DOI: 10.3724/j.1007-6336.2025-0173

富氮水体中孔石莼脂肪酸代谢及其碳稳定同位素分馏

张华秋[1]， 刘 瑀[1]， 王国光[1]， 荣广智[1]， 王海霞[2]

（1.大连海事大学 环境科学与工程学院, 辽宁 大连 116026; 2.大连海事大学 航海学院, 辽宁 大连 116026）

摘 要: 集约化水产养殖是加剧沿海氮富营养化的重要因素之一。作为具有生物修复潜力的大型藻类，孔石莼（*Ulva pertusa*）对氮源的响应机制尚不明确，尤其在高浓度条件下的生理与分子调控机理亟待深入探讨。本研究设置 1 mM 与 8 mM 两个浓度的 NH_4Cl 与 $NaNO_3$ 处理组，测定孔石莼的相对生长速率、脂肪酸组成与含量、脂肪酸碳稳定同位素（$\delta^{13}C_{FAs}$）值，并利用转录组测序与加权基因共表达网络分析（weighted gene co-expression network analysis, WGCNA）筛选了关键差异基因与共表达模块。研究结果显示，1 mM 铵态氮最有利于孔石莼的生长，8 mM 铵态氮则抑制其生长，硝态氮对孔石莼生长的促进作用有限。脂肪酸代谢方面，1 mM 铵态氮最有利于总脂肪酸及 C16:0 积累，8 mM 铵态氮处理下的 C22:6*n*-3 含量升高，硝态氮组脂肪酸积累量普遍较低。$\delta^{13}C_{FAs}$ 分析表明，8 mM 硝态氮加剧脂肪酸碳同位素分馏，尤其是多不饱和脂肪酸（polyunsaturated fatty acids, PUFAs），铵态氮处理下的分馏效应相对较弱。转录组学发现，与硝态氮条件相比，铵态氮处理下光合碳固定减弱，中心碳代谢和脂肪酸合成被强化。WGCNA 进一步揭示了 3 个关键枢纽基因 [鸟苷三磷酸酶（GTPase）、钙调蛋白结合蛋白（Calmodulin binding）、GTP 3',8'-环化酶（GTP 3',8'-cyclase）] 可能通过整合氮源信号与调控脂肪酸代谢途径，介导孔石莼对氮源的差异响应。本研究从生理、同位素与转录组层面系统揭示了孔石莼对氮源浓度与形态的适应机制，为其在富营养化水域中的生物修复应用提供了理论依据。

关键词: 无机氮；孔石莼；脂肪酸；脂肪酸碳稳定同位素；转录组

中图分类号: X13 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-6336(2026)04-0481-12

Fatty acid metabolism and its carbon-stable isotope fractionation in *Ulva pertusa* under nitrogen-rich waters

Zhang Huaqiu[1], Liu Yu[1], Wang Guoguang[1], Rong Guangzhi[1], Wang Haixia[2]

(1.College of Environmental Science and Engineering, Dalian Maritime University, Dalian 116026, China; 2.College of Navigation, Dalian Maritime University, Dalian 116026, China)

Abstract: Intensive aquaculture is a significant factor contributing to coastal nitrogen eutrophication. As a large alga with bioremediation potential, the response mechanism of *Ulva pertusa* to nitrogen sources remains unclear, especially the physiological and molecular regulatory mechanisms under high concentration conditions, which need to be further explored. This study set up treatment groups with two concentrations (1 mM and 8 mM) of NH_4Cl and $NaNO_3$. We measured the relative growth rate, fatty acid composition and content, and carbon stable isotope values of fatty acids ($\delta^{13}C_{FAs}$) in *U. pertusa*. Transcriptome sequencing and weighted gene co-expression network analysis (WGCNA) were used to identify key differentially expressed genes and co-

收稿日期: 2025-11-20, **修订日期:** 2026-01-12

基金项目: 国家重点研发计划项目(2023YFC3206503); 辽宁省科技计划联合计划项目(2025-MSLH-089)

作者简介: 张华秋(1997—), 女, 山东济南人, 博士研究生, 主要研究方向为海洋环境化学, E-mail: zhq04108@126.com

通信作者: 刘 瑀(1965—), 男, 陕西西安人, 教授, 博士, 主要研究方向为海洋环境化学, E-mail: ylsibo@foxmail.com

expression modules. The results showed that a low concentration of ammonium (1 mM) best promoted the growth of *U. pertusa*, while a high concentration of ammonium (8 mM) inhibited growth. The growth-promoting effect of nitrate was limited overall. In terms of fatty acid metabolism, 1 mM ammonium most favored the accumulation of total fatty acids and C16:0, whereas 8 mM ammonium led to an increase in C22:6*n*-3 content. Fatty acid accumulation under nitrate treatments was generally lower. $\delta^{13}C_{FAs}$ analysis indicated that 8 mM nitrate intensified carbon isotope fractionation during fatty acid synthesis, particularly in polyunsaturated fatty acids (PUFAs), while the fractionation effect under ammonium treatments was relatively weaker. Transcriptomics revealed that, compared to nitrate conditions, ammonium treatment led to weakened photosynthetic carbon fixation but strengthened central carbon metabolism and fatty acid synthesis. WGCNA further identified three key hub genes (guanosine triphosphatase, calmodulin-binding protein, and GTP 3',8'-cyclase) that may mediate the differential responses of *U. pertusa* to nitrogen sources by integrating nitrogen signals and regulating the fatty acid metabolism pathway. In conclusion, this study systematically elucidates the adaptation mechanisms of *U. pertusa* to nitrogen concentration and form from physiological, isotopic, and transcriptomic perspectives, providing a theoretical basis for its application in bioremediation in eutrophic waters.

Key words: Inorganic nitrogen; *Ulva pertusa*; fatty acid profile; fatty acid stable isotope; transcriptome

随着水产养殖业规模与密度快速增加，其废水排放导致的环境问题日益严峻。不科学的养殖管理致使大量残余饲料输入水体，加速了氮素积累。无机氮是我国近岸海域最主要的超标因子，点位超标率达 30.2%[1]。海洋中的无机氮主要包括氮气（N_2）、亚硝态氮（NO_2-N）、硝态氮（NO_3-N）和铵态氮（NH_4-N）。水体无机氮过量输入易导致机会型藻类暴发、死亡和分解，耗竭溶解氧，促使无机氮向还原态铵态氮转化。此外，近岸养殖区中动物排泄与生物残体分解也会进一步增加铵态氮的富集[2]。

