### 多组学解析氯化镧对胶红酵母合成类胡萝卜素的 调节效应

张红#,温彤#,王志红,赵鑫,吴昊,项鹏程,马勇\*

包头师范学院 生态环境学院, 内蒙古 包头 014030

张红,温彤,王志红,赵鑫,吴昊,项鹏程,马勇.多组学解析氯化镧对胶红酵母合成类胡萝卜素的调节效应[J].生物工 程学报,2025,41(4):1631-1648.

ZHANG Hong, WEN Tong, WANG Zhihong, ZHAO Xin, WU Hao, XIANG Pengcheng, MA Yong. Multi-omics analysis of hormesis effect of lanthanum chloride on carotenoid synthesis in *Rhodotorula mucilaginosa*[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2025, 41(4): 1631-1648.

摘 要: 在稀土元素的诱导下微生物的次级代谢产物合成可发生调节效应(hormesis effect),但其 分子机制仍不明确。为了解析胶红酵母在氯化镧存在下调节效应的分子机理,本研究在胶红酵母 发酵培养基中添加不同浓度的氯化镧并测定类胡萝卜素含量,发现出现调节效应时 La<sup>3+</sup>促进和抑 制效应浓度分别为 0-100 mg/L、100-400 mg/L;在促进效应浓度下,有33 个基因表达量及55 个 代谢物合成量上调,85 个基因的表达量及123 个代谢物合成量下调,其中类胡萝卜素合成相关基 因除 AL1 外均表达上调,β-胡萝卜素、番茄红素、虾青素含量分别提高了10.74%、5.02%、3.22%; 在抑制效应浓度下,有5 个基因表达量及91 个代谢物合成量上调,35 个基因的表达量及138 个代 谢物合成量下调,β-胡萝卜素、番茄红素、虾青素含量分别下降了21.73%、34.81%、35.51%。表 明适宜浓度的稀土离子可以通过调节代谢途径的多种酶的酶活来调控次级代谢产物的合成进而产 生调节效应。本研究不仅增进了对稀土元素在生物体内作用机制的理解,而且为稀土元素在农业、 制药、医疗保健等领域的应用奠定了理论基础。

关键词:多组学分析;稀土元素;胶红酵母;类胡萝卜素;调节效应

<sup>#</sup>These authors contributed equally to this work.

环境生物技术・

资助项目:内蒙古自治区自然科学基金(2022MS03018, 2020MS03002);内蒙古自治区高等学校科学技术研究项目 (NJZY22022);内蒙古自治区研究生教育教学改革项目(JGCG2023137);包头师范学院高层次人才引进科研启动基金 (BTTCRCQD2018-17)

This work was supported by the Inner Mongolia Autonomous Region Natural Science Foundation (2022MS03018, 2020MS03002), the Science and Technology Research Project of Higher Education Institutions in Inner Mongolia Autonomous Region (NJZY22022), the Teaching Reform Project of Postgraduate Education in Inner Mongolia Autonomous Region (JGCG2023137), and the Research Initiation Fund of High-level Talents Introduction (BTTCRCQD2018-17).

<sup>\*</sup>Corresponding author. E-mail: besbandon@126.com

Received: 2024-07-03; Accepted: 2024-12-30; Published online: 2025-01-08

# Multi-omics analysis of hormesis effect of lanthanum chloride on carotenoid synthesis in *Rhodotorula mucilaginosa*

### ZHANG Hong<sup>#</sup>, WEN Tong<sup>#</sup>, WANG Zhihong, ZHAO Xin, WU Hao, XIANG Pengcheng, MA Yong<sup>\*</sup>

Institute of Ecology and Environment, Baotou Teachers' College, Baotou 014030, Inner Mongolia, China

Abstract: Hormesis effect has been observed in the secondary metabolite synthesis of microorganisms induced by rare earth elements. However, the underlying molecular mechanism remains unclear. To analyze the molecular mechanism of the regulatory effect of Rhodotorula mucilaginosa in the presence of lanthanum chloride, different concentrations of lanthanum chloride were added to the fermentation medium of Rhodotorula mucilaginosa, and the carotenoid content was subsequently measured. It was found that the concentrations of La<sup>3+</sup> exerting the promotional and inhibitory effects were 0-100 mg/L and 100-400 mg/L, respectively. Furthermore, the expression of 33 genes and the synthesis of 55 metabolites were observed to be up-regulated, while the expression of 85 genes and the synthesis of 123 metabolites were found to be down-regulated at the concentration range of the promotional effect. Notably, the expression of carotenoid synthesis-related genes except AL1 was up-regulated. Additionally, the content of  $\beta$ -carotene, lycopene, and astaxanthin demonstrated increases of 10.74%, 5.02%, and 3.22%, respectively. The expression of 5 genes and the synthesis of 91 metabolites were up-regulated, while the expression of 35 genes and the synthesis of 138 metabolites were down-regulated at the concentration range of the inhibitory effect. Meanwhile, the content of  $\beta$ -carotene, lycopene, and astaxanthin decreased by 21.73%, 34.81%, and 35.51%, respectively. In summary, appropriate concentrations of rare earth ions can regulate the synthesis of secondary metabolites by modulating the activities of various enzymes involved in metabolic pathways, thereby exerting the hormesis effect. The findings of this study not only contribute to our comprehension for the mechanism of rare earth elements in organisms but also offer a promising avenue for the utilization of rare earth elements in diverse fields, including agriculture, pharmaceuticals, and healthcare.

Keywords: multi-omics analysis; rare earth elements; *Rhodotorula mucilaginosa*; carotenoids; hormesis effect

类胡萝卜素是脂溶性萜类衍生物<sup>[1-2]</sup>,根据 化学结构特征,可将其分为"无氧胡萝卜素"和 "含氧叶黄素"<sup>[3]</sup>,前者仅由碳和氢元素构成,代 表性化合物有 α-胡萝卜素、β-胡萝卜素及番茄 红素等<sup>[4]</sup>。而后者则是含氧衍生物,如叶黄素、 角黄素、虾青素、岩藻黄质、胭脂红酸及十异 戊二烯黄素等<sup>[5]</sup>。类胡萝卜素广泛存在于植物、 微藻和微生物(细菌及酵母)中,目前已从 722 种 不同生物中发现了 1 204 种具有不同结构和功能 的天然类胡萝卜素(http://carotenoiddb.jp)<sup>[4]</sup>,而在 人体中发现的类胡萝卜素有 50 多种<sup>[6]</sup>。由于人 和动物无法自主合成类胡萝卜素,只能通过食 物摄取,并经体内代谢以满足健康所需。类胡 萝卜素的生物学活性基团主要包括多聚烯主 链、末端环状结构和含氧衍生物等,这些基团 共同赋予了类胡萝卜素在生物体中的多样生物 学功能,使其具有维生素 A 原活性,参与形成 光感受器中的视觉色素<sup>[7]</sup>、参与骨骼的形成和 重塑过程<sup>[8]</sup>、提升机体对疾病的抵御能力<sup>[9]</sup>,并 具有抗氧化功能<sup>[10-12]</sup>、抗癌功能<sup>[13-17]</sup>等一系列 重要生物学功能。

胶红酵母属于化能异养型微生物,能够利 用葡萄糖、番茄渣、玉米秸秆水解液及豆粕酶 解液等作为低成本碳氮源<sup>[18]</sup>。胶红酵母不仅富 含蛋白质、β-葡聚糖、多种脂肪酸及氨基酸等 营养物质,还含有核苷酸、虾青素、β-胡萝卜 素、维生素 E 等多种活性物质<sup>[19-20]</sup>。由于其具 有独特的营养价值和活性功能,可被广泛应用 于食品添加、功能性生物饲料制备、抗氧化剂 研发、生物催化作用、食品着色以及微生物拮 抗等多个领域<sup>[21-22]</sup>。

稀土元素对生物体具有调节效应(hormesis effect)<sup>[23]</sup>。当稀土元素在低浓度时,可诱导生 物的生长,但当浓度超过一定阈值时,便会对 生物的生长起到抑制作用。有研究表明低浓度 的 Ce<sup>3+</sup>能促进虾青素的积累,而高浓度则抑制 虾青素的合成<sup>[24]</sup>;稀土镧与钕对红假单胞菌的 细胞生长有刺激作用<sup>[25]</sup>;La<sup>3+</sup>与 Ce<sup>3+</sup>对红酵母 生长的影响呈现先增强后减弱的趋势<sup>[25]</sup>。但关 于微生物中稀土元素诱导的次级代谢产物调节 效应机制解析鲜见报道。

