜图像; 1-3. Ctr 组及 Har 组 48, 96 h 图像; 4-6. Ctr 组及 L-DOPA 组 24, 72 h 图像。

The “\*” below the violin plots showed the significant difference compared to Ctr group (“\*” $P<0.05$ , “\*\*” $P<0.01$ , “\*\*\*” $P<0.001$ ); (a) Fluorescence intensity of ROS probes in each treatment group; (b) Fluorescence microscopy images; 1-3. Ctr group and Har group at 48 h and 96 h; 4-6. Ctr group and L-DOPA group at 24 h and 72 h.

图 5 活性氧在拉氏尖头藻藻细胞中的含量

Fig. 5 The reactive oxygen species (ROS) content in *R. raciborskii*



柱状图上方含“\*”代表实验组与 Ctr 相比存在显著性差异 (“\*” $P<0.05$ , “\*\*” $P<0.01$ , “\*\*\*” $P<0.001$ ); (a) Ctr 组; (b) Har 组; (c) L-DOPA 组。  
The “\*” above the histogram showed the significant difference compared to Ctr group (“\*” $P<0.05$ , “\*\*” $P<0.01$ , “\*\*\*” $P<0.001$ ); (a) Ctr group; (b) Har group; (c) L-DOPA group.

图 6 拉氏尖头藻胞外聚合物含量及组成变化

Fig. 6 Changes in EPS concentration and composition in *R. raciborskii*

### 3 讨论

本研究结果显示,两种氨基酸类似物均对入侵蓝藻拉氏尖头藻具有抑制作用,而 Har 与 L-DOPA 的抑藻活性与作用方式存在差异。Har 可诱导细胞内 ROS 积累,对拉氏尖头藻存在光合抑制作用,促进 EPS 分泌,活性相对较弱;L-DOPA 对拉氏尖头藻具有高效抑藻活性,通过诱导大量 ROS 积累,破坏藻细胞光合系统,导致藻丝断裂,细胞死亡。

#### 3.1 Har 抑藻活性

Har 处理后,ROS 在 48 h 后开始显著富集(图 5a),与 L-DOPA 处理组相比,富集程度较低。藻丝在 96 h 时出现比较明显的断裂(图 2a),PS II 在 48 h 后抑制率迅速上升,光反应中心受到严重破坏,电子传递链受阻(图 3a),Har 作为精氨酸类似物,与精氨酸的理化性质相似,在蓝藻细胞中,可作为一氧化氮合酶(NOS)底物,参与 NO 合成<sup>[18]</sup>,过量 NO 的产生,会破坏光合作用,影响碳固定同时触发程序性死亡<sup>[25-26]</sup>。与 L-DOPA 相比,Har 未对光合色素(*Chl.a*、PBP)造成损伤,在反应后期,PS II 受到强烈抑制,PBP 含量显著增加,其中,PE 占比显著增加(图 4b),前期研究指出,PE 中的  $\gamma$  亚基因具有能量解偶联的功能,在光反应中心受损失时,发生显著富集<sup>[27]</sup>。从 EPS 分泌情况可知,Har 处理组中,EPS 分泌显著增加(图 6),有研究指出,适度的氧化应激会促进 EPS 的分泌,从而保护细胞免受外界有毒物质侵害,