基于藻类的生物修复是一种很有前景、可持续且经济有效的污水处理策略。在水体分层明显的河口区域，于表层布设大型藻类可全面吸收溶解营养盐，同时抵御环境压力[3]。硝态氮和铵态氮是藻类生长的主要无机氮源[4]，其形态与浓度直接影响藻类脂肪酸合成[5-6]。脂肪酸是细胞膜的核心结构成分，尤其多不饱和脂肪酸（polyunsaturated fatty acids, PUFAs）在应对盐度变化、氧化胁迫或氮胁迫下能增强细胞膜流动性与完整性，维持膜功能[7]；此外，脂肪酸是重要的能量储存形式与代谢中间体，其合成与转化反映了碳骨架的流向与还原力的分配[8]。氮源浓度与种类亦显著影响藻类的脂肪酸组成，进而调控其环境适应能力。研究表明，低氮条件常促进部分藻类（如菱形藻，*Nitzschia*）积累饱和脂肪酸（saturated fatty acid, SFAs），而高氮则有利于单不饱和脂肪酸（monounsaturated fatty acid, MUFAs）和 PUFAs 等不饱和脂肪酸的合成[9]。氮源类型同样关键，例如，三角褐指藻（*Phaeodactylum tricornutum*）在铵态氮作为氮源时脂质合成增强[10]，而盐生微绿球藻（*Microchloropsis salina*）在铵态氮中生长与脂质积累均受到抑制，硝态氮对脂质合成略有提升，有机氮源酵母提取物能同步促进其生物量、脂质积累并优化脂肪酸组成[11]。这些差异反映了不同藻类在氮利用策略与脂代谢调控上的多样性。脂肪酸的组成与含量可直观反映藻体在环境胁迫下的膜结构调整、能量分配与抗氧化响应，进而阐明其内在调控机制。而 $\delta^{13}C_{FAs}$ 突破传统生物标志物的局限，从原子层面揭示生物代谢的动态过程、环境胁迫的生理响应及生态互作的内在机制。具体而言，$\delta^{13}C_{FAs}$ 既能够作为敏感的特异性生物标志物，用以评估如石油污染等环境胁迫对生物体产生的毒性效应[12]，同时也因其分馏模式直接关联脂肪酸生物合成途径中关键酶（如去饱和酶与延伸酶）的活性变化，可从分子层面揭示外界胁迫所触发的内在代谢调控机制[13]。因此，解析脂肪酸代谢响应，是理解藻类在富氮环境中适应策略与功能状态的核心切入点。

在具有生物修复潜力的大型藻类中，孔石莼（*Ulva pertusa*）因具有对溶解无机氮的高效去除

能力而备受关注[14]。然而，现有研究多集中于低浓度氮（≤1 mM）处理下孔石莼的生长与光合响应，对高浓度及不同形态氮如何影响其脂肪酸代谢、碳同位素分馏及分子调控机制缺乏系统研究。为此，本研究通过设置不同浓度的铵态氮与硝态氮处理组，进行孔石莼的生长、脂肪酸组成、$\delta^{13}C_{FAs}$ 及转录组学（含 WGCNA）分析，核心目标在于：（1）阐明不同氮源对孔石莼生长和脂肪酸代谢的影响；（2）揭示脂肪酸合成过程中的碳同位素分馏特征；（3）识别氮源差异响应的关键调控基因。本研究从多个维度揭示了孔石莼适应富氮环境的代谢调控机制，为其在水产养殖废水修复中的优化应用提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　材　料

本实验所用的孔石莼采集于辽宁省大连市黑石礁海域（38°52.2′N, 121°33.4′E），孔石莼样品于 2024 年 8 月—10 月采集。选取新鲜的孔石莼并加入海水置于水箱中运回实验室。用过滤后的自然海水反复冲洗孔石莼表面直至干净，放入盛有 30 L 自然海水的透明塑料盒中暂养，按 1000∶1 的比例加入无氮 Conway 培养液和维生素溶液，以去除藻体内氮源的影响。在暂养阶段，每天更换海水，温度保持在（20±1）℃。将孔石莼暂养 2 d 后开始实验。

1.2　培养条件

孔石莼在无氮 Conway 培养液与维生素溶液（1000∶1）中培养，分别添加浓度为 1 mM 和 8 mM 的两种氮源：氯化铵（NH_4Cl，作为铵态氮源）和硝酸钠（$NaNO_3$，作为硝态氮源）。预培养后的孔石莼用滤纸吸干表面水分，称重后置于盛有 2 L 灭菌过滤天然海水的烧杯中，密度维持 1 g FW/L（FW 为鲜重），放入恒温光照培养箱中培养，设置光照强度为 3000 Lux，光暗循环比为 12 h∶12 h，温度为（20±1）℃。每组设置 3 个平行组。实验培养周期为 5 d。

1.3　相对生长速率的测定

相对生长速率（relative growth rate，*RGR*）常用来定量评估大型海藻的生长效率，反映单位时间内单位生物量的增长速率。在孔石莼培养期间，分别于培养期的第 1 d、2 d、3 d、4 d、5 d 取样测定 FW[15]。按照如下公式计算 *RGR*：

$$RGR\left(\%\cdot d^{-1}\right)=\ln(W_t/W_0)\times t^{-1}\times 100 \qquad (1)$$

式中：W_t 为第 t d 藻体 FW（g）；W_0 为藻体最初 FW（g）；t 为培养天数（d）。

1.4　脂肪酸含量的测定

将取出的孔石莼用冷冻干燥机干燥，研磨成粉末。取 0.01 g 粉末置于比色管中，加入 2 mL HCl∶CH_3OH（*V*/*V* 15∶85）混合溶剂，密封后于 70 ℃ 水浴中加热 1 h 进行甲酯化反应。反应结束后冷却至室温，加入 2 mL 正己烷溶液萃取脂肪酸甲酯，溶液静置分层后取上层清液待测。上述孔石莼样品中单个脂肪酸组分的定性与定量分析采用气相色谱-质谱联用仪（Trace GC Ultra-ISQ, Thermo Fisher Scientific, USA）完成。定性分析依据各脂肪酸组分的保留时间及质谱信息，定量分析则采用外标法，以 Supelco 37 组分脂肪酸甲酯混合标准品制作标准曲线。色谱分离使用 DB-5MS 色谱柱（60 m×0.25 mm×0.25 μm），进样口温度为 280 ℃，载气为高纯氦气（>99.999%），恒流流速为 1.2 mL/min，采用不分流进样模式。程序升温设置如下：初始温度 70 ℃，保持 1 min，以 8 ℃/min 升至 170 ℃，保持 6 min，再以 4 ℃/min 升至 280 ℃，保持 10 min。质谱检测条件为：传输线温度为 250 ℃，离子源温度为 230 ℃，电子轰击电离能量为 70 eV[16]。

1.5　脂肪酸碳稳定同位素的测定

脂肪酸碳稳定同位素按照如下公式进行计算：

$$\delta^{13}C_{FAs}=\left[\frac{R_{样品}}{R_{标准}}-1\right]\times 10^3‰ \qquad (2)$$

式中：$R_{样品}$ 为样品中的 $^{13}C/^{12}C$；$R_{标准}$ 为国际碳同位素标准 VPDB 的 $^{13}C/^{12}C$。

脂肪酸在进行甲酯化的过程中会引入色谱级甲醇的一个碳原子，所以对脂肪酸碳稳定同位素值进行分析时需要校正，以消除所引入碳原子的稳定同位素干扰。脂肪酸甲酯的 $\delta^{13}C_{FAs}$ 校正公式[17] 如下：

$$\delta^{13}C_{FAs}=\left[(n+1)\times\delta^{13}C_{FAMEs}-\delta^{13}C_{MeOH}\right]/n \qquad (3)$$

式中：$\delta^{13}C_{FAMEs}$ 为所测定脂肪酸甲酯的 $\delta^{13}C$ 值；$\delta^{13}C_{MeOH}$ 为甲酯化阶段所使用色谱级甲醇的 $\delta^{13}C$ 值；$\delta^{13}C_{FAs}$ 为还未通过甲酯化的脂肪