代谢组学作为系统生物学的最下游,能够 在揭示基因功能方面为研究提供终端信息,能 够直观反映生物体的代谢水平变化差异,推测 相关代谢途径和代谢网络<sup>[26]</sup>。代谢组学的研究 方法能够系统地分析生物体受到刺激前后所有 代谢物的变化情况<sup>[27]</sup>,进而全面了解生物体在 不同生理或病理状态下的生物学过程。转录组 测序(RNA sequencing, RNA-seq)技术是利用高 通量测序技术对生物体中的 RNA 进行反转录后 构建文库<sup>[28]</sup>,通过对不同样本品同时进行序列 测定可获得样本间不同的差异表达基因,用于 揭示特定生物代谢过程中的分子机制。

本研究选取胶红酵母作为研究对象,在培养基中添加不同浓度的氯化镧并测定类胡萝卜 素产量,明确其出现调节效应时氯化镧对应浓 度;采用转录组与代谢组多组学分析技术解析 在胶红酵母促进和抑制合成类胡萝卜素途径中 相关基因的差异表达情况,以期揭示胶红酵母 在氯化镧处理下合成类胡萝卜素调节效应的分 子机制,进而为阐明生物体内稀土元素所产生 的生物学效应提供理论参考和新的认识。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

#### 1.1.1 菌株

所用胶红酵母(Rhodotorula mucilaginosa) 为本实验室分离保藏,在本研究中被命名为 RM1。

#### 1.1.2 试剂与仪器

葡萄糖、柠檬酸钠、丙酮、正己烷均购自 天津市凯通化学试剂有限公司;酵母浸粉、蛋 白胨均购自北京奧博星生物技术有限责任公 司;琼脂购自北京酷来搏科技有限公司;氯化 镧购自上海麦克林生化科技有限公司;盐酸购 自天津市申泰化学试剂有限公司;50×TAE 电泳 缓冲液购自北京庄盟国际生物基因科技有限公 司;Prime Script<sup>TM</sup>单链 cDNA 合成反转录酶试 剂盒与 TB Green<sup>®</sup> Premix *Ex Taq*<sup>TM</sup> II 荧光定量 PCR 试剂盒均购自宝生物工程(大连)有限公司; 番茄红素、β-胡萝卜素、虾青素标准品均购自 大连美伦生物技术有限公司;甲醇(色谱纯)购自 成都市诺尔施科技有限责任公司。电子分析天 平[梅特勒-托利多仪器有限公司(常州)];纯水仪 (默克密理博公司); 全自动高压蒸汽灭菌锅 (Hirayama 公司); 生物安全柜[阿尔泰实验室设 备(北京)有限公司]; 生化培养箱(上海博迅实业 有限公司医疗设备厂);恒温培养摇床(上海一恒 科学仪器有限公司);高速离心机(赛默飞世尔科 技公司);紫外可见光分光光度计(赛默飞世尔科 技公司)。

#### 1.1.3 培养基及溶液

YPD 培养基(g/L): 酵母浸粉 10、蛋白胨 20、葡萄糖 20, 琼脂粉 20, 调 pH 至 7.0, 115 ℃ 灭菌 15 min。最适发酵培养基: 1.5%酵母浸粉、 2%葡萄糖、0.05%柠檬酸钠, 115 ℃灭菌 15 min。 LaCl<sub>3</sub>浓度梯度培养基: 在最适发酵培养基中分 别添加终浓度为 0、25、50、75、100、200、 300、400、500 mg/L 的 LaCl<sub>3</sub>。标准品配制: 用正己烷梯度稀释番茄红素、β-胡萝卜素、虾 青素标准贮备液,使其浓度分别为 0、20、40、 60、80、100、120 μg/mL。混合标准液:将 3 种 类胡萝卜素标准品溶液混合制备。

#### 1.2 方法

#### 1.2.1 菌株活化及发酵培养

将保存在-80 ℃冻存管中的菌株用灭菌牙 签在固体 YPD 培养基划线,30 ℃培养48 h, 得到活化后的菌株。用灭菌牙签挑取单菌落接 入 YPD 液体试管中,30 ℃、180 r/min 培养 12 h 后,以4%的接种量转接液体培养基中(100 mL 培养基/250 mL 三角瓶),30 ℃、180 r/min 培养 12 h,再以4%的接种量转接于不同浓度梯度的 LaCl<sub>3</sub>培养基中,30 ℃、180 r/min 培养 120 h, 每间隔 12 h 取 4 mL 发酵液作为后续实验样品。

#### 1.2.2 类胡萝卜素提取及含量测定

取上述发酵液,5000 r/min 离心 10 min 收 集菌体,无菌水洗涤3次。在菌体中加入3 mol/L 盐酸2 mL,处理40 min 后,将离心管放于沸水 浴加热3 min,立即置于冰水中冷却至室温, 5 000 r/min 离心 5 min 弃掉上清液,无菌水洗 涤 3 次。将收集后的菌体在 60 ℃烘至恒重后计 算菌体干重。在干菌体中分别加入 2 mL 丙酮, 摇床上 100 r/min 振荡 30 min, 5 000 r/min 离心 10 min 取上清液得到类胡萝卜素提取液。

将所得类胡萝卜素-丙酮浸提液在 190-650 nm 范围内进行紫外-可见光谱全波长扫描,观察谱 型并确定浸提液特征吸收峰,同时依据标准公 式计算菌体中类胡萝卜素含量。

## **1.2.3** 添加 LaCl<sub>3</sub> 后 RM1 代谢产物的代谢 组分析

测序样本处理:分别选取 LaCl<sub>3</sub>浓度为 100 mg/L及400 mg/L的发酵液作为代谢组分析 样品,以LaCl<sub>3</sub>浓度为0 mg/L的发酵液作为对 照。将种子液按4% (V/V)接种量分别转接于上 述3个浓度的培养基中,30℃、180 r/min 培养 120 h 后,5000 r/min、4℃离心10 min 收集菌 体,并使用 PBS 将菌体洗涤3次,迅速用液氮 处理,设置3个生物学重复。

代谢物的提取:称取 50 mg 的样本,溶解 于 400 μL 提取液,溶解后的样品在-10 ℃下研 磨 6 min 后低温超声提取胞内代谢物;将样品 于-20 ℃静置 30 min 后,13 000×g 离心 15 min 收集上清液,随即移至进样小瓶,用于上机分析。 设置 CK (0 mg/L LaCl<sub>3</sub>)为对照组,CL (100 mg/L LaCl<sub>3</sub>)与 CH (400 mg/L LaCl<sub>3</sub>)为实验组。

液相色谱-质谱联用检测及样本的质控:样品 首先经过前处理提取代谢物,使用 ThermoFisher Scientific 公司 Q Exactive<sup>TM</sup> HF-X 型液质联用 仪 (liquid chromatograph mass spectrometer, LC-MS)上机分析。色谱柱型号 ACQUITY UPLC HSS T3;柱温 40 ℃;进样量 3  $\mu$ L;流动相 A 相:95%水+5%乙腈(含 0.1%甲酸),B 相:47.5% 乙腈+47.5%异丙醇+5%水(含 0.1%甲酸);检测 波长 484 nm;流速 0.2 mL/min。样品经电喷雾 电离,分别采用正、负模式采集信息。每个样本分别移取20μL上清液混合后作为质控样本,设置3个重复。每9个样本中插入1个质量控制样本用于评估数据分析过程的稳定性。使用ThermoFisher Scientific Xcalibur 软件采集数据信息,采用主成分分析方法(principal component analysis, PCA)和偏最小二乘法判别分析方法(partial least squares discriminant analysis, PLS-DA)对所有样本进行分析。菌体样品的代谢组测序委托深圳微科盟科技集团有限公司完成。

代谢物的数据处理及分析:利用 Progenesis QI 软件进行代谢物注释、数据预处理等,最终 得到代谢物列表及数据矩阵,结合 t 检验和正 交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA; variable importance for the projection, VIP)筛选 出有差异的代谢物,筛选的标准为样本间代谢 物浓度的差异倍数(fold change, FC)>2, VIP>1。 采用 KEGG (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)数据库对差异代谢物所处的代 谢通路进行分析。

## **1.2.4** 添加 LaCl<sub>3</sub> 后 RM1 合成类胡萝卜素 基因的转录组分析

RNA 提取和文库的构建:按照相同条件收 集菌体,在液氮中研磨后使用 TRIzol 法提取菌 体总 RNA,琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 质量。 将合格的样品使用 Oligo-dT 磁珠富集具有 poly A 尾结构的 mRNA 分子,随后用二价阳离子将 mRNA 随机打断,以短片段为模板加入随机寡 核苷酸作为引物反转录合成 cDNA 第1链,然 后合成互补链并形成稳定的双链 cDNA;随后 用 AMPure XP beads 筛选出经过末端平整化、

