

DOI: 10.3969/j.issn.2095-9869.20251114005

http://www.yykxjz.cn/

于欢, 刘林, 徐燕, 纪德华, 王文磊, 谢潮添. 基于转录组和代谢组探究 *PhDGK1* 调控坛紫菜丝状体成熟的分子机制. 渔业科学进展, 2026, 47(2): 35–48

YU H, LIU L, XU Y, JI D H, WANG W L, XIE C T. Exploring the molecular mechanisms of *PhDGK1* in the maturation of *Pyropia haitanensis* conchocelis using transcriptomic and metabolomic approaches. Progress in Fishery Sciences, 2026, 47(2): 35–48

基于转录组和代谢组探究 *PhDGK1* 调控坛紫菜丝状体成熟的分子机制*

于欢^{1,2,3} 刘林^{1,2,3} 徐燕^{1,2,3} 纪德华^{1,2,3} 王文磊^{1,2,3} 谢潮添^{1,2,3①}

(1. 集美大学水产学院 福建 厦门 361021; 2. 海水养殖育种国家重点实验室 福建 宁德 352103;
3. 农业农村部东海健康养殖重点实验室 福建 厦门 361021)

摘要 随着坛紫菜(*Pyropia haitanensis*)栽培面积不断扩大,对良种的需求愈发迫切。然而,已有坛紫菜新品种均出现“良种难育”的问题,其根源在于生产上用于育苗的自由丝状体发育同步成熟度差,难以集中获得大量壳孢子,严重限制了坛紫菜良种的规模化推广。已有研究表明,二酰甘油激酶基因(*PhDGK1*)是调控坛紫菜自由丝状体成熟的关键基因之一。因此,本研究进一步探究了 *PhDGK1* 调控坛紫菜丝状体成熟的分子机制。结果显示,在丝状体促熟过程中添加 DGK 抑制剂(R59022)处理 16 d 时,对照组和处理组的成熟度开始出现差异,处理 26 d 时的成熟度出现显著差异。对这两个时间点的自由丝状体进行广泛靶向代谢组分析发现,DGK 的活性变化与磷脂酸(PA)和二酰基甘油(DG)代谢水平相关,并伴随溶血磷脂酰胆碱(LPC)和溶血磷脂酰乙醇胺(LPE)的合成,从而影响脂质代谢;同时,以乙酰辅酶 A 为中心,脂质代谢又通过影响氨基酸代谢、生物碱的生物合成、类黄酮代谢和核苷酸及其衍生物的代谢,帮助丝状体适应促熟环境。进一步通过转录组与代谢组关联分析发现,*PhDGK1* 可通过维持 DG/PA 脂质信号平衡,调控核膜和细胞膜的稳定、转录因子的正常表达、能量和物质供应、氧化还原平衡等过程,从而促进丝状体发育成熟。研究结果为阐明紫菜丝状体成熟机制提供了科学依据。

关键词 坛紫菜; 丝状体; 二酰甘油激酶; 脂质代谢; 转录组; 代谢组

中图分类号 S917 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2026)02-0035-14

紫菜(*Pyropia/Porphyra*)是我国重要的经济海藻之一,2024 年,我国紫菜栽培面积约为 6.39×10^4 hm²,年产量约为 20.89 万 t(干重)。其中,坛紫菜(*Pyropia haitanensis*)的年产量(干重)约占全国紫菜总产量的 75%(农业农村部渔业渔政管理局等,2025)。近年来,随着坛紫菜养殖技术的成熟和效益的提升、栽培面积的不断扩大大,对于良种的需求愈发迫切。

坛紫菜生活史分为孢子体世代的丝状体和配子体世代的叶状体(何培民等,2018),坛紫菜栽培也分成室内育苗与海上栽培两个阶段。室内人工育苗的目的是产生紫菜下海栽培的“种子”——壳孢子,因此,获得成熟的孢子囊枝进而集中采集壳孢子关系到后期叶状体栽培的产量和质量。紫菜丝状体根据果孢子是否钻入贝壳等生长基质可以分为自由丝状体和贝

* 国家自然科学基金(32473157)、福建省自然科学基金杰出青年基金(2022J06024)、福建省区域发展科技项目(2023N3002)和现代农业产业技术体系 MOF 和 MARA (CARS-50)共同资助。于欢, Email: YHuan1128@163.com

① 通信作者: 谢潮添, 教授, Email: ctxie@jmu.edu.cn

收稿日期: 2025-11-14, 收修改稿日期: 2025-12-25

壳丝状体。目前,紫菜规模化育苗的主要方式为贝壳丝状体育苗,通过使贝壳丝状体发育成熟并形成孢子囊枝后进行壳孢子采苗,然而这种采苗方式受到季节限制,且育苗周期长,费用高,种质混杂。自由丝状体育苗可以进行无基质育苗,摆脱贝壳、场地等限制,同时具有纯系培育、杂藻污染少等优点。因此,理论上可以用自由丝状体替代贝壳丝状体进行育苗,以提升育苗效率,降低生产成本。但该方法难以大规模实施,主要原因是自由丝状体发育不同步、成熟度差异大、壳孢子放散不集中导致的壳孢子产量低。同时,已有 5 个坛紫菜新品种均为纯系,在推广时均采用将自由丝状体移植到贝壳的方式进行培育,同样存在丝状体同步成熟度差、壳孢子放散量低的问题,即自由丝状体“良种难育”的问题(Lin *et al.*, 2021; 谢潮添, 2022)。因此,解决“良种难育”问题的关键在于实现对自由丝状体移植贝壳(采苗)后发育过程的调控,特别是孢子囊枝的形成与壳孢子放散过程的精准调控,系统阐明其发育规律和调控机制,可以为实现良种丝状体发育的精准调控提供理论基础。

目前,对于紫菜丝状体成熟机制的研究主要集中在环境因子(如温度、光周期、光质、营养盐等)对其丝状体发育的影响(López-Vivas *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2020; 魏家慧等, 2020; 段昱琪等, 2025),以及丝状体成熟过程中的能量与物质代谢、信号分子与激素诱导、脂质代谢与膜系统信号转导等调控机制(Lin *et al.*, 2021; Liu *et al.*, 2025; Niu *et al.*, 2024)。代谢组学数据显示,磷脂酰胆碱(PC)和溶血磷脂酰胆碱(LPC)在孢子囊枝时期发挥保护光合膜和促进细胞间通讯的双重作用(Wang *et al.*, 2015)。本团队前期通过转录组学分析(Lin *et al.*, 2021)和分子生物学实验(陶思怡等, 2025)筛选到了调控坛紫菜自由丝状体成熟的关键基因——编码二酰甘油激酶的基因(*PhDGK1*)。DGK 是植物营养和生殖生长中磷脂代谢过程所必需的,其催化二酰基甘油(diacylglycerol, DG)磷酸化为磷脂酸(phosphatidic acid, PA) (Foka *et al.*, 2020),在脂质信号转导中发挥关键作用。脂质代谢不仅是物质基础,更构成了核心的信号转导系统。具体而言,*PhDGK1* 等关键基因介导的 PI 信号系统与脂质代谢形成级联反应,促进了 PA 的合成。这一过程不仅可以提升磷代谢和脂代谢水平、增强光合与碳固定能力,还为孢子囊枝的稳定形成提供了能量,并维持了细胞膜的稳定性。然而,目前仍不清楚 *PhDGK1* 作为关键基因在整个代谢网络发挥怎样的调控作用。

综上,本研究利用 DGK 抑制剂(R59022)抑制 DGK 活性后,通过代谢组、转录组及其关联分析,

挖掘该基因调控的潜在过程,阐明 *PhDGK1* 调控坛紫菜自由丝状体成熟的分子网络,为系统解析坛紫菜丝状体成熟的分子机制奠定理论基础。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料及处理

实验材料取自福建省坛紫菜种质资源库,所选丝状体材料为双单倍体杂交群体的纯化后代的坛紫菜品系 WO84-1。通过前期的促熟实验发现,该品系成熟周期约为 35 d。

1.1.1 坛紫菜丝状体丝状藻丝阶段的培养条件

水温(21.0±0.5)℃;光照强度 50~60 μmol/(m²·s);光周期(光照/黑暗)为 12 h/12 h,每 7 d 更换一次已消毒的 21℃丝状体培养液。

1.1.2 坛紫菜丝状体促熟步骤 称取 0.1 g 鲜重健康的丝状藻丝,加至 250 mL 规格的广口瓶中,倒入 200 mL 培养液,摇匀丝状体;分组贴好标签,向处理组的培养液中加入 20 μL 的溶于二甲基亚砜(DMSO)中浓度为 1 mmol/L 的 R59022,使培养液中抑制剂终浓度为 1 μmol/L,对照组的培养液中加入 20 μL 的 DMSO;放入恒温光照培养箱中进行促熟培养。促熟条件:水温为(28.0±0.5)℃;光照强度为 20~30 μmol/(m²·s);光周期(光照/黑暗)为 9 h/15 h,每天更换广口瓶在培养箱中的位置并摇晃瓶身 2 次,每 7 d 更换一次加有 R59022 或 DMSO 试剂的丝状体培养液。