酸的 $\delta^{13}C$ 值；n 为还未经过甲酯化的脂肪酸的碳原子个数。

1.6 转录组分析

使用 TRIzol® 试剂按制造商说明从混合叶片组织中提取总 RNA。随后，采用安捷伦 5300 Bioanalyzer 系统评估 RNA 质量，并使用 NanoDrop ND-2000 进行浓度测定。RNA 纯化、反转录、文库构建及测序工作均委托上海美吉生物医药科技有限公司（中国上海）按照标准流程完成。为了鉴定不同样本间的差异表达基因（differentially expressed genes, DEGs），基于测序数据，将基因表达以每百万读数中的转录本数（transcripts per million reads, *TPM*）进行标准化计算。将表达量倍数变化对数值的绝对值（$|\log_2\text{Fold Change}|$, $|\log_2 FC|$）≥ 1 且错误发现率（false discovery rate, *FDR*）< 0.05 作为显著性阈值，筛选出具有统计学意义的差异表达基因。

1.7 加权基因共表达网络分析

经表达量过滤后，共保留 8482 个基因用于加权基因共表达网络分析。该分析使用 R 语言 WGCNA 包完成。网络构建采用无尺度拓扑准则，软阈值设为 6。模块检测中，最小模块大小设为 30 个基因，并将模块特征基因距离低于 0.25 的模块进行合并。进一步，基于特征基因连接度（kME > 0.3）筛选模块内核心基因。通过计算模块与目标性状（如脂肪酸合成）之间的斯皮尔曼（Spearman）相关系数，筛选出显著相关的模块，并从中识别关键基因。共表达网络使用 Cytoscape 软件（版本 3.10.3）进行可视化。

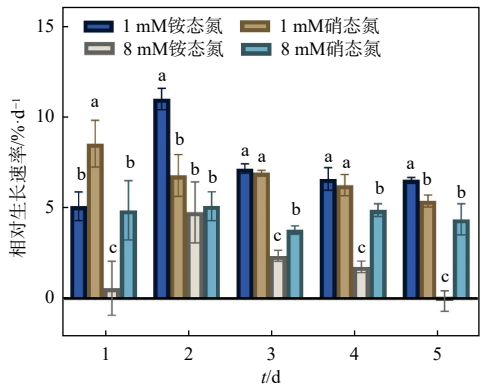
1.8 统计分析

实验数据使用 IBM SPSS Statistics 软件进行统计分析。首先进行正态性和方差同质性检验，进一步使用单因素方差分析结合 Duncan 事后多重比较，检验各处理组间的差异显著性。使用 Origin 软件绘图。

2 结果与讨论

2.1 氮源对孔石莼生长的影响

各条件下孔石莼的相对生长速率的变化情况如图 1 所示。本研究中，1 mM 铵态氮对孔石莼生长的促进作用最强，在第 2 d 出现了最高的相对生长速率，为（13.30±1.32）%/d，比同浓度硝态氮培养下的相对生长速率 [（6.76±1.75）%/d] 高出 96.75%，在第 5 d 时相对生长速率仍然高达（6.51±0.12）%/d。该差异主要源于氮同化途径的能量消耗不同，铵态氮可通过谷氨酰胺合成酶（glutamine synthetase, GS）-谷氨酸氧谷氨酸转氨酶（glutamate-oxy-glutamic acid transaminase, GOGAT）系统直接整合至碳骨架，约消耗 3 个 ATP；而硝态氮则需先还原为铵离子，其运输与同化过程需额外消耗约 8 个 ATP，并伴随超过 30% 的 NADH 损耗[18]。在先前的一些无机氮对大型藻的影响研究中，无机氮的浓度一般集中在 1 mM 以下，结果表明，随浓度升高大型藻的相对生长速率也随之升高[19]。低浓度无机氮源培养下（50 μM NH_4Cl 和 50 μM $NaNO_3$）同样观察到了铵态氮比硝态氮更能促进孔石莼生长的现象[20]。



注：数据为平均值，误差棒代表标准偏差；不同小写字母表示处理间差异显著（p<0.05）

Note:the data was the average value, and the error bar represented the standard deviation. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments (p<0.05)

图 1 不同氮源及浓度对孔石莼相对生长速率的影响

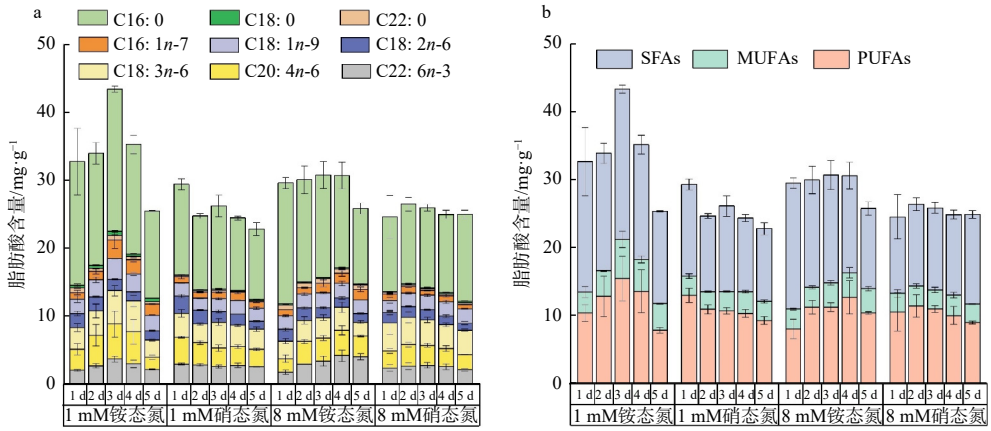
Fig. 1 Effects of different nitrogen sources and concentrations on the relative growth rate of *U. pertusa*

铵态氮的同化能耗较低，但该优势仅在氮源有限条件下成立[21]。虽然铵态氮被认为是大型海藻的理想氮源，但浓度过高时会对藻体产生抑制作用。在 8 mM 铵态氮条件下培养的孔石莼，其叶片边缘出现泛白，生长状态恶化，生长速率显著降低，至第 5 d 时甚至表现为负增长 [（−0.14±

0.46)%/d]。此现象也见于 Ji 等[15] 的研究中，在 2.5 mM 铵态氮条件下培养的龙须菜(*Asparagus schoberioides*)出现相对生长率为负值的现象。高浓度铵态氮会诱发藻体内氧化应激，破坏电子传递系统[22]，并在藻体内积累，进而被转化为亚硝酸盐和胺类等有毒物质[23]，从而抑制藻体生长，甚至导致细胞死亡。

2.2　氮源对孔石蕊脂肪酸含量的影响

对于大型海藻来说，脂肪酸在维持膜结构、参与能量代谢以及作为激素前体等方面具有重要作用[24]，氮源类型是影响藻类脂肪酸组成与含量的关键因素之一[5-6]。1 mM 铵态氮处理的孔石蕊中总脂肪酸含量于第 3 d 达到峰值 [(43.42 ± 1.71)mg/g]，显著高于其他处理组(图 2 及表 1)，随后则呈现下降趋势。该动态变化可能与藻体快速生长所驱动的碳流再分配有关，随着快速生长，藻体对蛋白质及细胞壁多糖等结构性大分子的需求相应增强[25]，部分前期积累的脂肪酸可能通过 β-氧化等途径提供能量与碳骨架，从而导致脂肪酸的积累减少。在培养前期、中期低浓度铵态氮最有利于脂肪酸积累，这可能是因为同化铵态氮所需的能量成本较低，使藻细胞能够将更多的还原力用于脂质合成，而不影响其正常生长[10]。而在低浓度硝态氮培养下，藻类通过光合作用固定二氧化碳，所同化的碳通常主要用于合成碳水化合物[26]。Keerthi 等[27] 的研究结果也支持这一趋势，当使用 NH_4Cl 作为营养源培养细柱藻(*Cylindrotheca*)时，其脂质产量显著高于同浓度 $NaNO_3$ 和尿素处理组。此外，本研究中，不同浓度的铵态氮对孔石蕊脂质合成的影响高于硝态氮，该现象与针对小球藻(*Chlorella vulgaris*)的报道相似，这可能源于高浓度铵态氮引起细胞内 pH 波动，以及铵离子同化过程中产生的毒性中间产物，从而干扰氮代谢并影响脂质合成效率[28]。