加 A 尾反应以及测序接头的双链 cDNA,并进 行 PCR 反应获得 DNA 扩增文库。菌体样品的 转录组测序委托深圳微科盟科技集团有限公司 完成。 测序数据质控及转录本组装:Illumina 测序 平台完成菌体样品转录组测序后对 raw reads进 行筛选和过滤:(1) 需剔除测序序列中带有接头 的 reads;(2) 去除含 N 比例超过 10%的 reads; (3) 去除 Qphred≤20 的碱基数占整个 reads 长度 的 50%以上的 reads;(4) 去除 adapter 序列。 通过质控数据的统计可以得到 clean reads,并 对其进行 Q20、Q30、G+C 含量以及序列重复 水平等指标进行评价。利用 THISAT2 v2.0.5 软 件可将配对末端 clean reads 与参考基因组比对 并分析获得 mapped reads。通过测序覆盖度、 测序饱和度和不同区域 reads 分布情况等对测 序的比对结果进行质量评估<sup>[29]</sup>。采用 StringTie 软件进行组装拼接转录本,与已知转录本进行 比较并获得未注释信息的转录本。

测序数据的分析:从测序数据中提取每个基因或转录本的 reads 数,选择 DESeq2、DEGseq和 edgeR等软件进行差异表达基因分析。使用Benjamini和 Hochberg的方法来调整所得 P 值以控制错误发现率,校正后 P 值(false discovery rate, FDR)小于 0.05 的基因被认为存在差异表达;校正后的 P 值以及 log<sub>2</sub> fold change 绝对值作为显著差异表达的阈值。利用 GO (gene ontology)数据库对差异表达基因进行功能注释。

## **1.2.5** 转录组分析中差异表达基因的实时 荧光定量检测

筛选与 RM1 合成类胡萝卜素途径相关的 差异表达基因进行荧光定量 PCR 检测,以 26S rRNA 作为内参基因,使用在线软件设计引物 (https://sg.idtdna.com/scitools/Applications/Real Time PCR/default.aspx),引物序列等数据已提交至 国家微生物科学数据中心(登录号:NMDCX0001756)。 cDNA 的合成参照 PrimeScript<sup>TM</sup>单链 cDNA 合 成反转录试剂盒说明书完成。差异基因的表达 量检测使用 TB Green<sup>®</sup> Premix *Ex Taq*<sup>TM</sup> II 荧光定 量 PCR 试剂盒完成,并以无菌水作阴性对照,设 置 3 个重复。相对表达量的计算采用 2<sup>-△△Ct</sup>方法。 **1.2.6 添加 LaCl<sub>3</sub> 后类胡萝卜素组成分析** 

总类胡萝卜素提取物经 0.22 μm 的有机膜 过滤后,使用高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)对类胡萝卜素组 分进行分离和检测。HPLC 检测条件为柱温: 30 °C;进样量:20 μL;流动相:甲醇;检测波 长:484 nm;流速:0.2 mL/min。通过与标准品 比对出峰时间,鉴定得到类胡萝卜素所含组分, 通过已绘制完成的标准曲线计算各组分的含量。

### 2 结果与分析

#### 2.1 LaCl<sub>3</sub>对RM1合成类胡萝卜素的影响

将类胡萝卜素-丙酮浸提液进行 190-650 nm 范围内全波长扫描后可知在 484 nm 波长处呈 现最大吸收峰,在该波长下测定类胡萝卜素含 量为 173.45 μg/g DCW (dry cell weight) (120 h, LaCl<sub>3</sub>浓度 0 mg/L)。



#### 由图 1 可以看出, LaCl3 浓度在 0-100 mg/L

### 图 1 LaCl<sub>3</sub> 对 RM1 的生物量及类胡萝卜素含量 的影响

Figure 1 Effect of LaCl<sub>3</sub> on biomass and carotenoid content of RM1.

之间时,能够同时促进菌体的生长及类胡萝卜 素的合成,其中LaCl<sub>3</sub>浓度为100 mg/L时,类胡 萝卜素含量达最大值248.82 µg/g DCW (120 h),相 较对照组增加了43.45%。LaCl<sub>3</sub>浓度大于100 mg/L 时,菌体的生长逐渐减慢,类胡萝卜素的含量 也同步减少。

## 2.2 添加 LaCl<sub>3</sub> 后 RM1 代谢产物分析2.2.1 样本质控及代谢物定性定量分析

根据代谢物在不同样本间的表达,采用主 成分分析方法(PCA)和偏最小二乘法判别分析 方法(PLS-DA)对所有样本进行分析,如图 2A 所示, QC 代表混合的质控样本, QC 聚合度越 高,说明系统稳定性高,重复性良好。不同分 组在 0.95 的置信区间, CK、CL、CH 这 3 组组 内样本重复性较好, CK 与 CL、CK 与 CH 组间 代谢物分布差异较大。如图 2B 所示,将处理后 的定量表格进行帕莱托换算(Par),进行 PLS-DA 分析, 散点图中的每组样本的置信区间为 0.95, PLS-DA 可以有效地对组间观察值进行区分, 2 个不同处理样品都有明显分离,组内聚类也 较明显,提示2组之间的代谢组差异显著。如 图 2C 所示,当 R2Y 与 Q2 的累计值趋近于1时, 意味着模型的稳定性和可靠性越高。如图 2D 所示,经过200次随机模型置换检验后,若Q2 的回归线与Y轴的截距保持在0.05以下,那么 可判定该模型是可靠且有效的。

根据代谢数据的定量统计信息,通过一、 二级质谱数据搜库后最终鉴定到的正离子模式 (positive ion mode, POS)代谢物数目为 485,负 离子模式(negative ion mode, NEG)代谢物数目 为 342 (国家微生物科学数据中心,登录号: NMDCX0001756)。

#### 2.2.2 代谢物 KEGG 功能富集分析

KEGG 化合物分类是按照代谢物参与的生物学功能层级进行分类,纵坐标为 KEGG 代谢通路的二级分类,横坐标为注释到该通路



**图 2 样本质控结果分析** A: 样本主成分分析; B: 代谢物 PLS-DA 得分; C: PLS-DA 模型概览; D: PLS-DA 模型的验证。

Figure 2 Analysis of sample QC results. A: Principal component analysis of samples; B: Partial least squares discriminant analysis of samples; C: Overview of PLS-DA model; D: Validation of PLS-DA model.

下的化合物个数<sup>[27]</sup>。经分析可知代谢通路主要 包括以下几类: metabolism (共涉及 337 个通 路), genetic information processing (共 35 个通 路), environmental information processing (共 15 个通路), 以及 cellular processes (共 2 个通路) (国家微生物科学数据中心,登录号: NMDCX0001756)。

其中 metabolism 中有抗坏血酸和醛酸代谢 (KEGG 代谢路径图编号为 map01100; map00053)、泛醌和其他萜类醌生物合成(KEGG 代谢路径图编号为 map01100; map00130; map01110; map00350; map00904)、谷胱甘肽 代谢(KEGG 代谢路径图编号为 map00480; map00770; map01100; map01240; map00330; map00410; map02010; map00330; map01053; map00410)、萜类主链生物合成(KEGG 代谢路 径图编号为 map00900)、二萜生物合成(KEGG 代谢路径图编号为 map01100; map00904; map01110)、类胡萝卜素生物合成(KEGG 代谢路径图编号为 map00906)、倍半萜和三萜生物合成(KEGG 代谢路径图编号为 map00909)。

#### 2.2.3 添加 LaCl<sub>3</sub> 后差异代谢物分析

通过 PLS-DA 分析获得的 VIP 值和单变量 分析获得的 P 值将被用于筛选对照组与 LaCl<sub>3</sub> 处理组间的显著差异代谢物。阈值设置为: VIP≥1 且 P-value<0.05。CL 处理组共得到 178 个差异代谢物,包括 55 个上调代谢物和 123 个下调代谢物。CH 处理组共得到 229 个差 异代谢物,包括 91 个上调代谢物和 138 个下调 代谢物(国家微生物科学数据中心,登录号: NMDCX0001756)。