1.1.3 坛紫菜丝状体成熟度的观察 从处理组和对照组的广口瓶中各随机吸取一些丝状体藻体,置于载玻片上用解剖针将藻体分散开,用显微镜观察成熟情况。显微放大倍数为 400 倍,统计每个视野下孢子囊枝与丝状藻丝的数目并拍照。每个广口瓶中观察 10 个藻球,每个藻球观察 10 个视野。在促熟 14 d 前每 7 d 观察一次(即在促熟第 7 天和促熟第 14 天)藻落的成熟度情况,在促熟 14 d 后每天观察一次藻落的成熟度情况;以确定对照组与处理组成熟度出现差异的关键时间点。

孢子囊枝成熟度的计算公式:

$$\text{成熟度} = (\text{孢子囊枝数} / \text{总藻丝数}) \times 100\%$$

1.2 广泛靶向代谢组学测定及数据处理

分别收集促熟第 0 天、第 16 天、第 26 天对照组和处理组的丝状体样品,每个样品 0.8 g 左右,每个实验组 3 个生物学重复,冻存于-80℃超低温冰箱。代谢物广泛靶向代谢组学测定由武汉迈维代谢生物

科技股份有限公司进行。原始数据经去噪平滑、基线校正等 LC/MS 分析信息提取, 以及原始数据缺失值过滤和填充、数据归一化、数据转换等数据预处理, 最终得到用于后续分析的数据矩阵。预处理后的数据在迈维云平台(<https://cloud.metware.cn/>)进行分析。

1.3 样品总 RNA 提取及转录组测序

转录组的实验材料培养及处理与广靶代谢组的实验材料一致, 每个实验组 3 个生物学重复。

1.3.1 坛紫菜丝状体 Total RNA 的提取和 cDNA 合成

在液氮中将丝状体研磨成粉末, 使用植物 RNA 提取试剂盒(Omega, 美国)提取丝状体中的总 RNA。使用多功能酶标仪检测提取的 RNA 样品的 OD₂₆₀ 和 OD₂₈₀ 值, 确保 RNA 样品的 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 值在 2.0~2.2, 判断其纯度, 计算 RNA 的浓度。使用 1.2% 琼脂糖凝胶(135 V, 35 min)检测总 RNA 的完整度。将检测合格的 RNA 使用 Evo M-MLV RT Mix Kit (艾科瑞, 中国)逆转录为 cDNA, 用于后续的实验。

1.3.2 RNA-Seq 测序文库的制备及高通量测序

提取样品总 RNA 后, RNA 片段的测序、转录组数据拼接组装与分析等工作由武汉迈维生物科技股份有限公司提供技术服务。

对测序获得的大量原始序列数据进行统计及相关质量评估, 包括碱基含量、质量、错误率分布统计。使用 fastp 软件(<https://github.com/OpenGene/fastp>)过滤原始数据, 获得高质量的测序数据并再次进行统计及质量评估。将质控后的原始数据与坛紫菜参考基因组比对, 同时对该次转录组测序的比对结果进行质量评估, 主要包括测序饱和度、基因覆盖度、Reads 在参考基因组不同区域分布以及 Reads 在不同染色体的分布分析(使用软件: HiSat2, <http://ccb.jhu.edu/software/hisat2/index.shtml>)。

1.3.3 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 验证 按照 SYBR Green Pro Taq HS 预混型 qPCR (艾科瑞, 中国) 试剂盒使用说明, 对转录组数据中随机挑选出来的基因作为目的基因进行 Real-time PCR。本实验以促熟第 0 天的丝状体的样本作为对照, 坛紫菜泛素结合酶 (ubiquitin-conjugating enzyme, UBC) 为内参基因, 以相对定量的形式呈现最终数据。

1.3.4 差异表达基因筛选和 KEGG 富集分析 使用 DESeq2 软件进行样品组间的差异表达分析, 获得两个生物学条件之间的差异表达基因, 再采用 Benjamini-Hochberg 方法对假设检验概率 (*P* 值) 进行多重假设检验校正, 得到 FDR 值 (false discovery rate)。差异基因的筛选条件为 $|\log_2 FC| \geq 1.0$ 且 $FDR < 0.05$ 。基

于超几何检验对差异基因进行 KEGG 富集分析。

1.3.5 加权基因共表达网络(WGCNA)分析 采用 WGCNA (weighted gene co-expression network analysis) 算法构建基因共表达网络。该算法基于基因表达数据, 并假定基因网络服从无尺度分布。首先, 根据基因表达量的四分位距 (IQR) 进行基因过滤 (cutoff=0.1, 即过滤掉 10% 的基因), 以提升后续分析的可靠性。随后, 使用 R 语言 (v4.2.2) 及 WGCNA 包 (v1.71) 中的 PickSoftThreshold 函数计算软阈值 power (powerEstimate: 18), 并据此构建加权共表达网络。接下来, 通过计算不同节点间的相异系数, 进行层级聚类分析, 生成分层聚类树。根据设定的标准 (minModuleSize: 50; mergeCutHeight: 0.25) 对聚类树进行聚类和划分, 最终获得不同的基因模块, 在聚类树中以不同分支和颜色表示。随后筛选出 red 模块中 weight>0.25 的基因互作节点, 利用 Cytoscape 软件绘制基因互作网络图。

1.4 转录组与代谢组关联分析

1.4.1 O2PLS 模型分析 对广靶代谢组与转录组数据进行双向正交偏最小二乘法 (Two-way Orthogonal Partial Least Squares, O2PLS) 分析。基于全部差异表达基因和差异代谢物, 利用 OmicsPLS 包开展 O2PLS 跨组学关联分析, 并通过单组学及跨组学载荷图识别关键代谢物和关键基因。分析流程包括对基因表达矩阵与代谢物丰度矩阵进行标准化以消除数据量级差异, 通过多组参数组合的交叉验证确定最优成分数, 随后选择预测误差最小的参数构建最优 O2PLS 模型, 并输出各成分对变异的解释贡献度 (R^2)。最终生成的载荷图用于评估不同变量在跨组学关联中的贡献, 其载荷绝对值越大, 表明其与另一组学的关联越强。

1.4.2 共表达网络分析 本研究采用 Cytoscape 软件执行分析过程, 利用基因和代谢物在所有样本中的定量值进行相关性分析, 相关性方法是使用 R 中的 cor 函数计算基因和代谢物的皮尔逊相关性系数, 基于皮尔逊相关性系数绝对值 >0.8 且排名前 1000 的差异基因和代谢物绘制网络图, 筛选去除未注释的差异基因, 进一步绘制共表达网络图。

2 结果与分析

2.1 处理组与对照组丝状体成熟度出现差异的关键时间点确定

在外源添加抑制剂处理的条件下, WO84-1 丝状体对照组与处理组在促熟第 16 天开始出现成熟度差异, 对照组的成熟度为 20%~30%, 处理组的成熟

度低于10%；在促熟第26天时成熟度出现明显差异，对照组的成熟度为70%~80%，处理组的成熟度为30%~40% (图1)。因此，分别在促熟前、促熟第16天和第26天时收集对照组和处理组的丝状体样品，用于后续广泛靶向代谢组学测定以及转录组测序。

2.2 代谢组重复性分析

利用PCA分析和计算皮尔逊相关系数，检测样本之间的重复性情况。PCA结果显示，各组内样品间聚类较好(附图1A)，同一处理组内每两个样品间的皮尔逊相关系数较高(附图1B)，表明代谢组样品的重复性较好。

2.3 处理组与对照组的差异代谢物分析

在坛紫菜丝状体促熟过程中添加DGK抑制剂处理下，存在多种差异代谢物。本研究以Fold Change (FC) ≥ 2 , FC ≤ 0.5 和VIP > 1 为标准，共筛选到1134个差异代谢物(图2A)。与促熟第16天的对照组相比，添加抑制剂的处理组中有86个代谢物上调，231个代谢物下调；与促熟第26天的对照组相比，处理组有196个代谢物上调，211个代谢物下调(图2A)。进一步分析显示，有154个代谢物的含量在这两个时间点均存在差异，整体上，这些代谢物的含量主要呈下降趋势(图2B、图2C)。对这154个代谢物的KEGG富集分析表明，这些代谢物主要富集在多种植物次生代谢物的生物合成、泛酸和辅酶A生物合成、硫代