注：a 为主要单个脂肪酸含量，b 为按饱和度分类的脂肪酸总含量；数据为平均值，误差棒代表标准偏差

Note:a is contents of major individual fatty acids, b is total fatty acid contents classified by saturation; the data was the average value, and the error bar represent the standard deviation

图 2　不同氮源处理下孔石蕊脂肪酸含量的时间动态变化

Fig. 2　Temporal dynamic changes in the fatty acid content of *U. pertusa* under different nitrogen source treatments

具体而言，C16:0 是含量最高的 SFAs，在各处理组中均为主要组分，在 1 mM 铵态氮处理下的积累尤为显著，而 C18:0 也呈现类似趋势，表明 SFAs 的合成对氮源条件较为敏感，低浓度铵态氮可能促进了脂肪酸的从头合成[29]。C22:6*n*-3 在 8 mM 铵态氮培养下显著积累，且随培养时间延长持续增加。作为 PUFAs，C22:6*n*-3 是细胞膜磷脂的重要构成，能够有效维持膜流动性[30]。在高浓度铵态氮诱导的氧化胁迫条件下，藻细胞通过提高膜脂中 PUFAs 的比例，以维持膜的流动性与完整性，从而保障光合蛋白等膜结合蛋白的功能，增强耐胁迫能力[31]。

2.3　氮源对孔石蕊脂肪酸碳稳定同位素的影响

脂肪酸的生物合成由一系列酶促反应完成，

表 1 不同氮源培养下孔石莼脂肪酸含量的时间动态变化

Tab.1 Temporal dynamic changes in the fatty acid content of *U. pertusa* under different nitrogen source treatments

t/d	脂肪酸含量/mg·g^{-1}	1 mM 铵态氮	1 mM 硝态氮	8 mM 铵态氮	8 mM 硝态氮
1	C22:6*n*-3	2.07±0.13^{a}	2.99±0.13^{b}	1.78±0.31^{a}	2.39±0.48^{ab}
	C20:4*n*-6	3.08±0.83^{ab}	3.95±0.14^{a}	1.99±0.53^{b}	2.53±0.33^{ab}
	C18:3*n*-6	3.19±0.59^{a}	3.55±0.56^{a}	2.58±0.39^{a}	4.15±1.71^{a}
	C18:2*n*-6	2.1±0.35^{ab}	2.56±0.23^{a}	1.72±0.23^{b}	1.52±0.32^{b}
	C18:1*n*-9	2.13±0.5^{a}	1.9±0.07^{a}	2.05±0.13^{a}	1.83±0.44^{a}
	C16:1*n*-7	0.95±0.31^{a}	0.94±0.32^{a}	0.92±0.03^{a}	0.92±0.12^{a}
	C22:0	0.69±0.06^{a}	0.15±0.01^{b}	0.66±0.02^{a}	0.23±0.09^{b}
	C18:0	0.39±0.2^{a}	0.1±0.04^{b}	0.2±0.05^{a}	0.1±0.06^{b}
	C16:0	18.17±4.89^{a}	13.31±0.81^{b}	17.72±0.82^{a}	10.97±3.14^{b}
	总脂肪酸	32.78±6.59^{a}	29.43±1.7^{a}	29.62±2.39^{a}	24.64±6.64^{a}
2	C22:6*n*-3	2.72±0.32^{a}	2.87±0.17^{a}	2.98±0.02^{a}	2.68±0.49^{a}
	C20:4*n*-6	4.5±1.57^{a}	3.26±0.29^{a}	3.31±0.28^{a}	3.17±0.38^{a}
	C18:3*n*-6	3.62±1.02^{a}	2.76±0.2^{a}	3.15±0.57^{a}	4.05±0.79^{a}
	C18:2*n*-6	2.06±0.12^{a}	2.09±0.1^{a}	1.86±0.18^{ab}	1.59±0.09^{b}
	C18:1*n*-9	2.51±0.41^{a}	1.75±0.09^{b}	2.04±0.22^{ab}	1.99±0.16^{ab}
	C16:1*n*-7	1.24±0.38^{a}	0.86±0.1^{a}	0.9±0.1^{a}	0.97±0.18^{a}
	C22:0	0.47±0.03^{b}	0.21±0.02^{b}	0.7±0.02^{a}	0.23±0.02^{b}
	C18:0	0.42±0.1^{a}	0.17±0.06^{b}	0.2±0.05^{b}	0.19±0.09^{b}
	C16:0	16.45±1.57^{a}	10.83±0.36^{b}	14.97±2.04^{ab}	11.66±1.01^{b}
	总脂肪酸	34±4.47^{a}	24.79±0.98^{b}	30.1±3.18^{ab}	26.52±2.87^{ab}
3	C22:6*n*-3	3.73±0.43^{a}	2.63±0.23^{a}	3.42±0.72^{a}	2.81±0.4^{a}
	C20:4*n*-6	5.14±1.96^{a}	2.7±0.49^{a}	3.4±0.38^{a}	2.93±0.31^{a}
	C18:3*n*-6	4.95±0.79^{a}	3.86±0.53^{ab}	3.03±0.42^{b}	3.77±0.4^{ab}
	C18:2*n*-6	1.69±0.08^{a}	1.58±0.21^{a}	1.47±0.14^{a}	1.53±0.09^{a}
	C18:1*n*-9	3.03±0.06^{a}	1.89±0.14^{c}	2.2±0.13^{b}	2.11±0.18^{b}
	C16:1*n*-7	2.74±0.44^{a}	0.95±0.13^{c}	1.38±0.49^{b}	0.69±0.09^{c}
	C22:0	0.68±0.06^{a}	0.27±0.01^{b}	0.68±0.17^{a}	0.26±0.04^{b}
	C18:0	0.58±0.14^{a}	0.19±0.09^{b}	0.19±0.02^{b}	0.15±0.06^{b}
	C16:0	20.88±0.43^{a}	12.19±1.58^{b}	15.03±1.98^{a}	11.75±0.45^{b}
	总脂肪酸	43.42±1.71^{a}	26.26±1.29^{b}	30.8±1.31^{b}	25.99±2.01^{b}
4	C22:6*n*-3	3.01±0.56^{a}	2.8±0.33^{a}	4.21±0.84^{a}	2.6±0.43^{a}
	C20:4*n*-6	4.74±1.83^{a}	2.74±0.26^{a}	3.74±0.67^{a}	2.67±0.44^{a}
	C18:3*n*-6	4.58±0.83^{a}	3.13±0.15^{b}	3.44±0.77^{ab}	3.5±0.29^{ab}
	C18:2*n*-6	1.32±0.05^{b}	1.7±0.02^{a}	1.38±0.19^{b}	1.3±0.21^{b}
	C18:1*n*-9	2.63±0.23^{a}	2.04±0.04^{b}	2.13±0.33^{ab}	2.11±0.24^{ab}
	C16:1*n*-7	2.07±0.3^{a}	1.16±0.17^{b}	1.47±0.44^{ab}	0.9±0.17^{b}
	C22:0	0.49±0.08^{b}	0.24±0.02^{c}	0.63±0.07^{a}	0.24±0.06^{c}
	C18:0	0.39±0.07^{a}	0.16±0.03^{bc}	0.21±0.05^{bc}	0.23±0.07^{b}
	C16:0	16.06±1.35^{a}	10.69±0.32^{b}	13.53±1.96^{a}	11.46±0.62^{b}
	总脂肪酸	35.28±5.05^{a}	24.49±1.07^{b}	30.73±5.2^{ab}	25.02±2.36^{b}