#### 2.2.4 iPath 代谢通路分析

利用 iPath 3.0 能够对代谢通路进行可视化 分析,能够明确次生代谢产物生物合成的通路 图。不同 LaCl, 处理组所产生的差异次生代谢 物被分配到对应的代谢通路中(国家微生物科 学数据中心,登录号: NMDCX0001756)。不同 LaCl, 处理组均存在次级代谢产物差异的途径 如下:类胡萝卜素的生物合成(carotenoid biosynthesis)、卟啉和叶绿素代谢(porphyrin and chlorophyll metabolism)、戊糖磷酸途径(pentose phosphate pathway)、嘌呤代谢(purine metabolism); CH 处理组单独存在的次级代谢产物差异的途 径如下:铁载体群非核糖体肽的生物合成 (biosynthesis of siderophore group nonribosomal peptides)、甘油磷脂代谢(glycerophospholipid metabolism)、三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle)、类黄酮生物合成(flavonoid biosynthesis)。

### 2.3 添加 LaCl<sub>3</sub>后 RM1 的转录组分析

2.3.1 测序数据的质控和序列比对分析

收集添加浓度为 0、100、400 mg/L LaCl<sub>3</sub> 且培养至 120 h 的菌体,分别设置为 CK、CL、 CH 样本。样本中的 Q20≥98.12,Q30≥93.58, 各组数据的重复性较好;经过质量控制后的原始数据与参考基因组进行比对,其映射率均超过了93.66%,呈现高度的一致性(国家微生物科学数据中心,登录号:NMDCX0001756)。

#### 2.3.2 基因表达量统计及样本相关性分析

根据基因的长度计算每千碱基读段中来自 某转录本的读段数(fragments per kilobase million, FPKM),并计算映射到该基因的读数<sup>[27]</sup>。 为了衡量和比较基因或转录本在不同样本中的 表达水平,对表达量矩阵进行差异表达分析并 绘制表达量分布图,结果如图 3A 所示,各组 平行样本间基因表达量具有很高的一致性,大 多数基因在各组样本中均表达较好。

如图 3B、3C 所示,样本间的主成分分析 (PCA)和相关性分析表明生物学重复性良好,实 验结果具有较高的可信度。如图 3D 所示,在 CK、CL、CH 中检测到的基因总数约为 6 947 个, 上述三者中均含有的基因数量占基因总数的比 例为 99.27%。

#### 2.3.3 差异表达基因及其功能富集分析

(1) 差异表达基因分析

为了筛选 LaCl<sub>3</sub>对照组与处理组间的差异表 达基因,经下述条件筛选后(校正后的 P 值需小 于 0.05,且|log<sub>2</sub> fold change|>1)可知在 CL 中共 有 118 个基因表达量发生变化,其中有 33 个基 因表达上调,85 个基因表达下调。在 CH 中共 有 40 个基因表达量发生变化,其中有 5 个基因 表达上调,35 个基因表达下调(图 4)。

(2) GO 功能注释和富集分析

所得的基因经过 GO 富集分析后总共6 874个 基因被注释到 3 个主要的 GO 功能类别,分别 是生物学过程(biological process, BP)、细胞成分 (cellular component, CC)以及分子功能(molecular function, MF),这些分类如图 5 所示, GO 富集



**图 3 样本基因表达量及相关性分析** A: 样本表达量分布; B: 样本间 PCA; C: 样本相关性热图; D: 样本相关性韦恩图。

Figure 3 Analysis of correlation and sample gene expression. A: Sample expression distribution; B: Inter-sample PCA; C: Sample correlation heatmap; D: Sample correlation Venn plot.



#### 图 4 样本间差异表达基因

Figure 4 Differentially expressed genes between samples. A: CL vs. CK; B: CH vs. CK.

圖: 010-64807509



图 5 举囚功能备集刀机

Figure 5 Gene function enrichment analysis.

显著的是细胞过程(cellular process, 5 468 个 unigenes)、代谢过程(metabolic process, 4 106 个 unigenes)、单生物体过程(single-organism process, 2 314 个 unigenes)、细胞(cell, 3 424 个 unigenes)、细胞部分(cell part, 3 654 个 unigenes)。进一步 分析可知 3 898 个 unigenes 呈现分子功能分类 中的抗氧化活性(antioxidant activity)。

### 2.3.4 添加 LaCl<sub>3</sub> 后 RM1 合成类胡萝卜素 相关差异表达基因

在不同 LaCl<sub>3</sub>处理组中,以|log<sub>2</sub> fold change| ≥1.2 作为选择标准,得到胶红酵母合成类胡萝 卜素过程中相关差异表达基因。在这些基因中 (图 6),*GGPPS* (GenBank 登录号:KT320870.1)、 *HMGCR* (GenBank 登录号:KY652916)、*AL2* (GenBank 登录号: KR108013)、*AL1* (GenBank 登录号:KR108014)、*IPP1* (GenBank 登录号: KY652916) 、*CAR1* (GenBank 登录号: KX620448.1) 、*CAR2* (GenBank 登录号: KU980958)与虾青素、番茄红素和 β-胡萝卜素 的生物合成密切相关。

类胡萝卜素的生物合成始于乙酰辅酶 A, 经 过甲羟戊酸(mevalonic acid, MVA)途径转化为异 戊烯基焦磷酸(isopentenyl pyrophosphate, IPP)和二 甲基丙烯基二磷酸(dimethylallylpyrophosphate, DMAPP)这 2 个萜类中间产物。值得注意的是, 在 LaCl<sub>3</sub>处理组中, *IPP1*的表达上调了 1.53 倍, 这显示了异戊烯基二磷酸异构酶在 DMAPP 合成 中的重要作用。*HMGCR* 的表达上调了 1.27 倍, 用于积累更多的 MVA。*AL2* 编码的番茄红素环化 酶 催 化 法 尼 基 焦 磷 酸 (farnesyl pyrophosphate, FPP)的合成,表达量上调了 2.53 倍。

FPP 下游存在 3 条支路产物途径,分别生成 辅酶 Q10 (coenzyme Q10)、甾醇(sterols)和牻牛儿 基牻牛儿基焦磷酸(geranylgeranyl pyrophosphate, GGPP)。*CAR1* 的表达上调了 1.51 倍,用于催化



#### 图 6 样本间差异表达基因分析

Figure 6 Analysis of differentially expressed genes between samples. A: CL vs. CK; B: CH vs. CK.

八氢番茄红素 (phytoene)脱氢生成番茄红素 (lycopene)。*CAR2* 催化 GGPP 生成 phytoene, 表达上调了 1.85 倍。然而,作为催化由 FPP 生 成牻牛儿基牻牛 GGPP 这一关键步骤的酶 AL1 表达量下调了 1.94 倍。

## **2.3.5** 添加 LaCl<sub>3</sub> 后 RM1 差异表达基因的 实时荧光定量 PCR 检测

为了验证前述经 Illumina 平台转录组测序 结果的可靠性,使用实时荧光定量 PCR (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)检测参与类胡萝卜素合成的部分基因 的表达水平。如图 7 所示,在 CL 处理中,AL1 (-1.97)出现下调,其余均上调[HMGCR (1.28)、 IPP1 (1.54)、AL2 (2.65)、ERG9 (2.12)、CAR1 (1.51)和 CQ10 (1.70)]。在 CH 处理中,所有被 检测基因均出现下调[AL1 (-2.73)、HMGCR (-1.78)、IPP1 (-1.57)、AL2 (-1.71)、ERG9 (-1.38)、CAR1 (-1.72)和 CQ10 (-0.95)]。

qRT-PCR 实验检测所获结果与 Illumina 平 台转录组测序结果相符,证明了前述转录组测 序结果的可靠性。



#### 图 7 RM1 合成类胡萝卜素相关基因差异表达 验证

Figure 7 The variation in expression levels of metabolism-related genes involved in carotenoid synthesis in *Rhodotorula mucilaginosa*.