葡萄糖苷生物合成、酪氨酸代谢、胞吐作用、次生代谢物的生物合成、玉米素生物合成、类黄酮生物合成、钴胺素转运与代谢等代谢通路(图2D)。

2.4 关键差异代谢物分析

对促熟16d和促熟26d的差异代谢物进行分类(附表1)，其中，差异代谢物数目较多的类别主要为氨基酸及其衍生物、脂质、黄酮、生物碱、萜类、核苷酸及其衍生物。促熟第26天的对照组与处理组的差异代谢物最多的类别是脂质，对这些差异脂质代谢物进行分类比较，主要分为甘油酯、鞘脂、溶血磷脂酰胆碱(LPC)、溶血磷脂酰乙醇胺(LPE)、游离脂肪酸。

添加抑制剂的处理组在促熟26d时与对照组相比(图3)，LPC和LPE的含量整体呈增加的趋势；促熟16d和26d时处理组的鞘脂含量均低于对照组；在促熟26d时，处理组的游离脂肪酸比对照组高。上述结果说明，在DGK抑制剂处理下，促熟26d的丝状体内会积累更多的LPC、LPE和游离脂肪酸。本研究还发现，氨基酸及其衍生物是处理组和对照组之间差异最多的代谢物(附表1)。在两个时间点含量都有差异的氨基酸及其衍生物有29个(附图2)。在这些共同差异代谢物中，与对照组相比，处理组在两个时间点下氨基酸及其衍生物含量上升的数目均少于下降的数目。值得注意的是，含量上升的几种氨基酸及其衍生物大部分是二肽和三肽。总体上，DGK抑制剂处理会导致丝状体内的氨基酸及其衍生物含量

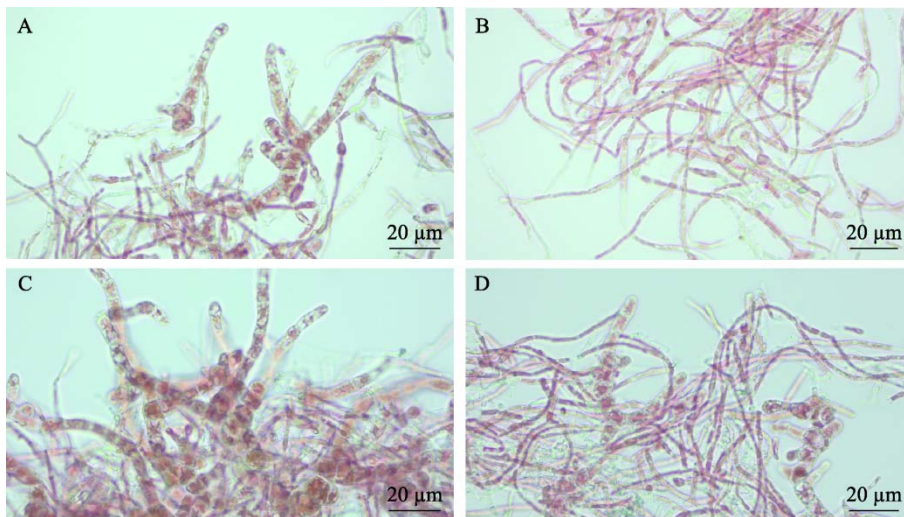


图1 对照组与处理组在促熟16d和26d丝状体成熟度的显微观察

Fig.1 Microscopic observation of conchocelis maturation in the control and treatment groups after 16 and 26 days of ripening induction

A: 对照组促熟16d; B: 处理组促熟16d; C: 对照组促熟26d; D: 处理组促熟26d。

A: Control group, 16 days of ripening; B: Treatment group, 16 days of ripening;

C: Control group, 26 days of ripening; D: Treatment group, 26 days of ripening.

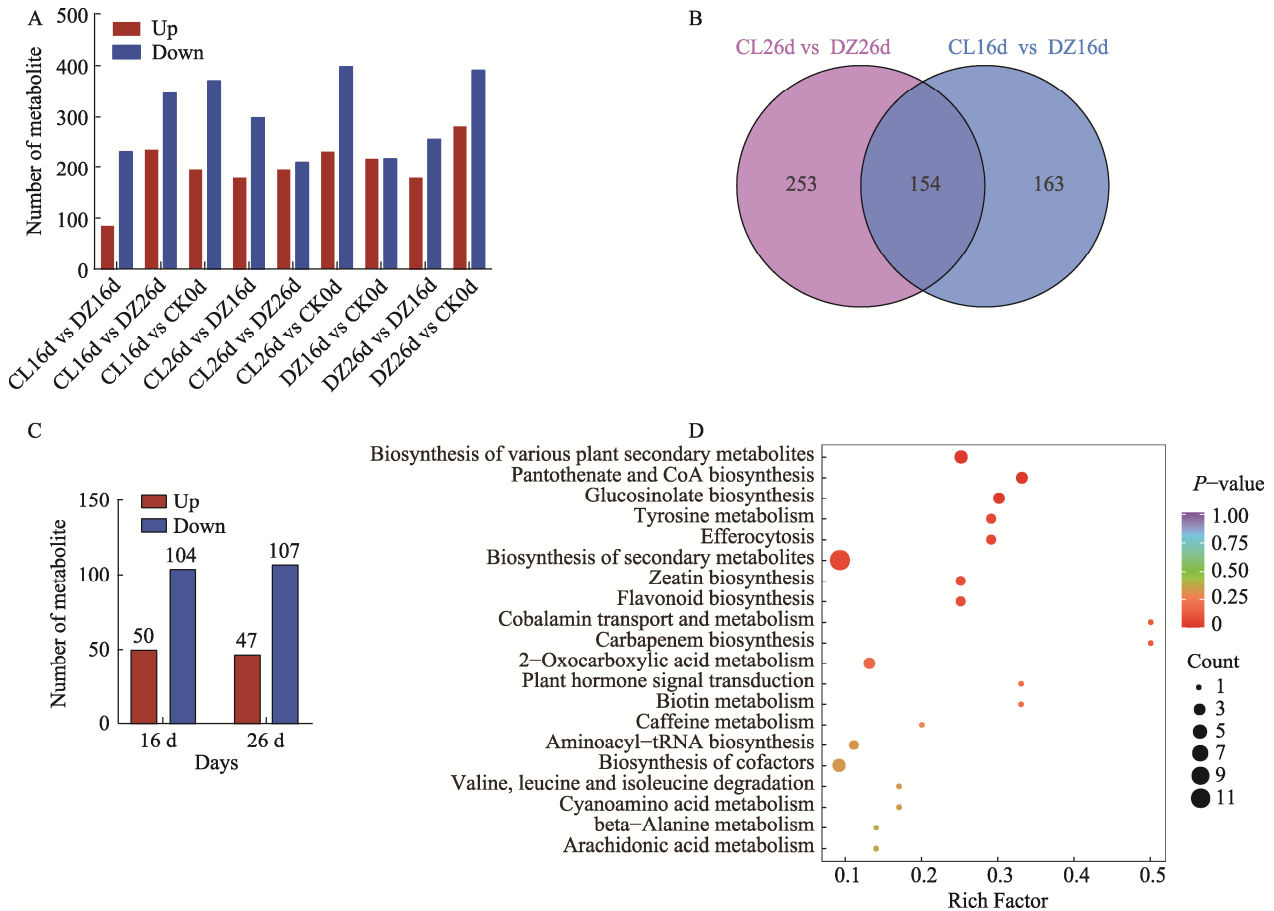


图 2 差异代谢物统计分析
Fig.2 Statistical analysis of differential metabolites

A: 各组间的差异代谢物统计分析; B: 促熟 16 d 和 26 d 差异表达代谢物维恩图统计; C: 促熟 16 d 和 26 d 对照组与处理组共有的差异代谢物统计; D: 促熟 16 d 和 26 d 时对照组和处理组共同的差异表达代谢物 KEGG 富集结果。

CL: 处理组; DZ: 对照组; CK0d: 坛紫菜丝状藻丝阶段, 促熟第 0 天。

A: Statistical analysis of differential metabolites between groups; B: Venn diagram statistics of differentially expressed metabolites at 16 and 26 days of ripening induction; C: Statistics of the differential metabolites shared between the control and treatment groups at 16 and 26 days of ripening induction; D: KEGG enrichment results of common differentially expressed metabolites between the control and treatment groups at 16 days and 26 days of ripening.

CL: Treatment group; DZ: Control group; CK0d: *P. haitanensis* conchocelis stage at day 0 of ripening induction.