续表

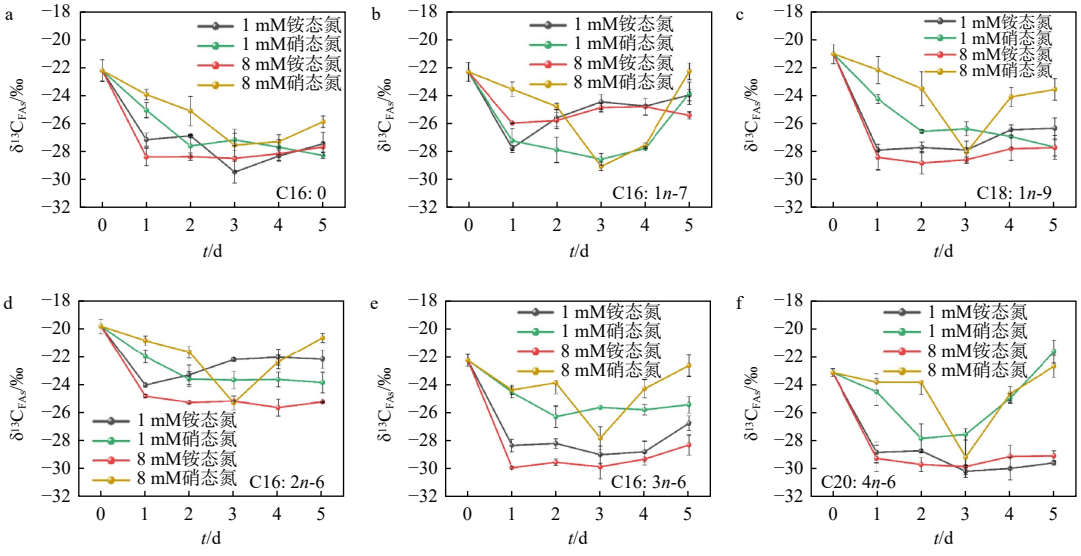
t/d	脂肪酸含量/mg·g^{-1}	1 mM 铵态氮	1 mM 硝态氮	8 mM 铵态氮	8 mM 硝态氮
5	C22:6*n*-3	2.21±0.08^{b}	2.59±0.08^{b}	4.07±0.46^{a}	2.16±0.2^{b}
	C20:4*n*-6	1.78±0.32^{c}	2.56±0.2^{b}	3.03±0.13^{a}	2.22±0.04^{b}
	C18:3*n*-6	2.53±0.17^{bc}	2.95±0.31^{b}	2.1±0.23^{c}	3.58±0.18^{a}
	C18:2*n*-6	1.35±0.1^{a}	1.24±0.12^{a}	1.27±0.13^{a}	1.07±0.27^{a}
	C18:1*n*-9	2.34±0.03^{a}	1.93±0.18^{c}	1.97±0.01^{c}	2.14±0.06^{b}
	C16:1*n*-7	1.65±0.06^{a}	0.91±0.12^{b}	1.59±0.33^{a}	0.62±0.07^{b}
	C22:0	0.34±0.01^{b}	0.18±0.04^{b}	0.63±0.13^{a}	0.25±0.04^{b}
	C18:0	0.49±0.04^{a}	0.18±0.05^{b}	0.16±0.03^{b}	0.26±0.04^{b}
	C16:0	12.81±0.12^{a}	10.35±0.94^{b}	11.07±0.81^{b}	12.74±0.61^{a}
	总脂肪酸	25.51±0.51^{a}	22.89±1.72^{a}	25.89±0.55^{a}	25.03±0.42^{a}

注：数据为平均值±*SE*（*n* = 3）；不同字母表示 $p < 0.05$

Note:the data are the average ± *SE* (*n* = 3); different letters indicate $p < 0.05$

由于这些反应涉及碳原子的添加或去除，因此会引起碳同位素的分馏[32]。如图 3 所示，所有脂肪酸的 δ^{13}C 均表现为初始（0 ~ 2 d）下降，随后（2 ~ 5 d）趋于稳定或上升。例如，C16:0 在 1 mM 铵态氮下，培养初始至第 2 d，$\delta^{13}C_{FAs}$ 从约−25‰下降至约−28‰，之后稳定在−27‰左右。这说明在培养初期轻同位素（^{12}C）优先被利用，导致 $\delta^{13}C_{FAs}$ 降低，随着孔石莼的不断生长，环境中的 $^{12}CO_2$ 减少。细胞对 ^{13}C 的吸收较多，因此藻体中的 $\delta^{13}C_{FAs}$ 呈增加的趋势[24]。其中 8 mM 硝态氮处理组的负偏移最明显，说明高浓度硝态氮加剧了碳同位素分馏。相比之下，1 mM 硝态氮处理组的分馏程度虽低于 8 mM 处理组，但仍高于同浓度铵态氮处理组。

从脂肪酸类型来看，PUFAs（C18:3*n*-6 和 C20:4*n*-6）的分馏程度高于 SFAs（C16:0）及 MUFAs（C16:1*n*-7、C18:1*n*-9），这可能与 PUFAs 合成涉及多步酶促反应（如去饱和与延长）有



注：数据为平均值，误差棒代表标准偏差

Note:the data was the average value, and the error bar represent the standard deviation

图 3　不同氮源处理下孔石莼单个脂肪酸碳稳定同位素组成的时间动态变化

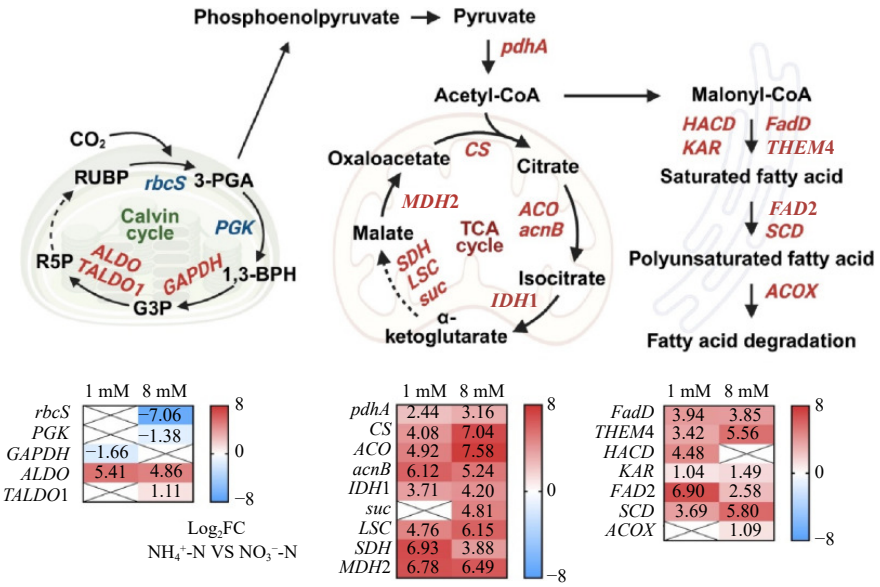
Fig. 3　Temporal dynamic changes of the carbon stable isotope composition of individual fatty acids of *U. pertusa* under different nitrogen source treatments