2.4.1 HPLC 检测标准品及回归方程建立

以标准品浓度为 X 轴, HPLC 检测样品峰 面积为 Y 轴, 绘制番茄红素、β-胡萝卜素、虾 青素浓度标准曲线并建立线性回归方程,所用 标准品的浓度在 0–120  $\mu$ g/mL 的范围内具有良 好的线性关系,上述 3 个标准品的回归方程分 别为: y=83.467 0x+0.041 6,  $R^2$ =0.999 3; y=63.958 1x-7.338 3,  $R^2$ =0.996 7; y=17.331 6–22.000 8x,  $R^2$ =0.999 1。

将类胡萝卜素混合标准溶液经 0.22 μm 亲水 滤膜过滤后加入进样瓶中备检。经 HPLC 检测标 准品混合物可知 β-胡萝卜素、番茄红素及虾青 素的出峰时间,用于后续样品组分分析(国家微 生物科学数据中心,登录号:NMDCX0001756)。

通过 HPLC 将 LaCl<sub>3</sub>处理组中类胡萝卜素组 分进行定量分析(国家微生物科学数据中心,登录 号:NMDCX0001756),在 LaCl<sub>3</sub>浓度为 100 mg/L 时,β-胡萝卜素、番茄红素、虾青素物质含量分 别为48.1206、23.7866、13.6202 μg/g DCW,较 对照各组分含量分别提高了 10.74%、5.02%、 3.22%。在 LaCl<sub>3</sub>浓度为 400 mg/L 时,β-胡萝卜 素、番茄红素、虾青素物质含量分别为 34.011 1、 14.7652、8.5096 μg/g,较对照各组分含量分别下 降了 21.73%、34.81%、35.51%。

## 2.4.2 LaCl<sub>3</sub> 对胶红酵母合成类胡萝卜素调 节效应的分子机制模型

在较低浓度的 LaCl<sub>3</sub>存在下(≤100 mg/L), 通过上调 *HMGCR* 基因的表达量使重要中间产 物 MVA 合成量增加(图 8),同时,上调基因 *IPP1* 及 *AL2* 使得 FPP 大量合成,通过下调基因 *AL1* 的表达量调节 GGPP 的合成量,适度上调 *CAR2* 和 *CAR1* 导致 lycopene 的合成量增加,进一步 促进虾青素合成量的增加;在较高浓度的 LaCl<sub>3</sub>



**图 8 LaCl<sub>3</sub> 对 RM1 合成类胡萝卜素 hormesis 效应的分子机制模型** 图中红色代表上调基因;蓝色 代表下调基因。

Figure 8 Molecular mechanism of hormesis effect during synthesis of carotenoids in RM1 with LaCl<sub>3</sub>. Red in the figure represents up-regulated genes; Blue represents down-regulated genes.

存在下(≥100 mg/L 且≤400 mg/L),逐渐下调类 胡萝卜素合成途径中所有关键基因的表达量, 导致类胡萝卜素合成量逐渐减少。值得注意的 是,在该条件下 *FPR1* 上调,甲酰肽受体 1 (formyl-peptide receptor 1, FPR1)具有趋化特 性,能够检测有害分子,将细胞驱向有害分子 释放的部位,其特征是在组织破坏过程中出现 来自细菌或线粒体的 N-甲酰肽。FPR1 具有多 种功能,包括通过趋化作用诱导细胞黏附和招 募的免疫细胞定向迁移,以及颗粒释放和超氧 化物形成。

### 3 讨论与结论

微量的稀土离子在特定的浓度范围内,对 微生物的生长繁殖具有显著的促进作用<sup>[30-33]</sup>。 然而,稀土离子的浓度超出这个适宜范围,微 生物的生长将会受到明显的抑制。这表明稀土 离子对微生物的生长繁殖具有双向效应,这种 现象被称为调节效应<sup>[34]</sup>。调节效应是生物体在 长期自然选择过程中形成的抵抗金属离子胁迫 的生存机制,其主要功能涵盖了迅速修复由胁 迫因素导致的损伤,并确保生物体在经历一次 胁迫后能够减少或避免再次受到类似伤害。此 外,即使未来不再面临相同的胁迫,这些功能 也有助于生物体更好地抵御环境中其他潜在的 不利因素,从而提升其整体的生存能力和适应 性<sup>[23,35]</sup>。这一机制的重要性在于,当生物体的 自稳状态(homeostasis)受到破坏时,它能够迅速 发挥作用,帮助生物体恢复到原有的稳定状态。 这种快速恢复的能力对于生物体在多变和不可

窗: 010-64807509

预测的环境中生存至关重要,因为它确保了生物体在面对各种内部和外部的扰动时,能够保持其正常的生理功能和结构。

目前,稀土元素所产生的调节效应可被应 用于农业生产中,肥料中添加适当的稀土元素 可以提高燕麦的抗逆性[36],稀土元素镧添加到 水稻和玉米中,能够显著提高作物的叶绿素浓 度,增强光合作用效率,从而增加产量<sup>[37]</sup>。有 研究表明<sup>[24]</sup>,低浓度的 Ce<sup>3+</sup>能促进虾青素的积 累,而高浓度则抑制虾青素的合成。稀土镧与 钕对红假单胞菌的细胞生长有刺激作用<sup>[25]</sup>,分 别在浓度为 25 mg/L (La<sup>3+</sup>)和 50 mg/L (Nd<sup>3+</sup>)时, 对类胡萝卜素合成有显著的提高,75 mg/L 为最 小抑制浓度,随着稀土镧与钕浓度的增加进而 抑制了该菌种的生理代谢。研究者也指出 La<sup>3+</sup> 与 Ce<sup>3+</sup>在适宜浓度时会促进红酵母的生长及类 胡萝卜素的产量,但浓度达到一定阈值后,其 对红酵母生长起到抑制作用[25]。诸多研究表明, 在不同的培养基中添加稀土元素的最适浓度 有所不同, 蜡状芽孢杆菌(Bacillus cereus) (40-50 mg/L La<sup>3+</sup>)<sup>[38-39]</sup>、谷氨酸棒状杆菌 (Corynebacterium glutamicum) (5-10 mg/L La<sup>3+</sup>)<sup>[40]</sup>、哈茨木霉菌(Trichoderma harzianum Rifai) (0.1 mmol/L La<sup>3+</sup>)<sup>[41]</sup>、软紫草[Arnebia euchroma (Royle) I. M. Johnst.] (0.02 mmol/L La<sup>3+</sup>)<sup>[42]</sup>、水母雪兔子(Saussurea medusa Maxim.) (0.5 mmol/L La<sup>3+</sup>)<sup>[43]</sup>、大肠杆菌(Escherichia coli) (50 mg/L La<sup>3+</sup>)<sup>[44]</sup>,在上述稀土元素浓度下菌体 或组织呈现最大生长量。在本研究的胶红酵母 中,当LaCl3浓度为100 mg/L时,类胡萝卜素 含量及菌体生物量均达到最大值,发生调节效应 的稀土元素浓度与前人研究结果基本相符。

在添加稀土离子后利用多组学分析技术从 分子机制角度解析调节效应的本质尚未见相关 报道。Calabrese 等<sup>[45-46]</sup>提出的过度补偿效应, 是当体内平衡受到挑战时的一种响应机制。这 一效应明确指出,在低剂量有害物质的刺激下, 生物体会产生积极的适应性反应,进而提升机 体的正常功能。具体来说,当机体遭遇低剂量 有害物质时,首先会经历一个短暂的抑制阶段, 但随后会触发一个补偿过程。当这个补偿作用 的力量超过初始的抑制效应时, 整体效应将表 现为一种刺激或增强作用。然而,当有害物质 浓度达到高水平时,其产生的抑制效应会超过 机体的补偿能力,从而导致整体效应呈现为抑 制状态。这一现象在许多研究中得到了验证, 特别是在探讨调节效应时,即生物体在低剂量 暴露于某些化学物质或物理因素时,会展现出 一种剂量/效应的 U 型曲线模式, 这种模式包含 了最初的抑制和随后的补偿,进而产生过度补 偿的效果<sup>[46]</sup>。因此,过度补偿效应是生物体在 面临环境压力时的一种自适应机制,体现了生 物体在维持体内平衡方面的复杂性和灵活性。 本研究所获得的转录组及代谢组的研究结果与 过度补偿效应的机制基本吻合。

稀土离子对合成酶、氧化酶、还原酶、裂 解酶以及水解酶等关键酶类的活性具有显著且 多样化的影响。这些影响可能表现为酶活性的 增强、抑制或调节,具体取决于稀土离子的种 类、浓度以及酶的种类和反应条件。稀土离子 通过其独特的电子构型和化学性质,能够与酶 的活性中心或调节位点发生相互作用,从而改 变酶的催化效率或调节其催化功能。在发酵过 程中,低浓度的 Ce<sup>3+</sup>对菌体内的乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH)和谷氨酸脱氢酶 (glutamate dehydrogenase, GDH)的酶活性均产 生显著的增强作用。然而,当 Ce<sup>3+</sup>的浓度升高 时,这 2 种酶的活性则会受到明显的抑制。因 此,在发酵过程中控制 Ce<sup>3+</sup>的浓度,对于优化 这 2 种酶的活性,进而提高发酵效率和产物质 量具有重要意义<sup>[40]</sup>。部分甲基营养型微生物, 如扭脱甲基杆菌<sup>[47-48]</sup>、嗜甲烷杆菌<sup>[49]</sup>,在添加 适宜浓度的稀土元素后,能够使胞内的甲醇脱 氢酶(methanol dehydrogenase, MDH)活性显著 增加。高浓度稀土对土壤中的细菌、放线菌、 真菌、霉菌及土壤中脱氢酶和过氧化氢酶活性 具有一定的抑制作用<sup>[50-51]</sup>。镧和铽对辣根过氧 化酶存在调节效应;镧对黑曲霉存在调节效应; 汞和铜对木瓜蛋白酶存在调节效应;镍对秀丽线 虫存在调节效应;镨对蚕豆存在调节效应<sup>[52-56]</sup>。