降低。其他关键差异代谢物, 除萜类外(附图 3), 大多数生物碱(附图 2)、黄酮(附图 3)、核苷酸及其衍生物(附图 3)类代谢物在处理组中的含量在两个时间点均呈下降趋势。

2.5 转录组实验重复性分析及 qRT-PCR 验证

PCA 结果显示各组内样品间聚类较好, 同一处理组组内每两个样品间的相关系数较高(附图 4)。结果表明, 同一个处理下的 3 个重复样本变异程度较小, 主成分接近, 且相关性较高, 说明本次转录组测序样品的重复性较好。从测序获得的转录组数据库中随机挑选 8 条基因设计定量引物(附表 2), 利用 qRT-PCR 技术分别测定基因实际表达情况。所选基因的表达谱与定量结果趋势比较分析结果见附图 5, 显

示 8 个基因的表达趋势与表达谱基本一致, 表明转录组数据准确性较高。

2.6 差异表达基因鉴定及功能分析

在促熟 16 d 时, 处理组与对照组相比有 230 个基因显著上调, 301 个基因显著下调(图 4A)。在促熟 26 d 时, 处理组与对照组相比有 157 个基因显著上调, 280 个基因显著下调(图 4B)。两个时间点共同差异表达的基因数目为 209 个(图 4C)。对筛选出的共有差异基因进行 KEGG 富集分析, 结果显示这些基因显著富集在内质网中的蛋白质加工、花生四烯酸代谢、色氨酸代谢、谷胱甘肽代谢、氮代谢、碱基切除修复、亚油酸代谢、植物 MAPK 信号通路、乙醛酸和二羧酸代谢等代谢通路(图 4D)。其中, 添加 DGK 抑制剂

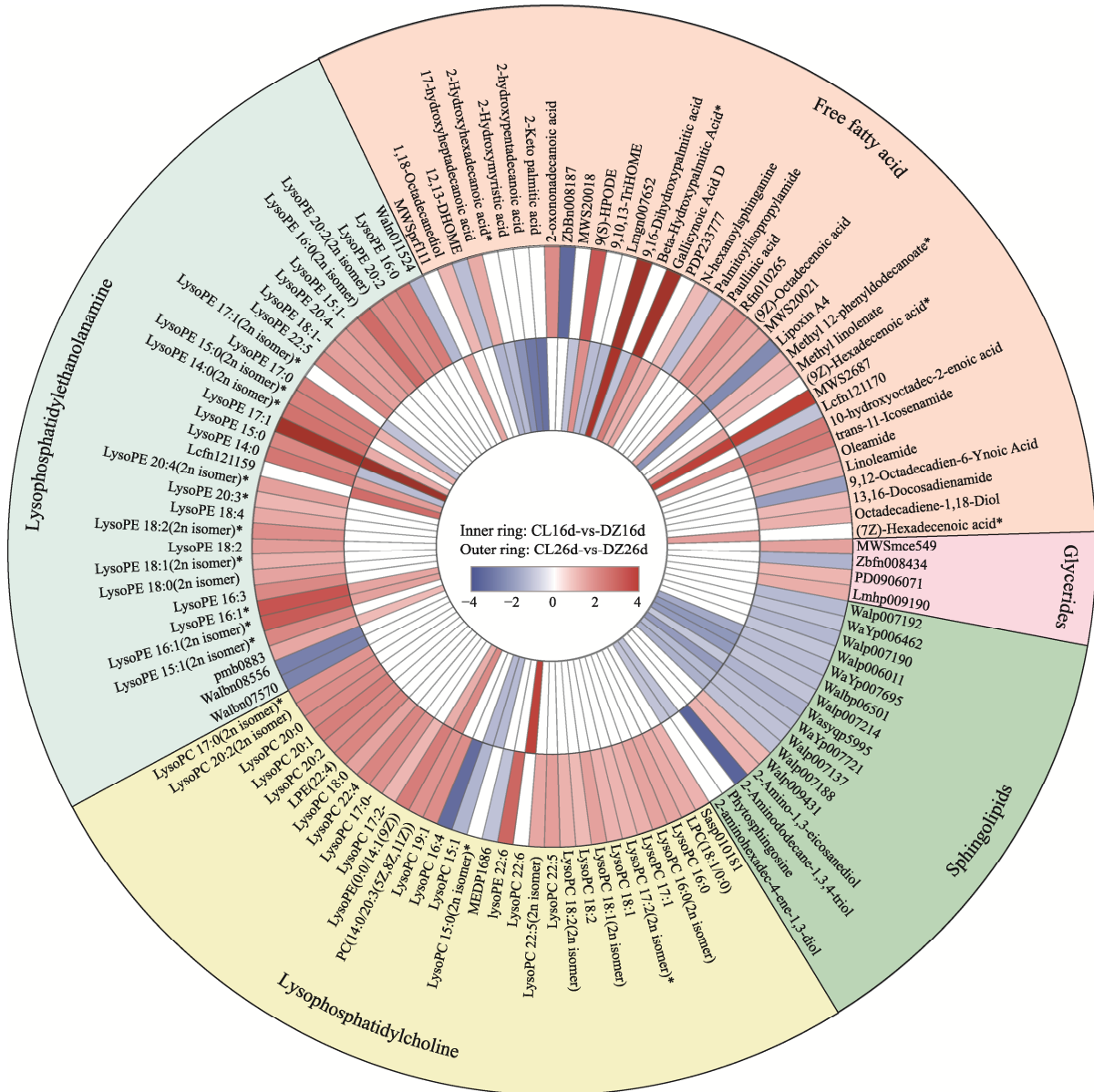


图 3 丝状体促熟 16 d 和 26 d 关键差异甘油酯、鞘脂、溶血磷脂酰胆碱、溶血磷脂乙醇胺和游离脂肪酸的变化热图
 Fig.3 Heatmap of key significantly altered glycerolipids, sphingolipids, lysophosphatidylcholines, lysophosphatidylethanolamines, and free fatty acids in conchocelis at 16 days and 26 days of induced maturation

部分代谢物名称用 Indel 代替，具体名称见附表 3。

The names of some metabolites were replaced by Indel. The specific names are shown in Suppl. Table 3.

处理后，在氮代谢通路中，编码碳酸酐酶(cah)的基因表达显著下调；而在内质网蛋白质加工通路中，多个编码热休克蛋白 HSP20 的基因则显著上调。同时，与乙醛酸和二羧酸代谢相关的过氧化氢酶(CAT)编码基因、谷胱甘肽代谢中的谷胱甘肽转移酶基因(GSTP 和 HPGDS)表达均出现显著升高；相反，编码脂氧合酶(LOX2S)的基因表达则明显降低(附图 6)。

2.7 WGCNA 分析

WGCNA 分析结果划分为 15 个基因模块，其中

turquoise 和 blue 模块基因数量最多，分别有 2 111 和 1 981 个基因，其余模块基因数目在 71~1 860 之间(图 5A)。将模块基因在各个样本中的表达模式用模块特征值展示，结果如图 5B 所示。红色代表高表达，蓝色代表低表达。值得注意的是，red 模块中的基因在促熟前低表达，在促熟 16 d 和 26 d 的对照组中高表达，在处理组中低表达。对 red 模块中的有注释的基因进行 KEGG 富集分析，主要富集在同源重组、碱基切除修复、错配修复、非同源末端连接、DNA 复制、核苷酸切除修复、甘油脂代谢、光合作用、RNA