关。该结果与 Marine 等[13]在指数生长后期观察到的结果一致，即 PUFAs 的 $\delta^{13}C_{FAs}$ 降低幅度更大，进一步证实去饱和过程对碳同位素组成具有重要调控作用。综上所述，氮源类型与浓度共同调控碳同位素分馏，其中高浓度硝态氮及 PUFAs 的复杂合成途径对分馏效应具有协同增强作用。

2.4 转录组分析

为探究铵态氮与硝态氮对孔石莼脂肪酸合成的分子机制影响，本研究于培养第 3 d 进行了转录组分析（图 4）。与硝态氮处理组相比，铵态氮处理组光合碳固定关键酶核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶（*rbcS*）的基因表达量显著下调（8 mM 铵态氮组 $Log_2FC = -7.06$）。此外，磷酸烯醇丙酮酸羧化酶（*pdhA*）及多个三羧酸循环（TCA cycle）相关基因 [如柠檬酸合酶（*CS*）、乌头酸水合酶（*ACO*）、异柠檬酸脱氢酶（*IDH*1）、琥珀酸脱氢酶（*SDH*）等] 的表达均出现上调。在脂肪酸合成通路中，铵态氮处理促进了多个关键基因的表达，包括参与饱和脂肪酸合成的 3-酮脂酰-ACP 还原酶（*KAR*）、3-羟酰基辅酶 A 脱氢酶（*HACD*）和酰基辅酶 A 合成酶（*FadD*），以及负责脂肪酸链释放的乙酰辅酶 A 硫酯酶（*THEM*4）、硬脂酰辅酶 A 去饱和酶（*SCD*）和脂肪酸去饱和酶 2（*FAD*2）。此外，8 mM 铵态氮处理下酰基辅酶 A 氧化酶（*ACOX*）的表达也显著上调。

上述数据为阐释不同氮源下孔石莼的生长与脂肪酸代谢差异提供了分子层面的依据。在



注：核酮糖-1,5-二磷酸 (Ribulose-1,5-bisphosphate, RUBP)；3-磷酸甘油酸 (3-Phosphoglyceric acid, 3-PGA)；1,3-二磷酸甘油酸 (1,3-Bisphosphoglycerate, 1,3-BPH)；甘油醛-3-磷酸 (Glyceraldehyde 3-phosphate, G3P)；核酮糖-5-磷酸 (Ribulose 5-phosphate, R5P)；核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶 (Ribulose-bisphosphate carboxylase small chain, *rbcS*)；磷酸甘油酸激酶 (Phosphoglycerate kinase, *PGK*)；甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, *GAPDH*)；二磷酸醛缩酶 (Fructose-bisphosphate aldolase, *ALDO*)；转醛醇酶 (Transaldolase, *TALDO1*)；磷酸烯醇丙酮酸羧化酶 (Phosphoenolpyruvate carboxykinase, *pdhA*)；柠檬酸合酶 (Citrate synthase, *CS*)；乌头酸水合酶 (Aconitate hydratase, *ACO*)；苹果酸脱水酶 2 / 2-甲基异柠檬酸脱水酶 (Aconitate hydratase 2 / 2-methylisocitrate dehydratase, *acnB*)；异柠檬酸脱氢酶 (Isocitrate dehydrogenase, *IDH*1)；α-酮戊二酸脱氢酶 (2-oxoglutarate dehydrogenase, *suc*)；琥珀酸硫激酶 (Succinyl-CoA synthetase, *LSC*)；琥珀酸脱氢酶 (Succinate dehydrogenase, *SDH*)；苹果酸脱氢酶 (Malate dehydrogenase, *MDH*2)；酰基辅酶 A 合成酶 (Acyl-CoA Synthetase, *FadD*)；硫酯酶超家族成员 4 (Thioesterase Superfamily Member 4, *THEM*4)；3-羟酰基辅酶 A 脱氢酶 (3-Hydroxyacyl-CoA Dehydrogenase, *HACD*)；3-酮脂酰-ACP 还原酶 (3-Ketoacyl-ACP Reductase, *KAR*)；脂肪酸去饱和酶 2 (Fatty Acid Desaturase 2, *FAD*2)；硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 (Stearoyl-CoA Desaturase, *SCD*)；酰基辅酶 A 氧化酶 (Acyl-CoA Oxidase, *ACOX*)

图 4 孔石莼碳代谢和脂肪酸代谢过程对不同氮源的响应

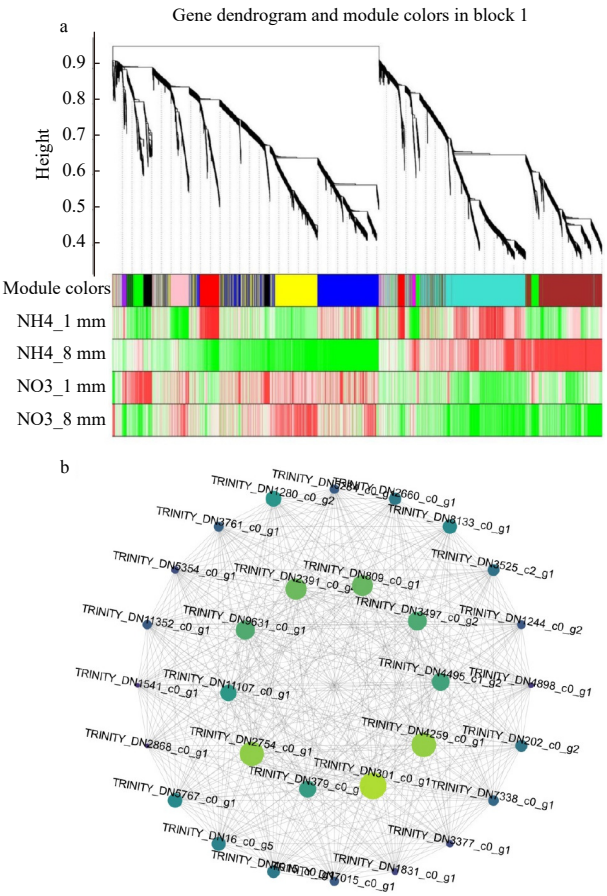
Fig. 4 Responses of carbon metabolism and fatty acid metabolism processes of *U. pertusa* to different nitrogen sources

8 mM 铵态氮培养条件下，*rbcS* 显著下调，这可能源于高浓度铵态氮的潜在毒性效应，其对核酮糖-1,5-二磷酸（ribulose-1,5-bisphosphate, RUBP）也会产生不利影响[28]，抑制卡尔文循环的碳同化效率，这为该处理组生物量下降提供了分子层面的解释。*pdhA* 的表达在铵态氮处理下升高，可能是铵态氮促进了丙酮酸向乙酰辅酶 A 的转化，进而为脂肪酸合成提供必要前体。此外，三羧酸循环相关基因的整体上调，增强了中心碳代谢通量，有利于 ATP 与还原力的生成[33]。上述碳代谢途径的协同调整，可能是因为 1 mM 铵态氮处理下较高的生长速率及总脂肪酸积累提供了能量与前体物质。在脂肪酸代谢途径中，*KAR*、*HACD*、*FadD* 和 *THEM4* 在铵态氮处理组表达上调，这可能与 1 mM 铵态氮条件下 C16:0 等饱和脂肪酸含量最高的结果有关，表明该氮源可能促进了脂肪酸的从头合成[34]。去饱和酶基因的上调，也为 1 mM 铵态氮处理组多不饱和脂肪酸含量较高的趋势提供了潜在解释。然而在 8 mM 铵态氮处理下，尽管 *SCD* 与 *FAD2* 表达上调，多不饱和脂肪酸含量却未显著高于同浓度硝态氮处理组，这可能与 *ACOX* 的显著上调有关，其表达增强可能导致 *β*-氧化途径被激活来促进多不饱和脂肪酸的分解代谢，将能量和前体物质重新导向 TCA 循环[35]。综上所述，氮源形态与浓度通过调控碳固定、中心代谢及脂质合成与分解相关基因的表达，影响了孔石莼的碳流分配与能量代谢，这为其生长与脂肪酸积累的差异提供了分子机制层面的解释。