本研究完成胶红酵母转录组测序分析后发 现,加入稀土元素之后(100 mg/L),有33个基 因表达上调,85 个基因表达下调,La<sup>3+</sup>调控的 基因数量越多,说明菌株的基因组不稳定性越 高,吸收能力也越强<sup>[27]</sup>。上调表达的基因中包 含合成类胡萝卜素代谢途径中的关键酶,促使 类胡萝卜素中的相关主要成分的含量增加,稀 土元素浓度为400 mg/L,有5个基因表达上调, 35个基因表达下调。在 La<sup>3+</sup>促进效应浓度下, 代谢通路分析结果显示类胡萝卜素的生物合成 途径中次级代谢产物存在明显差异,如重要中 间产物 MVA、FPP 的含量与关键基因 HMGCR、 AL2, 类胡萝卜素的重要组分 lycopene 的含量 与 CAR2、CAR1 的表达量呈现同步上调,在 La<sup>3+</sup> 抑制效应浓度下,上述代谢物与基因表达量同 步下调,多组学分析结果发现,类胡萝卜素代 谢途径中相关产物含量的变化趋势与合成关 键酶呈正相关。经 HPLC 验证促进效应浓度下 β-胡萝卜素、番茄红素、虾青素物质含量分别 提高了 10.74%、5.02%、3.22%, 这一结果在转 录组测试中得到印证。导致该现象的原因可能 是由于 La<sup>3+</sup>在理化性质和结构上都与钙离子 Ca<sup>2+</sup>高度相似,但其独特的电荷量更高的特点 使其相较于钙离子更容易与受体蛋白结合。 Pickard 的研究首次证实了这一点,他发现镧离 子和钙离子在生物学功能上具有相似性,都能够 参与调节酶的活性以及酶的合成过程<sup>[57]</sup>。值得 注意的是,无论稀土离子浓度高低,*AL1* 基因 始终表现下调状态,可能由于稀土离子可能作 为该酶的负调控因子参与表达调控<sup>[58]</sup>, Zhang 等<sup>[59]</sup>研究了 Dy<sup>3+</sup>和 Nd<sup>3+</sup>对α-淀粉酶的基因诱导 表明稀土离子使得该酶基因的第 11 个和 14 个 碱基被改变,从而提高了酶活。

综上,本研究发现,在胶红酵母合成类胡 萝卜素出现调节效应时 La<sup>3+</sup>促进和抑制效应浓 度分别为 0-100 mg/L、100-400 mg/L; 在促进 效应浓度下类胡萝卜素合成相关基因除 ALI 外,均不同程度表达上调,在抑制效应浓度下 类胡萝卜素合成相关基因表达全部下调。上调 差异代谢物主要存在于抗坏血酸和醛酸代谢、 泛醌和其他萜类醌生物合成、谷胱甘肽代谢、 萜类主链生物合成、二萜生物合成、类胡萝卜 素生物合成、倍半萜和三萜生物合成途径中。 经 HPLC 证实促进效应浓度下 β-胡萝卜素、番 茄红素、虾青素物质含量分别提高了10.74%、 5.02%、3.22%。在抑制效应浓度下分别下降了 21.73%、34.81%、35.51%。综上可知,适宜浓 度的稀土离子可以通过调节代谢途径的多种酶 的酶活来调控次级代谢产物的合成进而产生调 节效应。这一研究成果不仅将增进对稀土元素 在生物体内作用机制的理解, 而且为稀土元素 在农业、制药、医疗保健等领域的应用开辟了 更为广阔的前景。

#### 作者贡献声明

张红:方案设计、实验操作、初稿写作; 温形、王志红:数据管理、方案设计、提供材料;赵鑫、吴昊、项鹏程:数据管理、实验操 作、稿件润色修改;马勇:监督指导、经费支 持、稿件润色修改。

### 作者利益冲突公开声明

作者声明没有任何可能会影响本文所报告 工作的已知经济利益或个人关系。

#### REFERENCES

- 张亮,韦阳,高彦祥.超临界流体制粒在类胡萝卜素 微粒中的应用[J]. 食品研究与开发,2020,41(6): 181-188.
   ZHANG L, WEI Y, GAO YX. Application on the preparation of carotenoid particles by supercritical fluid granulation[J]. Food Research and Development, 2020,41(6): 181-188 (in Chinese).
- [2] ZHANG G, ZHANG WS, WANG XY, YANG Y, JI DW, WAN BS, CHEN QG. Ni-catalyzed unnatural prenylation and cyclic monoterpenation of heteroarenes with isoprene[J]. Chinese Journal of Catalysis, 2023, 49: 123-131.
- [3] 张笑颖, 徐建中, 高伟. 叶黄素微囊粉制备及体外溶 出度研究[J]. 中国食品添加剂, 2023, 34(12): 175-180. ZHANG XY, XU JZ, GAO W. Preparation and *in vitro* dissolution of lutein microcapsule powder[J]. China Food Additives, 2023, 34(12): 175-180 (in Chinese).
- [4] SAINI RK, KEUM YS. Carotenoid extraction methods: a review of recent developments[J]. Food Chemistry, 2018, 240: 90-103.
- [5] 于雪,张威,吴玉洁,陈拓,刘光琇. 微生物产色素 机制及其生物活性[J]. 微生物学报, 2022, 62(4): 1231-1246.
  YU X, ZHANG W, WU YJ, CHEN T, LIU GX. Production mechanism and biological activity of microbial pigments[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2022, 62(4): 1231-1246 (in Chinese).
- [6] 汤皓, 程亚田, 郭娟, 包纪辰, 黃璐琦. Cas9 表达对 酿酒酵母细胞生长和生产天然产物的影响及 CRISPR-Cas9 编辑系统的优化[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(15): 4066-4073.
  TANG H, CHENG YT, GUO J, BAO JC, HUANG LQ. Effects of Cas9 expression on cell growth and production of natural products in *Saccharomyces cerevisiae* and optimization of CRISPR-Cas9 editing system[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2022, 47(15): 4066-4073 (in Chinese).
- [7] YABUZAKI J. Carotenoids database: structures, chemical fingerprints and distribution among organisms[J]. Database, 2017, 2017(1): bax004.
- [8] 贾宏信,王凤仙.叶黄素、玉米黄质与婴幼儿健康的 研究进展[J]. 食品工业, 2019, 40(9): 325-330. JIA HX, WANG FX. Advances in the research of lutein and zeaxanthin on infant health[J]. The Food Industry, 2019, 40(9): 325-330 (in Chinese).
- [9] 汪蓓蓓,陶懂谊.类胡萝卜素对人类健康的影响研究与展望[J].微量元素与健康研究,2011,28(4):55-59.
  WANG BB, TAO DY. Research and prospect on the effects of carotenoids on human health[J]. Studies of Trace Elements and Health, 2011, 28(4):55-59 (in Chinese).
- [10] KURNIAWAN R, NURKOLIS F, TASLIM NA,

http://journals.im.ac.cn/cjbcn

SUBALI D, SURYA R, GUNAWAN WB, ALISAPUTRA D, MAYULU N, SALINDEHO N, KIM B. Carotenoids composition of green algae *Caulerpa racemosa* and their antidiabetic, anti-obesity, antioxidant, and anti-inflammatory properties[J]. Molecules, 2023, 28(7): 3267.