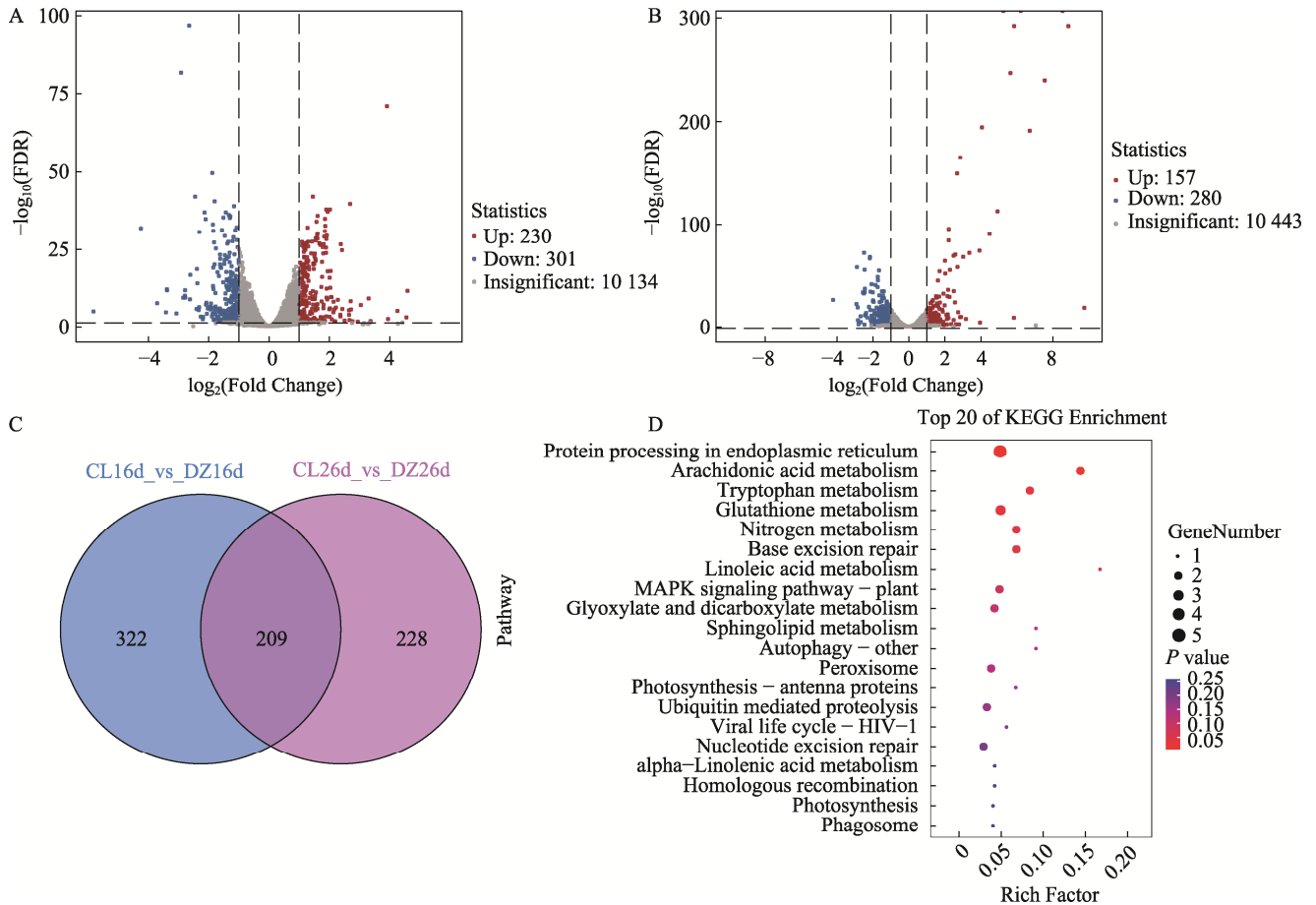


图 4 促熟 16 d 和 26 d 差异基因分析

Fig.4 Differentially expressed genes at 16 d and 26 d of ripening induction

A: 促熟 16 d 对照组与处理组差异基因火山图; B: 促熟 26 d 对照组与处理组差异基因火山图;

C: 促熟 16 d 和 26 d 对照组与处理组差异表达基因维恩图统计; D: 促熟 16 d 和 26 d 对照组与处理组共同差异表达基因的 KEGG 富集分析。

A: Volcano plot of differentially expressed genes between the control and treatment groups at 16 days of ripening induction;

B: Volcano plot of differentially expressed genes between the control and treatment groups at 26 days of ripening induction;

C: Venn diagram showing statistics of differentially expressed genes between the control and treatment groups at 16 and 26 days of ripening induction; D: KEGG enrichment analysis of the shared differentially expressed genes

between the control and treatment groups at 16 and 26 days of ripening induction.

降解、泛素介导的蛋白水解、氮代谢、淀粉和蔗糖代谢、萜类骨架生物合成和脂肪酸生物合成等代谢通路(附图 7)。对 red 模块中有注释的基因构建基因互作网络, 筛选到核心基因为 *SSRP1* (evm.model.ctg000033_arrow_pilon.219), 该基因可能参与染色质结构的形成及调控基因表达(附图 8)。

2.8 转录组和代谢组关联分析

2.8.1 O2PLS 模型分析 根据 O2PLS 方法对前两个维度 loading 值平方和前 10 的基因和代谢物整合绘制 loading 图(图 6), 以展示关联度最大的代谢物(附表 4)和基因(附表 5)。结果显示, 与转录组最相关的代谢物包括氨基酸及其衍生物(如缬氨酸-丙氨酸-异亮

氨酸, 甘氨酸-脯氨酸-苯丙氨酸和 L-亮氨酸-L-亮氨酸-L-甘氨酸), 脂质(如磷脂酰胆碱(8:0/8:0))等代谢物。

2.8.2 共表达网络分析 首先筛选出的在促熟 16 d 和促熟 26 d 时的对照组和处理组均发生差异表达的 154 个代谢物(图 2A)和 209 个基因(图 4C), 再基于皮尔逊相关系数绝对值 >0.8 且排名前 1000 的差异基因和代谢物绘制网络图(图 7A), 获得 22 条有注释的基因和 72 个代谢物。72 个代谢物中最多的是氨基酸及其衍生物, 脂质和核苷酸及其衍生物。如图 7B 所示, 在两个促熟时间点下, 氨基酸及其衍生物与核苷酸及其衍生物在处理组中的含量整体上显著低于对照组, LPE 和 LPC 在处理组中的含量显著高于对照组, 游离脂肪酸在处理组中的含量整体上显著高于对照组。

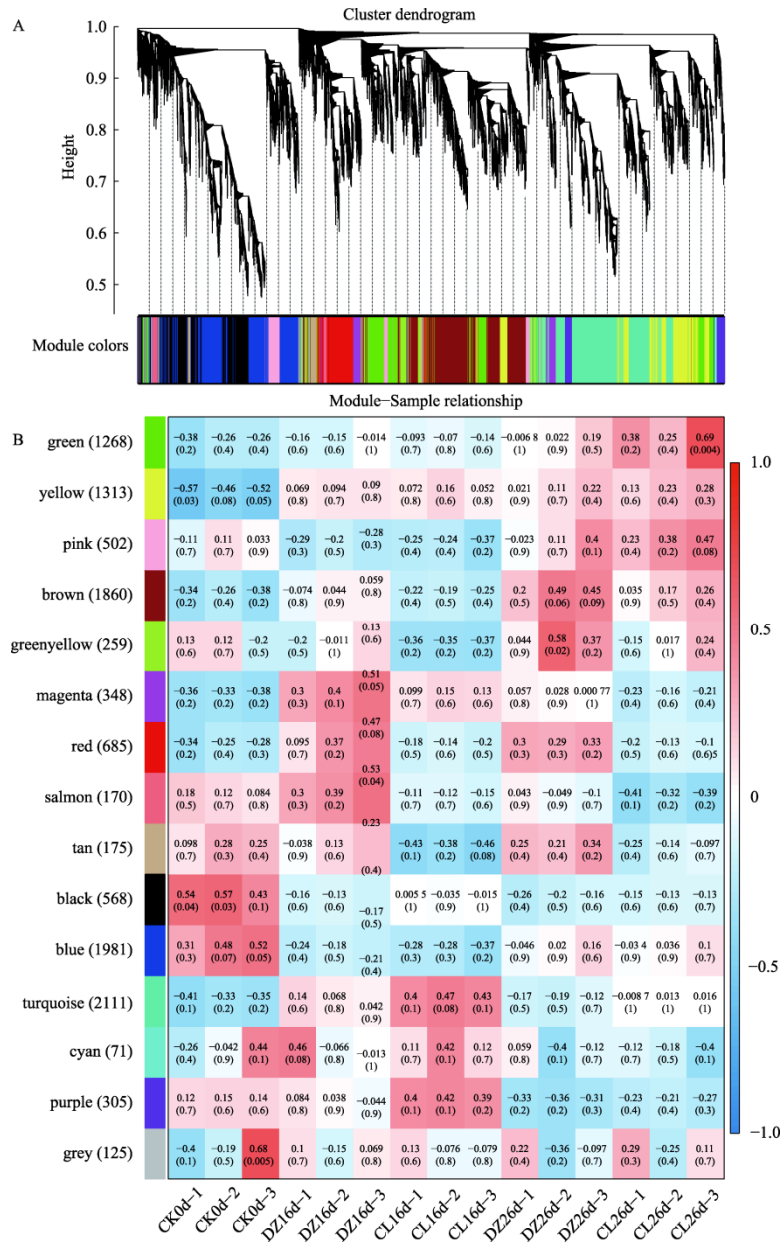


图5 基因共表达网络模块层次聚类树图(A)和表达模式分析(B)

Fig.5 Gene co-expression network module hierarchical clustering tree diagram (A) and expression pattern analysis (B)

CL: 处理组; DZ: 对照组; CK0d: 坛紫菜丝状藻丝阶段, 促熟第0天。下同。

CL: Treatment group; DZ: Control group; CK0d: *P. haitanensis* conchocelis stage at day 0 of ripening induction. The same below.