2.5　加权基因共表达网络分析

为了探究孔石莼对铵态氮和硝态氮差异反应的分子机制，本研究对 8482 个已鉴定的差异基因进行了 WGCNA，并将其划分为 11 个共表达模块（图 5）。其中与脂肪酸合成和降解相关的基因主要集中于 turquoise 模块。提取 turquoise 模块的基因及其拓扑重叠矩阵（topological overlap matrix, TOM）用于子网络分析，并基于模块内连通性鉴定了前 5 个枢纽基因（表 2）。这些枢纽基因代表了该网络中最核心和最具潜在影响的节点，包括鸟苷三磷酸酶（GTPase）、钙调蛋白结合（calmodulin binding）和 GTP 3',8'-环化酶（GTP 3',8'-cyclase）等。

这些枢纽基因可能通过协同作用，将氮源信号传递至脂肪酸代谢途径。GTPase 作为关键信号节点，能响应氮源等环境信号，研究显示，GTPase 活性受脂肪酸载体蛋白（如 FABP5）调节，并能进一步影响脂蛋白分泌与脂肪酸运输[36]。此外，特定 GTPase 可在亚细胞水平调控脂肪酸的合成、储存与氧化，直接关联细胞能量代谢[37]。钙调蛋白作为钙信号传感器，已被证实在藻类中能够调控甘油三酯合成途径中多种关键酶的表达，如起始酶甘油-3-磷酸酰基转移酶（glycerol-



注：a 为基因聚类树状图与共表达模块识别；b 为关键模块（turquoise 模块）的基因共表达网络

Note: a is Gene dendrogram and module colors; b is Gene co-expression network of the key module (turquoise module)

图 5　基于加权基因共表达网络分析的孔石莼氮响应基因模块识别与核心网络

Fig. 5　Identification of co-expression modules and core network related to nitrogen response in *U. pertusa* via weighted gene co-expression network analysis

表 2 关键基因的功能注释

Tab.2 Functional annotations of key genes

Gene id	Connectivity	Function annotation
TRINITY_DN301_c0_g1	643.92	None
TRINITY_DN4259_c0_g1	641.78	GTPase
TRINITY_DN2754_c0_g1	641.36	Calmodulin binding
TRINITY_DN2391_c0_g4	638.42	None
TRINITY_DN809_c0_g1	637.99	GTP 3',8'-cyclase

3-phosphoacyltransferase, GPAT)和终端酶二酰甘油酰基转移酶(diacylglycerol acyltransferase, DGAT),驱动脂肪酸大量合成并储存为甘油三酯[38]。GTP 3',8'-环化酶则能通过催化生成环磷酸鸟苷(cyclic guanosine monophosphate, cGMP),激活下游转录因子[39],进而影响乙酰辅酶 A 羧化酶等脂肪酸合成关键酶的表达[40],该酶还参与钼辅因子合成,可能间接调节硝酸还原酶活性,进而影响硝态氮的利用效率[41]。上述结果表明,turquoise 模块中的枢纽基因可能通过参与信号转导、钙调蛋白依赖的脂代谢调控以及氮利用相关途径,共同介导了孔石莼对不同氮源的差异响应和脂肪酸代谢调控。

3 结 论

(1)低浓度(1 mM)铵态氮通过其低同化成本优势,协同促进了孔石莼藻体生长与饱和脂肪酸(如 C16:0)的储存,体现了高效的碳–氮协同代谢策略。

(2)高浓度(8 mM)铵态氮引发了胁迫效应,导致孔石莼生长显著受抑,培养后期甚至出现负增长,与此同时,藻体内 C22:6*n*-3 含量升高,这有助于维持膜的流动性及完整性,从而应对胁迫环境。

(3)硝态氮的促生长与促脂积累效应整体较弱,高浓度硝态氮增强了脂肪酸的碳稳定同位素分馏,尤其是在合成过程更复杂的 PUFAs 中。

(4)在分子水平上,铵态氮通过下调光合碳固定相关基因(如 *rbcS*)表达,同时上调中心碳代谢(如 *CS*、*ACO*)和脂肪酸合成相关基因(如 *KAR*、*FadD*)表达,促进了碳流和能量向脂质合成途径的重新分配。

(5)孔石莼通过感知氮源信号,动态调控碳、氮代谢流与关键基因表达,进而适应性调整脂肪酸组成,最终形成一套整合生理、代谢与分子层面的协同响应机制。这一机制系统揭示了藻体对氮源形态与浓度的适应策略,为评估和利用其在不同富营养化水域中的差异化修复效能提供了关键依据。

参考文献:

[1] 中华人民共和国生态环境部. 2023 年中国海洋生态环境状况公报 [R]. 北京: 中华人民共和国生态环境部, 2024.

[2] Bernhard A. The nitrogen cycle: processes, players, and human impact[J]. Nature Education Knowledge, 2010, 3(10): 25.

[3] Bao M L, Xing Q K, Park J S, et al. Temperature and high nutrients enhance hypo-salinity tolerance of the bloom forming green alga, *Ulva prolifera*[J]. Harmful Algae, 2023, 123: 102402.

[4] Xu D, Gao Z Q, Zhang X W, et al. Evaluation of the potential role of the macroalga *Laminaria japonica* for alleviating coastal eutrophication[J]. Bioresource Technology, 2011, 102(21): 9912-9918.

[5] Floreto E A T, Teshima S, Ishikawa M. Effects of nitrogen and phosphorus on the growth and fatty acid composition of *Ulva pertusa* kjellman (chlorophyta)[J]. Botanica Marina, 1996, 39(1/2/3/4/5/6): 69-74.

[6] Ak İ, Öztaşkent C, Özüdoğru Y, et al. Effect of sodium acetate and sodium nitrate on biochemical composition of green algae *Ulva rigida*[J]. Aquaculture International, 2015, 23(1): 1-11.

[7] Shajar F, Nabi A U, Manzoor A, et al. Membrane-associated mechanisms in plant responses to abiotic stress[J]. Plant Science, 2025, 360: 112726.

[8] Zhu Z, Sun J, Fa Y, et al. Enhancing microalgal lipid accumulation for biofuel production[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 1024441.

[9] Cao Z H, Shen X T, Wang X J, et al. Effect of nitrogen concentration on the alkalophilic microalga *Nitzschia* sp. NW129-a promising feedstock for the integrated production of lipids and fucoxanthin in biorefinery[J]. Frontiers in Marine Science, 2022, 8: 830590.

[10] Huete-ortega M, Okurowska K, Kapoore R V, et al. Effect of ammonium and high light intensity on the accumulation of lipids in *Nannochloropsis oceanica* (CCAP 849/10) and *Phaeodactylum tricornutum* (CCAP 1055/1)[J]. Biotechnology for Biofuels, 2018, 11(1): 60.

[11] El-sheekh M M, Mansour H M, Bedaiwy M Y, et al. Influence of nutrient supplementation and stress conditions on the biomass and lipid production of *Microchloropsis* salina for

biodiesel production[J]. Biomass Conversion and Biorefinery, 2024, 14(21): 27787-27797.