- [11] MIŞE YONAR S, YONAR ME, PALA A, SAĞLAM N, SAKIN F. Effect of trichlorfon on some haematological and biochemical changes in *Cyprinus carpio*: the ameliorative effect of lycopene[J]. Aquaculture Reports, 2020, 16: 100246.
- [12] 陈建平,陈曦,钟赛意,秦小明.番茄红素对人体血 清自由基的清除作用[J]. 食品工业科技, 2018, 39(24): 309-312, 317.
  CHEN JP, CHEN X, ZHONG SY, QIN XM. Scavenging effect of lycopene on free radical of human serum[J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(24): 309-312, 317 (in Chinese).
- [13] NAGENDRAPRABHU P, SUDHANDIRAN G. Astaxanthin inhibits tumor invasion by decreasing extracellular matrix production and induces apoptosis in experimental rat colon carcinogenesis by modulating the expressions of ERK-2, NFkB and COX-2[J]. Investigational New Drugs, 2011, 29(2): 207-224.
- [14] KOWSHIK J, BABA AB, GIRI H, DEEPAK REDDY G, DIXIT M, NAGINI S. Astaxanthin inhibits JAK/STAT-3 signaling to abrogate cell proliferation, invasion and angiogenesis in a hamster model of oral cancer[J]. PLoS One, 2014, 9(10): e109114.
- [15] EROFEEVA EA. Plant hormesis and Shelford's tolerance law curve[J]. Journal of Forestry Research, 2021, 32(5): 1789-1802.
- [16] PRENTICÉ RL, PETTINGER M, NEUHOUSER ML, TINKER LF, HUANG Y, ZHENG C, MANSON JE, MOSSAVAR-RAHMANI Y, ANDERSON GL, LAMPE JW. Application of blood concentration biomarkers in nutritional epidemiology: example of carotenoid and tocopherol intake in relation to chronic disease risk[J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2019, 109(4): 1189-1196.
- [17] MIRAHMADI M, AZIMI-HASHEMI S, SABURI E, KAMALI H, PISHBIN M, HADIZADEH F. Potential inhibitory effect of lycopene on prostate cancer[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2020, 129: 110459.
  [18] 杨攀平,丁炎,仲梦园,李锐,吕璨,徐江南,孙恬
- [18] 杨攀平,丁炎,仲梦园,李锐,吕璨,徐江南,孙恬晋,卢河东. 氨基甲酸乙酯降解菌株的筛选鉴定与发酵产酶优化[J]. 中国调味品, 2022, 47(4): 82-87. YANG PP, DING Y, ZHONG MY, LI R, LYU C, XU JN, SUN TJ, LU HD. Screening and identification of ethyl carbamate degrading strains and optimization of fermentation enzyme production[J]. China Condiment, 2022, 47(4): 82-87 (in Chinese).
- [19] 庄荣玉,王如晨,邱晓挺,车嘉豪,李勇勇,张蔚筱, 杨文鸽,史咏梅,吴祖芳. 胶红酵母生产生物活性物 质研究进展[J]. 食品科学, 2020, 41(1): 318-329. ZHUANG RY, WANG RC, QIU XT, CHE JH, LI YY, ZHANG WX, YANG WG, SHI YM, WU ZF. Bioactive substances produced by *Rhodotorula mucilaginosa*: a comprehensive review[J]. Food Science, 2020, 41(1): 318-329 (in Chinese).
- [20] 李雨真,梅天秀,李治文,王淇,李俊,邹岳,赵心清.红酵母基因组和代谢工程改造研究进展[J].生物技术通报,2023,39(7):67-79.

LI YZ, MEI TX, LI ZW, WANG Q, LI J, ZOU Y, ZHAO XQ. Advances in genomic studies and metabolic engineering of red yeasts[J]. Biotechnology Bulletin, 2023, 39(7): 67-79 (in Chinese).

- [21] JOMOVA K, VALKO M. Health protective effects of carotenoids and their interactions with other biological antioxidants[J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2013, 70: 102-110.
- [22] 胡颖昕, 叶剑芝, 梁黄冰, 李涛, 吴学良, 林浩, 陈志宝. 胶红酵母 ZTHY2 对雷州黑鸭生长性能、抗氧化及免疫功能的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2024, 60(6): 303-307.
  HU YX, YE JZ, LIANG HB, LI T, WU XL, LIN H, CHEN ZB. Effects of *Rhodotorula glutinis* ZTHY2 on growth performance, antioxidant activity and immune function of Leizhou black duck[J]. Chinese Journal of Animal Science, 2024, 60(6): 303-307 (in Chinese).
- Animal Science, 2024, 60(6): 303-307 (in Chinese). [23] 王雅波,刘占英,张冬艳,李永丽,胡建华. 稀土离 子对微生物 Hormesis 效应机制的研究进展[J]. 中国 稀土学报, 2019, 37(4): 402-408. WANG YB, LIU ZY, ZHANG DY, LI YL, HU JH. Research progress on effects mechanisms of rare earth ions on microbial hormesis[J]. Journal of the Chinese Society of Rare Earths, 2019, 37(4): 402-408 (in Chinese).
- [24] WU MH, WEI HC, HUANG XM, LIU QY, DUAN SZ, LIU YF, MI RY, MIN X, HUANG ZH, ZHANG W, CAO P. High-efficiency Ce<sup>3+</sup> activated orthorhombic lanthanide silicate blue phosphors for plant growth lighting[J]. Inorganic Chemistry, 2023, 62(32): 12793-12802.
- [25] 姜淑敏, 汪吉霞, 王悦佳, 汪春蕾. 光合细菌产氢研究进展[J]. 现代农业科技, 2023(19): 136-142.
  JIANG SM, WANG JX, WANG YJ, WANG CL. Research progress on hydrogen production by photosynthetic bacteria[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2023(19): 136-142 (in Chinese).
- [26] 杨铿,陈永青,梁晓华,杨莺莺,佘妙虹. 海洋胶红 酵母 Y2 产类胡萝卜素发酵促进剂的研究[J]. 南方水 产科学, 2013, 9(2): 45-49.
  YANG K, CHEN YQ, LIANG XH, YANG YY, SHE MH. Studies on the promoters of carotenoid fermentation by *Rhodotorula mucilaginosa*[J]. South China Fisheries Science, 2013, 9(2): 45-49 (in Chinese).
- [27] KOVALCHUK I, TITOV V, HOHN B, KOVALCHUK O. Transcriptome profiling reveals similarities and differences in plant responses to cadmium and lead[J]. Mutation Research, 2005, 570(2): 149-161.
- [28] 付强,许萍. 微生物腐蚀研究中代谢组学方法的应用进展[J]. 应用化工, 2022, 51(11): 3341-3347, 3353.
  FU Q, XU P. Advances in the application of metabolomic methods in microbial corrosion research[J]. Applied Chemical Industry, 2022, 51(11): 3341-3347, 3353 (in Chinese).
- [29] LI RY, XIONG GT, YUAN SK, WU ZF, MIAO YJ, WENG PF. Investigating the underlying mechanism of Saccharomyces cerevisiae in response to ethanol stress employing RNA-seq analysis[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2017, 33(11): 206.
- [30] UEZU K, IRIE S, YOSHIMURA O, GOTO M, NAKASHIO F. Extraction of rare earth metals using

liquid surfactant membranes in a Mixco extractor[J]. Chemical Engineering Research and Design, 1997, 75(5): 513-518.

- [31] VALLUZZI R, GUERTIN RP, HAAS TE. Magnetically complexed collagen nanocomposites[J]. Philosophical Magazine, 2004, 84(32): 3439-3447.
- [32] ZHUANG QK, DAI HC, GAO XX, XIN WK. Electrochemical studies of the effect of lanthanide ions on the activity of glutamate dehydrogenase[J]. Bioelectrochemistry, 2000, 52(1): 37-41.
- [33] SELVAM A, EMMANUEL ES, ANANDKUMAR B, MARUTHAMUTHU S, PALANISWAMY N. Studies on the distribution of bacterial isolates in rare earth environment[J]. Journal of Environmental Biology, 2012, 33(1): 143-148.
- [34] FURST A. Hormetic effects in pharmacology: pharmacological inversions as prototypes for hormesis[J]. Health Physics, 1987, 52(5): 527-530.
- [35] 高熙, 刘雅琼, 燕晶晶,杨思宇,赵倩倩,王京宇. 镧-大肠杆菌毒物兴奋效应机制探索[J]. 中国稀土学报, 2019, 37(3): 371-380.
  GAO X, LIU YQ, YAN JJ, YANG SY, ZHAO QQ, WANG JY. A preliminary study on mechanism of hormesis in lanthanum-*Escherichia coli*[J]. Journal of the Chinese Society of Rare Earths, 2019, 37(3): 371-380 (in Chinese).
- [36] 刘建新, 王金成, 刘秀丽. 镧胁迫下燕麦幼苗精氨酸 代谢对外源 NO 的响应[J]. 中国稀土学报, 2018, 36(2): 236-246.
  LIU JX, WANG JC, LIU XL. Effect of exogenous nitric oxide on arginine metabolism in oat seedlings under lanthanum stress[J]. Journal of the Chinese Society of Rare Earths, 2018, 36(2): 236-246 (in Chinese).
- [37] 陈桂华,刘芬,王悦,熊跃东,许强,付良,王玉博, 唐文帮.氯化镧对不同叶色水稻叶绿素含量及抗氧 化酶活性的影响[J].分子植物育种,2020,18(8): 2695-2701.
  CHEN GH, LIU F, WANG Y, XIONG YD, XU Q, FU L, WANG YB, TANG WB. Effects of lanthanum chloride on chlorophyll content and antioxidant enzyme activities in different leaf color rice[J]. Molecular Plant Breeding, 2020, 18(8): 2695-2701 (in Chinese).
- [38] 柴瑞娟,黄彬,王玉良.镧和铈对蜡状芽孢杆菌抗 性、生长及胞内核酸的影响[J]. 微生物学通报,2013, 40(12): 2246-2253.
  CHAI RJ, HUANG B, WANG YL. Effect on resistance, growth and DNA of *Bacillus cereus* treated by La<sup>3+</sup> and Ce<sup>3+</sup>[J]. Microbiology China, 2013, 40(12): 2246-2253 (in Chinese).
- [39] 柴瑞娟,王玉良. 镧和铈对两种细菌生长的影响及 胞内 DNA 的荧光光谱分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2013, 33(7): 1829-1833.
  CHAI RJ, WANG YL. Effect of REE on growth of bacteria and fluorescence spectrum of DNA[J].
  Spectroscopy and Spectral Analysis, 2013, 33(7): 1829-1833 (in Chinese).
- [40] 王燕,杨平平,宋香,鄢贵龙,段作营,毛忠贵.稀 土元素对谷氨酸发酵产酸及其谷氨酸脱氢酶的影响[J]. 食品与发酵工业,2004,30(9):33-36.
  WANG Y, YANG PP, SONG X, YAN GL, DUAN ZY, MAO ZG. The effects of rare earth element (REE) on