3 讨论

3.1 DGK可能通过影响脂质代谢从而促进坛紫菜丝状体成熟

磷脂具有广泛的生物学功能, 包括能量储存、对信号转导以及细胞膜结构完整性的贡献, 因而对植物的生长和发育至关重要(Colin *et al.*, 2020)。真核生物中含量最高的两类磷脂是 PC 和磷脂酰乙醇胺(PE)。

PA 是大多数磷脂的前体, 其中, LPC 可由 PC 部分水解以去除其中一个脂肪酸基团而产生, 可以作为信号分子参与植物细胞内的磷脂代谢调控。拟南芥 (*Arabidopsis*) 的研究表明, 转录因子 *PDF2* 通过其 START 结构域与溶血磷脂酰胆碱结合, 从而调节磷脂代谢相关基因的表达, 这种调控机制对于植物细胞的膜磷脂状态感知和适应性反应至关重要 (Wojciechowska *et al.*, 2024)。

在本研究中, 与促熟 0 d 相比, 不添加 DGK 抑

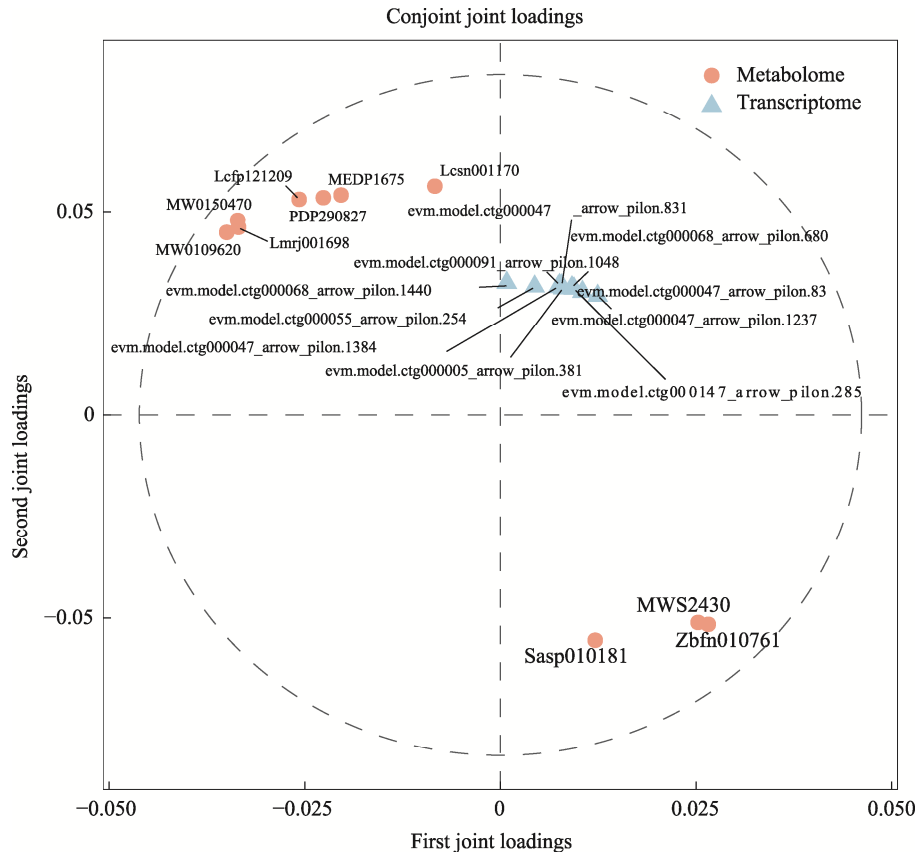


图 6 基于 loading 值平方和前 10 的基因和代谢物整合绘制的关联载荷图

Fig.6 Correlation loadings graph based on the integration of top 10 genes and metabolites with the loading values squared

制剂处理的对照组在促熟 16 d 时, 少量丝状藻丝刚发育为膨大藻丝, 这个过程中, 除了溶血磷脂酰胆碱 22:6 含量下降, 其他几种溶血磷脂酰胆碱含量均增加; 而在促熟第 26 天时, 大量丝状藻丝发育为膨大藻丝, 对照组中溶血磷脂酰胆碱的含量整体呈下降趋势(附图 9)。说明 LPC 的积累有助于坛紫菜丝状体适应促熟条件的变化, 而到促熟后期, LPC 被代谢后用于丝状体成熟发育。这与此前研究发现两个坛紫菜品系丝状体在促熟过程中 LPC 和 LPE 等溶血脂类物质均先上升后下降的趋势相一致(林颖辉, 2022)。

当 DGK 被抑制时, DG 的代谢途径受阻, 导致 DG 积累。DG 是细胞膜磷脂代谢的中间产物, 其积累可能通过反馈调节或其他代谢途径, 影响磷脂酰胆碱的合成或代谢(Nakamura, 2021)。在正常促熟过程中, *DGK* 基因的上调可能是藻体应对促熟刺激的早期响应, 通过调节 DG/PA 平衡来影响脂质代谢, 导致 LPC 和 LPE 暂时上升。随着促熟进行, 细胞可能通过反馈机制使 *DGK* 表达恢复正常, 从而降低溶血磷脂水平。然而, 当 *DGK* 活性被抑制剂抑制时, DG 积累会持续激活磷脂降解途径, 导致 LPC 和 LPE 在后期异常增加。这提示 *DGK* 在维持脂质代谢平衡中

起关键作用, 其活性变化直接影响溶血磷脂的积累。综上, *DGK* 的活性与坛紫菜丝状体成熟过程中的脂质代谢密切相关, 说明其可能在该过程中发挥重要作用。

3.2 *DGK* 影响的脂质代谢通过中间代谢产物参与坛紫菜丝状体发育成熟过程

植物中多种代谢途径之间存在密切联系, 多种代谢途径以碳骨架为基础, 如乙酰辅酶 A (Acetyl-CoA) 和 α -酮戊二酸(α -KG)等中间代谢物是关键代谢节点(Niazi *et al*, 2025; Shen *et al*, 2022)。

植物中的脂质代谢与氨基酸代谢之间存在密切联系, 乙酰辅酶 A 是两者共同的前体物质。代谢组学分析结果表明, 作为差异最多的代谢物, 氨基酸及其衍生物在处理组中普遍下降(附图 4)。转录组与代谢组关联分析结果说明, 差异代谢物中与转录表达谱最相关的代谢物主要是氨基酸及其衍生物(图 6、图 7)。在促熟 16 d 和 26 d 时, 对照组和处理组之间的差异基因都富集在氮代谢、色氨酸代谢、谷胱甘肽代谢、甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢等途径(图 4D), 并且淀粉和蔗糖代谢通路相关的基因在处理组中均呈低表达(附图 6)。以上结果表明, 添加 *DGK* 抑制剂后, 坛

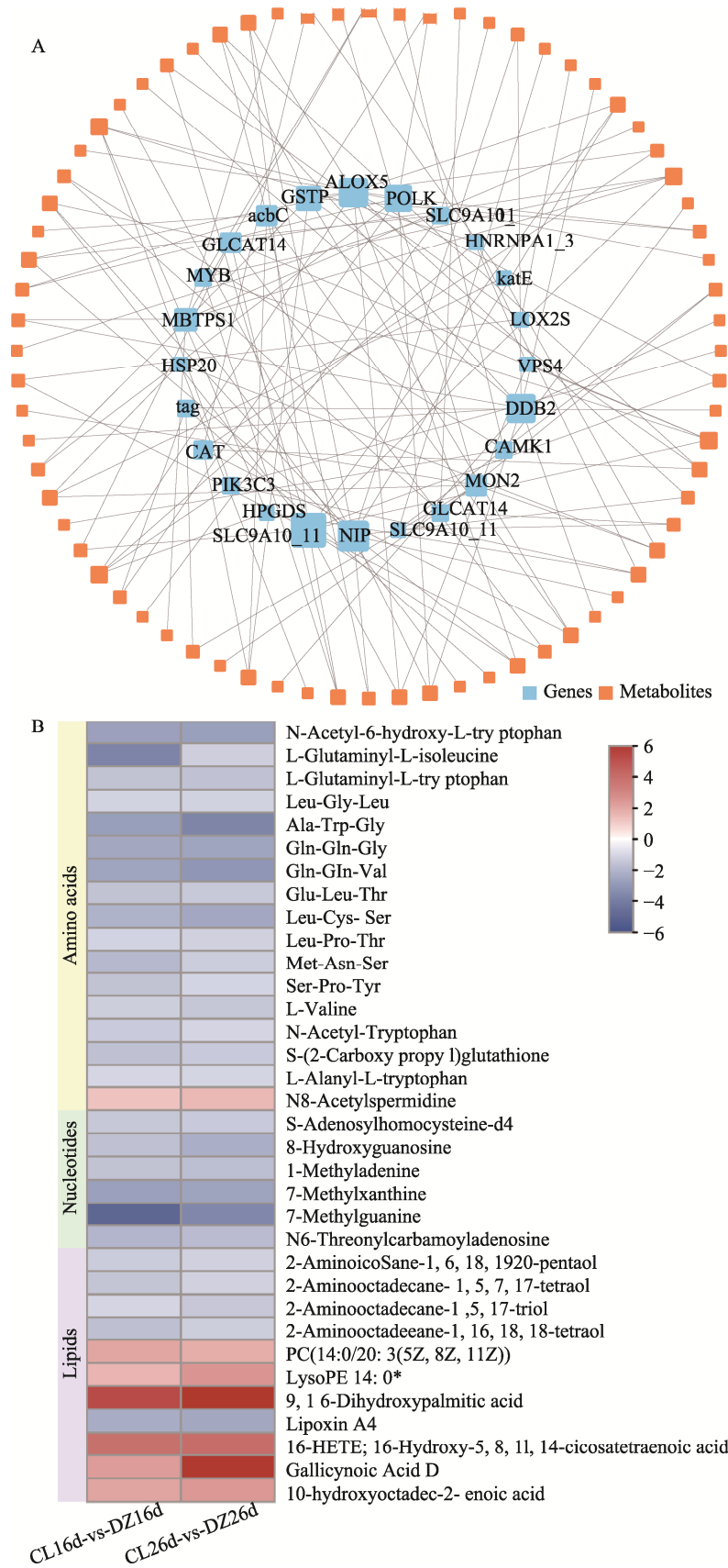


图7 基于皮尔逊相关分析筛选出的差异基因与差异代谢物网络图(A)和差异代谢物表达热图(B)