清除外源性 ROS<sup>[27]</sup>。在 EPS 中,蛋白质含量与 Ctr 组相比显著增加,然而 EPS 中蛋白质的增加会造成藻细胞的定殖与聚集。

#### 3.2 L-DOPA 抑藻活性

L-DOPA 处理后,ROS 在 24 h 后在拉氏尖头藻细胞内显著富集(图 5a),同时,藻丝发生明显断裂(图 2b),伴随光合系统受到严重损伤(图 3-4)。L-DOPA 易在细胞内氧化产生大量 ROS<sup>[20]</sup>,在光合生物中,ROS 的富集会引引起强烈的光抑制及 PS II 光合效率下降<sup>[28]</sup>, $F_v/F_m$ 、Yield、 $\alpha$  及  $ETR_{max}$  的显著性抑制证明了光反应系统中,光反应中心受到严重破坏,电子传递链受阻(图 3b),同时随着 L-DOPA 的浓度增加,*Chl.a* 的含量逐渐降低,意味着 L-DOPA 对 *Chl.a* 产生破坏作用(图 1)。藻胆蛋白的含量在反应前未发生明显变化,在 72 h 时显著性下降,意味着 L-DOPA 在早期未对捕光复合体产生破坏,而随着反应时间的增加,捕光复合体中,藻蓝蛋白占比降低,异藻蓝蛋白及藻红蛋白占比显著提升(图 4c)。研究证明,在压力条件下,微藻细胞内藻红蛋白发生富集,而藻红蛋白被证实具有抗氧化活性<sup>[29-30]</sup>,别藻蓝蛋白存在于藻胆体核心位置,在能量收集与传递至 PS II 过程中起到关键作用,同时也作为  $CO_2$  结合位点<sup>[31-32]</sup>,在本实验中占比增加,被认为是光抑制条件下的一种反馈调节。

综上,本研究验证了两种氨基酸类似物:高精氨酸(Har)及左旋多巴(L-DOPA)对入侵蓝藻拉氏尖头藻具有高效抑藻活性。两种氨基酸类



似物均诱导拉氏尖头藻细胞内 ROS 富集,同时对光合系统造成损伤,其中 L-DOPA 对光反应中心、电子传递链、光合色素造成破坏,引起藻丝断裂,造成藻细胞损伤;Har 导致了光反应中心、电子传递链损伤,捕光复合体合成增加,PE 占比增加,EPS 大量分泌。未来对于两种氨基酸类似物的抑杀藻的研究中,需要进一步确定藻细胞是否完全死亡;深入探究 Har 及 L-DOPA 具体作用机制;两种氨基酸类似物对于拉氏尖头藻细胞中藻毒素的影响;对两种物质安全性及稳定性进行检验,及在野外水体中是否仍存在高效抑杀藻活性<sup>[13]</sup>。

作者声明本文无利益冲突。

#### 参考文献:

- [1] ANTUNES J T, LEÃO P N, VASCONCELOS V M. *Cylindrospermopsis raciborskii*: review of the distribution, phylogeography, and ecophysiology of a global invasive species [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 473.
- [2] XIAO L J, XIE J, TAN L, et al. Iron enrichment from hypoxic hypolimnion supports the blooming of *Raphidiopsis raciborskii* in a tropical reservoir [J]. *Water Research*, 2022, 219: 118562.
- [3] BURFORD M A, BEARDALL J, WILLIS A, et al. Understanding the winning strategies used by the bloom-forming cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* [J]. *Harmful Algae*, 2016, 54: 44-53.
- [4] BAKHEET B, ISLAM M A, BEARDALL J, et al. Electrochemical inactivation of *Cylindrospermopsis raciborskii* and removal of the cyanotoxin cylindrospermopsin [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2018, 344: 241-248.
- [5] CHENG X L, SHI H L, ADAMS C D, et al. Effects of oxidative and physical treatments on inactivation of *Cylindrospermopsis raciborskii* and removal of cylindrospermopsin [J]. *Water Science & Technology*, 2009, 60(3): 689-697.
- [6] LEI L M, LAI S Y, LIU W, et al. *Chlorella pyrenoidosa* mitigated the negative effect of cylindrospermopsin-producing and non-cylindrospermopsin-producing *Raphidiopsis raciborskii* on *Daphnia magna* as a dietary supplement [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1292277.
- [7] LALOUM E, CATTAN-TSAUSHU E, SCHWARTZ D A, et al. Isolation and characterization of a novel Lambda-like phage infecting the bloom-forming cyanobacteria *Cylindrospermopsis raciborskii* [J]. *Environmental Microbiology*, 2022, 24(5): 2435-2448.
- [8] LI B H, YIN Y J, KANG L F, et al. A review: Application of allelochemicals in water ecological restoration——algal inhibition [J]. *Chemosphere*, 2021, 267: 128869.
- [9] 郭钟惠, 李洁明, 张明霞. 不同类型化感物质抑制蓝藻效益比较及联合抑藻效应评述 [J]. *水生生物学报*, 2023, 47(1): 177-194.
- GUO Z H, LI J M, ZHANG M X. A review on antialgal effectiveness among distinct allelochemicals and joint inhibitory effects on cyanobacterial growth [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2023, 47(1): 177-194.
- [10] KONG Y, WANG Y, MIAO L H, et al. Recent advances in the research on the anticyanobacterial effects and biodegradation mechanisms of *Microcystis aeruginosa* with microorganisms [J]. *Microorganisms*, 2022, 10(6): 1136.
- [11] LIN S Q, GENG M X, LIU X L, et al. On the control of *Microcystis aeruginosa* and *Synechococcus* species using an algicidal bacterium, *Stenotrophomonas* F6, and its algicidal compounds cyclo-(Gly-Pro) and hydroquinone [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2016, 28(1): 345-355.
- [12] KODANI S, IMOTO A, MITSUTANI A, et al. Isolation and identification of the antialgal compound, harmaline (1-methyl-β-carboline), produced by the algicidal bacterium, *Pseudomonas* sp. K44-1 [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2002, 14(2): 109-114.
- [13] ZHANG B H, CHEN W, LI H Q, et al. L-valine, an antialgal amino acid from *Streptomyces jiujiangensis* JXJ 0074<sup>T</sup> [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016, 100(10): 4627-4636.
- [14] XU B, MIAO L H, YU J, et al. Isolation and identification of amino acids secreted by *Bacillus amyloliquefaciens* T1 with anti-cyanobacterial effect against cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* [J]. *Desalination and Water Treatment*, 2021, 231: 329-339.
- [15] 曹稳根, 李卫华, 叶子坚. 非蛋白氨基酸的生物合成及其生物学作用 [J]. *氨基酸和生物资源*, 1995, 17(2): 47-49.
- CAO W G, LI W H, YE Z J. An approach to determination of salt content in amino acid mother liquor [J]. *Amino Acids & Biotic Resources*, 1995, 17(2): 47-49.
- [16] RODGERS K J. Non-protein amino acids and neurodegeneration: The enemy within [J]. *Experimental Neurology*, 2014, 253: 192-196.
- [17] VOGL L, POHLHAMMER J, MEINITZER A, et al. Serum concentrations of L-arginine and L-homoarginine in male patients with intermittent claudication: A cross-