glutamic acid fermentation and glutamate dehydrogenase (GDH) of *Corynebacterium glutamicum* S<sub>9114</sub>[J]. Food and Fermentation Industries, 2004, 30(9): 33-36 (in Chinese).

- [41] ZHANG CH, LI QQ, ZHANG MX, ZHANG N, LI MH. Effects of rare earth elements on growth and metabolism of medicinal plants[J]. Acta Pharmaceutica Sinica B, 2013, 3(1): 20-24.
- [42] D'AQUINO L, MORGANA M, CARBONI MA, STAIANO M, ANTISARI MV, RE M, LORITO M, VINALE F, ABADI KM, WOO SL. Effect of some rare earth elements on the growth and lanthanide accumulation in different *Trichoderma* strains[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2009, 41(12): 2406-2413.
- [43] YUAN XF, WANG Q, ZHAO B, WANG YC. Improved cell growth and total flavonoids of *Saussurea medusa* on solid culture medium supplemented with rare earth elements[J]. Biotechnology Letters, 2002, 24(22): 1889-1892.
- [44] LI WH, ZHAO RM, XIE ZX, CHEN XD, SHEN P. Effects of La<sup>3+</sup> on growth, transformation, and gene expression of *Escherichia coli*[J]. Biological Trace Element Research, 2003, 94(2): 167-177.
- [45] CALABRESECI EJ. Evidence that hormesis represents an "overcompensation" response to a disruption in homeostasis[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 1999, 42(2): 135-137.
- [46] CALABRESE EJ, BALDWIN LA. Defining hormesis[J]. Human & Experimental Toxicology, 2002, 21(2): 91-97.
- [47] HIBI Y, ASAI K, ARAFUKA H, HAMAJIMA M, IWAMA T, KAWAI K. Molecular structure of La<sup>3+</sup>-induced methanol dehydrogenase-like protein in *Methylobacterium radiotolerans*[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2011, 111(5): 547-549.
- [48] FITRIYANTO NA, FUSHIMI M, MATSUNAGA M, PERTIWININGRUM A, IWAMA T, KAWAI K. Molecular structure and gene analysis of Ce<sup>3+</sup>-induced methanol dehydrogenase of *Bradyrhizobium* sp. MAFF211645[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2011, 111(6): 613-617.
- [49] POL A, BARENDS TRM, DIETL A, KHADEM AF, EYGENSTEYN J, JETTEN MSM, OP den CAMP HJ. Rare earth metals are essential for methanotrophic life in volcanic mudpots[J]. Environmental Microbiology, 2014, 16(1): 255-264.
- [50] 黄建新, 杨一心, 唐雪玲. 稀土配合物农用对土壤微 生物活性的影响[J]. 水土保持通报, 2003, 23(2): 33-35.
  HUANG JX, YANG YX, TANG XL. Effect of coordination complexes of rare earth applied to agriculture on soil-microenvironment[J]. Bulletin of Soil and Water Conservation, 2003, 23(2): 33-35 (in Chinese).
- [51] 褚海燕,李振高,谢祖彬,朱建国,曹志洪.稀土元 素镧对红壤微生物区系的影响[J].环境科学,2000,

21(6): 28-31.

CHU HY, LI ZG, XIE ZB, ZHU JG, CAO ZH. Effect of lanthanum on the microflora of red soil[J]. Chinese Journal of Environmental Science, 2000, 21(6): 28-31 (in Chinese).

 [52] 郭绍芬. 镧(III)、铽(III)对体内外辣根过氧化物酶活 性与结构的影响研究[D]. 无锡: 江南大学博士学位 论文, 2008.
 GUO SF. Effects of lanthanum (III) and terbium (III) on the activity and structure of horseradish peroxidase

in vitro and in vivo[D]. Wuxi: Doctoral Dissertation of Jiangnan University, 2008 (in Chinese)

- [53] 施翠娥, 江丹, 汪承润, 游朝群, 伍娅婷, 李海燕. 镧对黑曲霉生理代谢的 Hormesis 效应[J]. 稀土, 2012, 33(2): 23-29.
  SHI CE, JIANG D, WANG CR, YOU CQ, WU YT, LI HY. Hormetic effects of rare earth lanthanum on physiological metabolism of *Aspergillus niger*[J]. Chinese Rare Earths, 2012, 33(2): 23-29 (in Chinese).
- [54] 张存滢,曾虹燕,熊龙斌,刘学英,Gohi A,蔡西玲,陈泽新.双金属 Hg<sup>2+</sup>和 Cu<sup>2+</sup>对木瓜蛋白酶活性与构象的影响[J].中南大学学报(自然科学版),2013,44(6):2207-2213.
  ZHANG CY, ZENG HY, XIONG LB, LIU XY, GOHI A, CAI XL, CHEN ZX. Effect of bimetal Hg<sup>2+</sup> and Cu<sup>2+</sup> on activity and conformation of papain[J]. Journal of Central South University (Science and Technology),2013,44(6):2207-2213 (in Chinese).
- [55] 陈晓雪, 宁振洋, 尹大强. 环境浓度水平的镍对不同 生命阶段秀丽线虫(*Caenorhabditis elegans*)体长与运 动的刺激效应[J]. 生态毒理学报, 2014, 9(2): 299-305. CHEN XX, YU ZY, YIN DQ. Stimulations of nickel at environmental concentrations on locomotion and

environmental concentrations on locomotion and growth of *Caenorhabditis elegans* at different life stages[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2014, 9(2): 299-305 (in Chinese).

[56] 孙玲, 屈艾, 李宗芸, 张惠芳. 稀土元素镨对蚕豆萌 发和早期生长的 Hormesis 效应[J]. 毒理学杂志, 2016, 30(4): 286-288, 291.
SUN L, QU A, LI ZY, ZHANG HF. Hormesis effect of rare earth element praseodymium on germination and early growth of broad bean[J]. Journal of Toxicology, 2016, 30(4): 286-288, 291 (in Chinese).

- [57] PICKARD BG. Comparison of calcium and lanthanon Ions in the Avena-coleoptile growth test[J]. Planta, 1970, 91(4): 314-320.
- [58] NAKAGAWA T, MITSUI R, TANI A, SASA K, TASHIRO S, IWAMA T, HAYAKAWA T, KAWAI K. A catalytic role of XoxF1 as La<sup>3+</sup>-dependent methanol dehydrogenase in *Methylobacterium extorquens* strain AM1[J]. PLoS One, 2012, 7(11): e50480.
- [59] ZHANG DY, HU JH, SIQIN B, ZHANG T, CHANG Y. Dy<sup>3+</sup> and Nd<sup>3+</sup> induced genetic mutation of *Bacillus* α-amylase[J]. Journal of Inorganic Biochemistry, 2009, 103(7): 935-939.