Fig.7 Network diagram of differential genes and differential metabolites screened based on Pearson correlation analysis (A) and differential metabolites expression heatmap (B)

紫菜丝状体内蛋白质合成受阻,这直接影响丝状体体内的酶、结构蛋白和信号蛋白的生成,导致丝状体无法及时发育成熟。

脂质代谢和生物碱代谢之间存在多种相互影响机制,包括能量与代谢资源的竞争、信号分子与调控机制、细胞膜的组成与功能。生物碱中的泛酰巯基乙胺(Pantetheine)是 CoA 的功能亚基,参与 CoA 的合成(Fairchild *et al.*, 2024)。CoA 是脂肪酸合成的关键辅酶,通过形成 Acetyl-CoA 作为脂肪酸合成的起始单元。添加 DGK 抑制剂后,坛紫菜丝状体中的脂质代谢受到影响,导致泛酰巯基乙胺含量下降,影响了 CoA 的合成,进而影响了丝状体中能量代谢。同时,乙酰辅酶 A 也是脂质代谢和核苷酸代谢的共同中间体。乙酰辅酶 A 也可以通过 TCA 循环生成草酰乙酸,进而参与核苷酸合成(Eastmond *et al.*, 2001)。WGCNA 中 red 模块中的差异基因主要富集在同源重组、碱基切除修复、错配修复、基础转录因子、非同源末端连接、DNA 复制、核苷酸切除修复等代谢通路中(附图 7),相关基因在促熟前低表达,在促熟 16 d 和 26 d 的对照组中高表达,但在两个对应时间点的抑制剂处理组中低表达(附图 10)。另外,处理组的核苷酸及其衍生物含量普遍显著下降(附图 3)。DNA 复制和修复需要大量核苷酸作为原料,抑制剂处理条件下,核苷酸及其衍生物含量下降可能会造成基因转录的“原料短缺”,进而影响丝状体成熟。此外,丙二酰辅酶 A 作为脂肪酸延伸(由乙酰辅酶 A 羧化酶催化)与类黄酮骨架合成(由查尔酮合酶催化)的共同底物,脂质代谢通过调控乙酰辅酶 A 和丙二酰辅酶 A 的供应,直接决定了类黄酮合成前体物质的水平。添加 DGK 抑制剂后,类黄酮含量整体呈下降趋势(附图 3),可能会使丝状体面对更严重的氧化损伤,从而影响丝状体发育。

3.3 DGK 可通过维持藻体稳态来保障坛紫菜丝状体发育成熟

DGK 被抑制后导致膜系统损伤,可能使得丝状体面临更严重的胁迫,引发了严重的氧化应激,导致过氧化氢等 ROS 大量积累。抑制剂处理下的丝状体会激活编码 HSP20、CAT 和谷胱甘肽转移酶等的抗性核心基因。在紫菜中,HSP20 广泛参与各种非生物胁迫(Gao *et al.*, 2022)。例如,紫菜在高温胁迫下会诱导 HSP20 的高表达以维持关键蛋白的结构稳定(Uji *et al.*, 2019)。CAT 的上调能够帮助清除藻体内过氧化氢等 ROS,防止藻体遭受致命损伤;紫菜谷胱甘肽转移酶也参与响应非生物胁迫(Chen *et al.*, 2025),编码

其基因的上调表达也说明此时丝状体通过谷胱甘肽调节氧化还原平衡。此外,LOX2S 能够催化植物体内多不饱和脂肪酸的氧化(Singh *et al.*, 2022)。本研究发现,LOX2S 在处理组中的表达量显著低于对照组,这与处理组中游离脂肪酸含量增加这一结果相吻合。LOX2S 基因的下调导致脂肪酸代谢受到抑制,从而积累过多的游离脂肪酸。一方面这可能会影响质膜的通透性(Wu *et al.*, 2006);另一方面,有些不饱和脂肪酸对氧化特别敏感,在氧化应激的情况下容易发生脂质过氧化,产生的氧化产物又会进一步加剧氧化应激(Chakraborty *et al.*, 2024)。因此,DGK 可以通过影响膜系统的稳定、激活抗氧化防御系统以及维持脂肪酸代谢平衡来缓解氧化应激,从而维持藻体稳态以保障坛紫菜丝状体发育成熟。

4 结论

本研究以坛紫菜丝状体易成熟品系为研究材料,通过代谢组学、转录组以及关联分析探究了 *PhDGK1* 调控丝状体成熟的分子机制。DGK 可通过维持 PA 和 DG 的平衡,影响 LPC 和 LPE 的生物合成,进而调控脂质代谢,有助于维持核膜结构的完整性,从而保障丝状体成熟相关基因与转录因子的稳定表达;脂质代谢又通过中间产物乙酰辅酶 A 来影响氨基酸代谢通路,同时也会影响生物碱、类黄酮与核苷酸及其衍生物的代谢,这些代谢通路形成了一个互作网络,共同调控丝状体的发育与成熟。

参 考 文 献

- 段昱琪,梁洲瑞,徐慧,等. 光质对木下紫菜丝状体生长发育的影响. 渔业科学进展, 2025, 46(3): 139-148 [DUAN Y Q, LIANG Z R, XU H, *et al.* Impacts of light quality on the growth and development of *Pyropia kinositae* conchocelis. Progress in Fishery Sciences, 2025, 46(3): 139-148]
- 何培民,张泽宇,张学成,等. 海藻栽培学. 北京: 科学出版社, 2018 [HE P M, ZHANG Z Y, ZHANG X C, *et al.* Seaweed cultivation. Beijing: Science Press, 2018]
- 林颖辉. 坛紫菜孢子囊枝形成的分子机制解析. 集美大学博士研究生学位论文, 2022 [LIN Y. Molecular mechanisms of sporangial branchlets formation of *Pyropia haitanensis*. Doctoral Dissertation of Jimei University, 2022]
- 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 2025 中国渔业统计年鉴. 北京: 中国农业出版社, 2025 [Bureau of Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. China fishery statistical