- sectional and prospective investigation in the CAVASIC Study[J]. *Atherosclerosis*, 2015, 239(2): 607-614.
- [18] 车东升, 李慧鹃, 赵宝. 高精氨酸代谢机制研究进展[J]. *吉林农业大学学报*, 2020, 42(5): 477-485.
- CHE D S, LI H J, ZHAO B. Progress in the study of metabolic mechanism of homoarginine [J]. *Journal of Jilin Agricultural University*, 2020; 42(5), 477-485.
- [19] 许凯, 毕晶晶, 张继昊. 天然非蛋白氨基酸的生物活性机制研究进展[J]. *食品科学*, 2019, 40(21): 251-259.
- XU K, BI J J, ZHANG J H. Bioactivity and mechanism of action of natural non-protein amino acids: A review of recent literature[J]. *Food Science*, 2019; 40(21): 251-259.
- [20] SOARES A R, MARCHIOSI R, DE CÁSSIA SIQUEIRA-SOARES R, et al. The role of L-DOPA in plants [J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2014, 9 (4) : e28275.
- [21] 陈敏, 殷高方, 赵南京, 等. 水质生物毒性测量中藻类光合荧光参数与初始生物量的关系[J]. *光子学报*, 2022, 51(5): 0517001.
- CHEN M, YIN G F, ZHAO N J, et al. Relationship between photosynthetic fluorescence parameters of algae and the initial biomass in the measurement of water quality biological toxicity [J]. *Acta Photonica Sinica*, 2022, 51(5): 0517001.
- [22] 李湘河, 徐静雯, 赵勇. 钝顶螺旋藻中C-藻蓝蛋白的提取及性质[J]. *上海海洋大学学报*, 2025, 34(3): 651-663.
- LI X H, XU J W, ZHAO Y. Extraction and characterization of C-phycoyanin from *Spirulina platensis* [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2025, 34 (3): 651-663.
- [23] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 1113-2002 进出口螺旋藻粉中藻蓝蛋白、叶绿素含量的测定方法[S]. 2002.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People. SN/T 1113-2002 Determination of phycocyanin and chlorophylls in spirulina powder for import and export[S]. 2002.
- [24] CHOI Y H, HONG C K, PARK G Y, et al. A nondestructive approach for discrimination of the origin of sesame seeds using ED-XRF and NIR spectrometry with chemometrics [J]. *Food Science and Biotechnology*, 2016, 25(2): 433-438.
- [25] GUPTA N, SRIVASTAVA A, MISHRA A K. Nitric oxide synthases in cyanobacteria: Diversity, cellular implications and ecological pertinence [J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2025, 44(2): 508-528.
- [26] 臧帆, 秦松, 马丞博, 等. 藻类特有的捕光色素蛋白——藻红蛋白的结构、功能及应用[J]. *科学通报*, 2020, 65(7): 565-576.
- ZANG F, QIN S, MA C B, et al. Structure, function and applications of phycoerythrin: A unique light harvesting protein in algae[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2020, 65(7): 565-576.
- [27] YU B Z, YAN W, MENG Y J, et al. A noteworthy response process of *Microcystis aeruginosa* induced by exogenous reactive oxygen species in algae-laden water treatment[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2023, 476: 146471.
- [28] ALMEIDA A C, GOMES T, LANGFORD K, et al. Oxidative stress in the algae *Chlamydomonas reinhardtii* exposed to biocides[J]. *Aquatic Toxicology*, 2017, 189: 50-59.
- [29] SOSA-HERNÁNDEZ J E, RODAS-ZULUAGA L I, CASTILLO-ZACARÍAS C, et al. Light intensity and nitrogen concentration impact on the biomass and phycoerythrin production by *porphyridium purpureum* [J]. *Marine Drugs*, 2019, 17(8): 460.
- [30] PATEL S N, SONANI R R, GUPTA G D, et al. Crystal structure analysis of phycoerythrin from marine cyanobacterium *Halomicronema* [J]. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 2023, 41 (9) : 3752-3761.
- [31] 徐晓婷, 臧晓南, 章峰, 等. 别藻蓝蛋白 $\beta$ 亚基基因在莱茵衣藻中重组表达及其对光能传递的影响研究[J]. *中国海洋大学学报(自然科学版)*, 2023, 53(9): 77-88.
- XU X T, ZANG X N, ZHANG F, et al. Recombinant expression of the  $\beta$ -subunit of allophycocyanin in *chlamydomonas reinhardtii* and its effect on light energy transfer [J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2023, 53(9): 77-88.
- [32] GUILLÉN-GARCÍA A, GIBSON S E R, JORDAN C J C, et al. Allophycocyanin A is a carbon dioxide receptor in the cyanobacterial phycobilisome [J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 5289.