[12] Liu Y X, Liu Y, Li N, et al. Effect of oil spill stress on fatty acid stable carbon isotope composition of *Ulva pertusa*[J]. Science of the Total Environment, 2019, 649: 1443-1451.

[13] Remize M, Planchon F, Loh A N, et al. Fatty acid isotopic fractionation in the diatom *Chaetoceros muelleri*[J]. Algal Research, 2021, 54: 102164.

[14] Duarte A M, Carvalhal G, Assunção J, et al. Cultivation of *Ulva* sp. and *Gracilaria* sp. associated with a recirculating aquaculture system[J]. Journal of Applied Phycology, 2025, 37(3): 1525-1539.

[15] Ji Z W, Zou D H, Gong J Y, et al. The different responses of growth and photosynthesis to NH4+ enrichments between *Gracilariopsis lemaneiformis* and its epiphytic alga *Ulva lactuca* grown at elevated atmospheric CO_2[J]. Marine Pollution Bulletin, 2019, 144: 173-180.

[16] 刘宇馨. 溢油污染和微藻化感胁迫下孔石莼脂肪酸碳稳定同位素分馏效应 [D]. 大连: 大连海事大学, 2021.

[17] Liu Y, Zhang X F, Li Y, et al. The application of compound-specific isotope analysis of fatty acids for traceability of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) in the coastal areas of China[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2017, 97(14): 4912-4921.

[18] Glibert P M, Wilkerson F P, Dugdale R C, et al. Pluses and minuses of ammonium and nitrate uptake and assimilation by phytoplankton and implications for productivity and community composition, with emphasis on nitrogen-enriched conditions[J]. Limnology and Oceanography, 2016, 61(1): 165-197.

[19] Kang J W, Kambey C, Shen Z, et al. The short-term effects of elevated CO_2 and ammonium concentrations on physiological responses in *Gracilariopsis lemaneiformis* (Rhodophyta)[J]. Fisheries and Aquatic Sciences, 2017, 20(1): 18.

[20] Ale M T, Mikkelsen J D, Meyer A S. Differential growth response of *Ulva lactuca* to ammonium and nitrate assimilation[J]. Journal of Applied Phycology, 2011, 23(3): 345-351.

[21] Ruan Z X, Giordano M. The use of NH_4^+ rather than NO_3^- affects cell stoichiometry, C allocation, photosynthesis and growth in the cyanobacterium *Synechococcus* sp. UTEX LB 2380, only when energy is limiting[J]. Plant, Cell & Environment, 2017, 40(2): 227-236.

[22] Kumar A, Bera S. Revisiting nitrogen utilization in algae: a review on the process of regulation and assimilation[J]. Bioresource Technology Reports, 2020, 12: 100584.

[23] Yu D C, Yin J, Wang Y H, et al. Nitrogen assimilation-associated enzymes and nitrogen use efficiency of *Pyropia yezoensis* (Rhodophyta) in nitrate-sufficient conditions[J]. Algal Research, 2022, 64: 102682.

[24] Fan W J, Liu Y, Xu X H, et al. Effects of HCO_3^- and CO_2 conversion rates on carbon assimilation strategies in marine microalgae: Implication by stable carbon isotope analysis of fatty acids[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2024, 209: 108530.

[25] Shtein I, Bar-on B, Popper Z A. Plant and algal structure: from cell walls to biomechanical function[J]. Physiologia Plantarum, 2018, 164(1): 56-66.

[26] Liang P X, Wang H Y, Hu X J, et al. Impact of the NH_4^+/NO_3^- ratio on growth of oil-rich filamentous microalgae *Tribonema minus* in simulated nitrogen-rich wastewater[J]. Journal of Water Process Engineering, 2024, 68: 106378.

[27] Suman K, Kiran T, Devi U K, et al. Culture medium optimization and lipid profiling of *Cylindrotheca*, a lipid- and polyunsaturated fatty acid-rich pennate diatom and potential source of eicosapentaenoic acid[J]. Botanica Marina, 2012, 55(3): 289-299.

[28] Parichehreh R, Gheshlaghi R, Mahdavi M A, et al. Investigating the effects of eleven key physicochemical factors on growth and lipid accumulation of *Chlorella* sp. as a feedstock for biodiesel production[J]. Journal of Biotechnology, 2021, 340: 64-74.

[29] Sittisaree W, Yokthongwattana K, Aonbangkhen C, et al. Effect of NH_4Cl supplementation on growth, photosynthesis, and triacylglycerol content in *Chlamydomonas reinhardtii* under mixotrophic cultivation[J]. Journal of Applied Microbiology, 2024, 135(10): lxae233.

[30] Katayama T, Rahman N A, Khatoon H, et al. Bioprospecting of tropical microalgae for high-value products: *n*-3 polyunsaturated fatty acids and carotenoids[J]. Aquaculture Reports, 2022, 27: 101406.

[31] Zhukova N V, Yakovleva I M. Modulations of photosynthetic membrane lipids and fatty acids in response to high light in brown algae (*Undaria pinnatifida*)[J]. Plants, 2025, 14(12): 1818.

[32] Liu Y X, Liu Y, Jiao D, et al. Synthesis and release of fatty acids under the interaction of *Ulva pertusa* and *Heterosigma akashiwo* by stable isotope analysis[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2021, 210: 111852.

[33] Cao C, Bao D Y, Xu L L, et al. Ocean acidification changes the interspecific competition of *Sargassum fusiforme* and *Ulva lactuca* by regulating carbon and nitrogen metabolism[J]. Harmful Algae, 2025, 148: 102908.

[34] Liu Y, Han J, Li Z J, et al. Heterologous expression of *Jatropha curcas fatty acyl-ACP thioesterase A* (*JcFATA*) and *B* (*JcFATB*) affects fatty acid accumulation and promotes plant growth and development in arabidopsis[J]. International Jour-

nal of Molecular Sciences, 2022, 23(8): 4209.

[35] Lacroux J, Atteia A, Brugière S, et al. Proteomics unveil a central role for peroxisomes in butyrate assimilation of the heterotrophic Chlorophyte alga *Polytomella* sp.[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 1029828.

[36] Melville D, Gorur A, Schekman R. Fatty-acid binding protein 5 modulates the SAR1 GTPase cycle and enhances budding of large COPII cargoes[J]. Molecular Biology of the Cell, 2019, 30(3): 387-399.

[37] Enkler L, Szentgyörgyi V, Pennauer M, et al. Arf1 coordinates fatty acid metabolism and mitochondrial homeostasis[J]. Nature Cell Biology, 2023, 25(8): 1157-1172.

[38] Yang J S, Li W L, Xing C, et al. Ca^{2+} participates in the regulation of microalgae triacylglycerol metabolism under heat stress[J]. Environmental Research, 2022, 208: 112696.

[39] Butryn A, Raza H, Rada H, et al. Molecular basis for GTP recognition by light-activated guanylate cyclase RhGC[J]. The FEBS Journal, 2020, 287(13): 2797-2807.

[40] García-villafranca J, Guillén A, Castro J. Involvement of nitric oxide/cyclic GMP signaling pathway in the regulation of fatty acid metabolism in rat hepatocytes[J]. Biochemical Pharmacology, 2003, 65(5): 807-812.

[41] Kruse I, Maclean A E, Hill L, et al. Genetic dissection of cyclic pyranopterin monophosphate biosynthesis in plant mitochondria[J]. Biochemical Journal, 2018, 475(2): 495-509.