- yearbook 2025. Beijing: China Agriculture Press, 2025]
- 陶思怡, 林颖辉, 许凯, 等. *NhDGKI* 调控坛紫菜丝状体成熟的分子机制. 集美大学学报(自然科学版), 2025, 30(5): 409–419 [TAO S Y, LIN Y H, XU K, *et al.* Molecular mechanism of *NhDGKI* regulating the maturation of conchocelis *Porphyra haitanensis*. Journal of Jimei University (Natural Science), 2025, 30(5): 409–419]
- 魏家慧, 李国梁, 汪文俊, 等. 条斑紫菜丝状体不同发育时期对光照和温度的光合适应能力. 渔业科学进展, 2020, 41(6): 115–124 [WEI J H, LI G L, WANG W J, *et al.* Effects of light intensity and temperature on photosynthetic adaptability of the different stages of *Pyropia yezoensis* free-living conchocelis. Progress in Fishery Sciences, 2020, 41(6): 115–124]
- 谢潮添, 陆勤勤. 紫菜绿色高效养殖技术与实例. 北京: 中国农业出版社, 2022 [XIE C T, LU Q Q. Green and efficient culture technology and examples of laver. Beijing: China Agriculture Press, 2022]
- CHAKRABORTY N, MITRA R, DASGUPTA D, *et al.* Unraveling lipid peroxidation-mediated regulation of redox homeostasis for sustaining plant health. Plant Physiology and Biochemistry, 2024, 206: 108272
- CHEN H H, SHI Z Y, ZHONG Z H, *et al.* The effect of glutathione metabolism on the release of wound-induced spores from *Pyropia yezoensis*. Algal Research, 2025, 86: 103921
- COLIN L A, JAILLAIS Y. Phospholipids across scales: Lipid patterns and plant development. Current Opinion in Plant Biology, 2020, 53: 1–9
- EASTMOND P J, GRAHAM I A. Re-examining the role of the glyoxylate cycle in oilseeds. Trends in Plant Science, 2001, 6(2): 72–78
- FAIRCHILD J, ISLAM S, SINGH J, *et al.* Prebiotically plausible chemoselective pantetheine synthesis in water. Science, 2024, 383(6685): 911–918
- FOKA I C K, KETEHOULI T, ZHOU Y G, *et al.* The emerging roles of diacylglycerol kinase (DGK) in plant stress tolerance, growth, and development. Agronomy, 2020, 10(9): 1375
- GAO T, MO Z L, TANG L, *et al.* Heat shock protein 20 gene superfamilies in red algae: Evolutionary and functional diversities. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 817852
- LIN Y H, XU K, XU Y, *et al.* Transcriptome co-expression network analysis identifies key genes regulating conchosporangia maturation of *Pyropia haitanensis*. Frontiers in Genetics, 2021, 12: 680120
- LIU Y, QIAN H K, ZHU S S, *et al.* Metabolome analysis reveals the involvement of oxylipins in regulating the maturation of conchosporangia in *Pyropia haitanensis*. Algal Research, 2025, 86: 103933
- LÓPEZ-VIVAS J M, RIOSMENA-RODRÍGUEZ R, DE LA LLAVE A A J, *et al.* Growth and reproductive responses of the conchocelis phase of *Pyropia hollenbergii* (Bangiales, Rhodophyta) to light and temperature. Journal of Applied Phycology, 2015, 27(4): 1561–1570
- NAKAMURA Y. Headgroup biosynthesis of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine in seed plants. Progress in Lipid Research, 2021, 82: 101091
- NIAZI D, MOORHEAD G B G. Plant acetyl-CoA carboxylase: The homomeric form and the heteromeric form. BBA Advances, 2025, 7: 100148
- NIU T T, QIAN H K, CHEN H M, *et al.* H₂O₂ drives the transition from conchocelis to conchosporangia in the red alga *Pyropia haitanensis* with promotion facilitated by 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. Frontiers in Plant Science, 2024, 15: 1379428
- SHEN N, WANG T F, GAN Q, *et al.* Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity. Food Chemistry, 2022, 383: 132531
- SINGH P, ARIF Y, MISZCZUK E, *et al.* Specific roles of lipoxygenases in development and responses to stress in plants. Plants, 2022, 11(7): 979
- UJI T, GONDAIRA Y, FUKUDA S, *et al.* Characterization and expression profiles of small heat shock proteins in the marine red alga *Pyropia yezoensis*. Cell Stress and Chaperones, 2019, 24(1): 223–233
- WANG X J, ZHANG P, WU Y B, *et al.* Effect of light quality on growth, ultrastructure, pigments, and membrane lipids of *Pyropia haitanensis*. Journal of Applied Phycology, 2020, 32(6): 4189–4197
- WANG X, ZHAO P, LUO Q, *et al.* Metabolite changes during the life history of *Porphyra haitanensis*. Plant Biology, 2015, 17(3): 660–666
- WOJCIECHOWSKA I, MUKHERJEE T, KNOX-BROWN P, *et al.* *Arabidopsis* Protodermal Factor2 binds lysophosphatidylcholines and transcriptionally regulates phospholipid metabolism. The New Phytologist, 2024, 244(4): 1498–1518
- WU J T, CHIANG Y R, HUANG W Y, *et al.* Cytotoxic effects of free fatty acids on phytoplankton algae and cyanobacteria. Aquatic Toxicology, 2006, 80(4): 338–345

(编辑 冯小花)

Exploring the Molecular Mechanisms of *PhDGK1* in the Maturation of *Pyropia haitanensis* Conchocelis Using Transcriptomic and Metabolomic Approaches

YU Huan^{1,2,3}, LIU Lin^{1,2,3}, XU Yan^{1,2,3}, JI Dehua^{1,2,3}, WANG Wenlei^{1,2,3}, XIE Chaotian^{1,2,3}^①

(1. Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China;

2. State Key Laboratory of Mariculture Breeding, Ningde 352103, China;

3. Key Laboratory of Healthy Mariculture for the East China Sea, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Xiamen 361021, China)

Abstract *Pyropia haitanensis* accounts for approximately 75% of total dried laver production in China. In recent years, advances in cultivation technologies and increasing economic returns, the expansion of cultivation areas has created an urgent demand for high-quality cultivars. The life cycle of *P. haitanensis* consists of two distinct phases, a filamentous sporophytic stage (conchocelis) and a foliose gametophytic stage, corresponding to indoor seedling propagation and offshore farming, respectively. The primary objective of artificial indoor seedling production is to generate conchospores and propagules for marine cultivation. Therefore, achieving the synchronized development of mature conchosporangial branches and the efficient release of conchospores are critical for ensuring high yield and quality in the subsequent blade stage. Currently, all five nationally certified *P. haitanensis* cultivars are pure lines established through the transplantation of free-living conchocelis into shells. Free-living conchocelis cultivation enables substrate-independent propagation, reduces dependence on shell substrates and spatial requirements, and minimizes contamination by epiphytic algae. However, these improved cultivars still face challenges related to asynchronous conchocelis maturation and low conchospore release efficiency—commonly referred to as the "difficulty in breeding elite strains" when using free-living conchocelis. Therefore, the key to overcoming this challenge is to precisely regulate the developmental process of free-living conchocelis following transplantation onto shells (seeding), with a particular emphasis on the coordinated control of conchosporangial branch formation and conchospore release. A systematic understanding of the underlying developmental dynamics and molecular regulatory mechanisms is essential for establishing a robust theoretical foundation to enable the accurate manipulation of high-quality conchocelis development. Previous studies identified diacylglycerol kinase (*PhDGK1*) as a key regulatory gene involved in the maturation of free-living conchocelis. In this study, conchocelis of strain WO84-1 were treated with 1 $\mu\text{mol/L}$ of the diacylglycerol kinase (DGK) inhibitor R59022. Phenotypic differences between the control and treatment groups first became apparent on day 16 of ripening induction, and were evident on day 26. Samples from both groups were collected on day 0, days 16 and 26 for integrated, widely targeted metabolomic profiling and transcriptome sequencing. Metabolomic analysis revealed a significant differential accumulation of key metabolite classes, including amino acids and their derivatives, lipids, flavonoids, alkaloids, terpenoids, and nucleotides and their derivatives. KEGG pathway enrichment analysis indicated that these metabolites were predominantly associated with the biosynthesis of various plant secondary metabolites, pantothenate and CoA biosynthesis, glucosinolate biosynthesis, tyrosine metabolism, efferocytosis, zeatin biosynthesis, and flavonoid biosynthesis. By day 26 of ripening induction, the inhibitor-treated conchocelis exhibited elevated levels of lysophosphatidylcholine (LPC), lysophosphatidylethanolamine (LPE), and free fatty acids. Except for terpenoids, most amino acid- and nucleotide-related metabolites, along with alkaloids and flavonoids, showed decreasing trends in the

① Corresponding author: XIE Chaotian, Email: ctxie@jmu.edu.cn

treatment group at both time points. Weighted gene co-expression network analysis (WGCNA) clustered transcriptomic data into 15 modules. The turquoise and blue modules contained the largest number of genes (2,111 and 1,981, respectively), whereas the remaining modules contained 71–1,860 genes. Notably, genes within the red module exhibited low expression prior to ripening induction and were highly upregulated in the control group on days 16 and 26 but remained downregulated in the treatment group. KEGG enrichment analysis of genes in the red module revealed significant associations between DNA repair and replication pathways, including homologous recombination, base excision repair, mismatch repair, non-homologous end joining, DNA replication, and nucleotide excision repair. Integrated transcriptome–metabolome correlation analysis identified 22 annotated genes and 72 metabolites. Across both ripening induction stages, the treatment group showed significantly reduced levels of amino acids (and derivatives) and nucleotides (and derivatives), whereas LPC, LPE, and free fatty acids accumulated to substantially higher levels than in the control. DGK activity regulates the balance between phosphatidic acid (PA) and diacylglycerol (DG), thereby influencing the synthesis of LPC and LPE and modulating lipid metabolism. This regulatory function plays a crucial role in maintaining nuclear membrane integrity and ensuring stable expression of genes and transcription factors associated with conchocelis maturation. Through the metabolic intermediate acetyl-CoA, lipid metabolism intersects with amino acid metabolism, alkaloid biosynthesis, flavonoid metabolism, and nucleotide metabolism to form an interconnected metabolic network that coordinately regulates conchocelis development and maturation. Moreover, DGK inhibition disrupts the integrity of the membrane system and exacerbates oxidative stress. Treated conchocelis exhibited activation of multiple stress-related genes, including *HSP20* and *CAT*. *HSP20* is involved in abiotic stress responses in *Pyropia*, upregulation of *CAT* enhances reactive oxygen species scavenging, and glutathione S-transferase genes contribute to glutathione-mediated redox regulation. Therefore, DGK plays a significant role in conchocelis development and maturation by stabilizing membrane systems, enhancing antioxidant defenses, and maintaining cellular homeostasis under stressful conditions.

Key words *Pyropia haitanensis*; Conchocelis; Diacylglycerol kinase (DGK); Lipid metabolism; Transcriptomics; Metabolomics

附图和附表的链接:

https://journal.yykxjz.cn/yykxjz/article/attachment/20260121141052001?year_id=&issue=