## Algicidal effects of two amino acid analogs on the *Raphidiopsis raciborskii*

LIU Tong, LIU Huimin, YIN Sicheng, ZHANG Wei

(Engineering Research Center of Environmental DNA and Ecological Water Health Assessment, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** Global warming has facilitated the expansion of the invasive cyanobacterium *Raphidiopsis raciborskii* to higher latitudes, while current studies on bloom control methods for this species remains limited. This study evaluated the algicidal effects of two amino acid analogs, L-3, 4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) and homoarginine (Har), on *R. raciborskii* and investigated their physiological impacts. Results showed that both compounds significantly induced reactive oxygen species (ROS) accumulation, with L-DOPA exhibiting stronger ROS stimulation than Har. Both analogs damaged the photosynthetic system: L-DOPA impaired the photosystem reaction centers, electron transport chain, and chlorophyll a (*Chl.a*), while significantly reducing phycobiliprotein (PBP) content but increasing the proportions of allophycocyanin (APC) and phycoerythrin (PE). L-DOPA treatment caused severe filament fragmentation (average length reduced to 9.70% of the control) and extensive cellular damage. In contrast, Har damaged the photosystem reaction centers and electron transport chain but promoted PBP synthesis and PE proportion, resulting in moderate filament breakage (22.33% of the control) and significant extracellular polymeric substance (EPS) secretion. This study demonstrates that both Har and L-DOPA effectively inhibit *R. raciborskii*, with L-DOPA exhibiting stronger algicidal activity, indicating that the two amino acid analogs exhibit distinct algicidal mechanisms. Our findings provide fundamental data for developing novel cyanobacterial bloom control technologies.

**Key words:** L-DOPA; homoarginine; invasive cyanobacteria; photosynthetic system; extracellular polymeric substances; reactive oxygen species