

# 高耐铝红酵母 RS1 耐铝特性初步研究<sup>①</sup>

王超<sup>1,2</sup>, 赵学强<sup>1</sup>, 沈仁芳<sup>1\*</sup>

(1 土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008; 2 中国科学院大学, 北京 100049)

**摘要:** 红酵母 RS1 是从酸性土壤中筛选出的一株高耐铝微生物, 本文对其耐铝特性进行了初步研究。结果发现, RS1 可以在 pH 2.5 的培养基中生长, 50 ~ 200 mmol/L  $\text{Al}^{3+}$  处理对 RS1 产生了毒害作用, 其毒害并未对细胞表面形态产生影响。RS1 对  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  的忍耐能力高于  $\text{AlCl}_3$ , 这种高的忍耐能力是遗传固有的, 并不被诱导产生。此外, RS1 可以增加体内蛋白含量来适应高的铝毒, 其中蛋白型巯基可能在耐铝中表现重要作用。

**关键词:** 红酵母 RS1; 铝毒; pH; 蛋白质; 巯基

**中图分类号:** S154.3

酸性土壤(pH<5)约占世界耕地面积的 40%, 铝毒已成为酸性土壤限制植物和微生物生长的主要因素之一<sup>[1-2]</sup>。土壤溶液中微摩尔水平的铝就可以明显抑制植物生长, 关于铝对植物的毒害以及植物耐铝机制等方面已经有很多的研究<sup>[1]</sup>。近年来, 在酸性土壤中发现存在着一些高耐铝微生物, 这些微生物可以忍耐高达 200 mmol/L 的  $\text{Al}^{3+}$ <sup>[3-5]</sup>。由于一些高耐铝微生物具有减轻酸性土壤铝毒害的能力<sup>[6]</sup>, 以及其生长快、周期短、易变异的特点, 这些微生物可以作为铝毒研究的模式生物体, 为植物的耐铝机制研究提供一定帮助。因此, 这些高耐铝微生物的特性和高耐铝机制值得关注。本实验室在江西鹰潭酸性油茶土壤(pH 4.3)中筛选出一株高耐铝红酵母<sup>[7]</sup>, 发现其可以在高达 200 mmol/L  $\text{Al}^{3+}$ (pH 3.5)下生长, 然而对其高耐铝机制并不清楚。该论文对这株高耐铝酵母菌的一些耐铝特性及耐铝机制进行了初步研究, 希望为解释其高耐铝能力提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

高耐铝红酵母 RS1 分离于江西鹰潭酸性油茶土壤(pH 4.3)<sup>[7]</sup>, 菌株保藏在中国普通微生物菌株保藏管理中心(编号 2.4753)。GM 培养基用于菌株培养, 培养基主要成分为: 10 g/L 葡萄糖, 10 g/L NaCl, 0.5 g/L 蛋白胨, 0.2 g/L 酵母提取物。调节培养基起始 pH 至 3.5, 121℃ 灭菌 20 min, 备用。

### 1.2 不同形态 $\text{Al}^{3+}$ 处理

pH 3.5 的高浓度  $\text{Al}^{3+}$ ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  或  $\text{AlCl}_3$ )母液经 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤灭菌加入培养基中, 分别达到 10 和 100 mmol/L 的  $\text{Al}^{3+}$  浓度。将保存在 4℃ 下的固体平板 GM 培养基中的高耐铝红酵母 RS1 单菌落接种到不含  $\text{Al}^{3+}$  的液体培养基中, 30℃ 下培养。当培养至  $\text{OD}_{600} = 0.6$  时, 将 1 ml 含有菌体的培养基接种到盛有 70 ml 液体 GM 培养基的 250 ml 三角瓶中。黑暗条件, 30℃, 120 r/min 下培养。通过  $\text{OD}_{600}$  记录生长情况。

### 1.3 不同浓度 $\text{Al}^{3+}$ 处理

采用固体平板培养, 使用 GM 琼脂培养基(10 g/L 琼脂粉), pH 为 3.5,  $\text{Al}^{3+}$ ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ )浓度设置为 0、10、50、100、200 mmol/L<sup>[5]</sup>。将上述前培养的菌液稀释到合适倍数后涂于固体培养基上, 30℃ 培养 5 天后观察, 并测量菌落直径, 观察 RS1 菌落的生长情况。

### 1.4 pH 及阳离子处理

设置液体 GM 培养基的起始 pH 分别为 1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、5.0、6.0、7.0, 研究 pH 对 RS1 生长的影响。在 pH 3.5 下将  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  溶液分别过滤灭菌加入培养基中, 达到 300 mmol/L  $\text{Na}^+$  和  $\text{K}^+$ , 150 mmol/L  $\text{Mg}^{2+}$  及 100 mmol/L  $\text{Al}^{3+}$ , 研究不同阳离子对 RS1 生长的影响。培养方法同 1.1 描述, 培养 24 h。

### 1.5 耐铝性诱导

将在含 0 和 100 mmol/L  $\text{Al}^{3+}$  的液体 GM 中前培

①基金项目: 国家自然科学基金项目(41025005; 40871144; 31000933)资助。

\* 通讯作者(rfshen@issas.ac.cn)

作者简介: 王超(1984—), 男, 山东泰安人, 博士研究生, 主要从事植物营养研究。E-mail: chwang@issas.ac.cn

养 3 天的菌体,于无菌条件下,3 000 g 离心收集。菌体经无菌水清洗 2 次后,用无菌水调至 OD<sub>600</sub> 为 0.6,然后分别取 1 ml 菌体接种到 0 和 100 mmol/L Al<sup>3+</sup> 的液体 GM 中培养,记录生长情况。0 mmol/L Al<sup>3+</sup> 前培养菌株接种到 0 和 100 mmol/L Al<sup>3+</sup> 的 GM 中分别标记为 0/0 和 0/100;100 mmol/L Al<sup>3+</sup> 前培养菌株接种到 0 和 100 mmol/L Al<sup>3+</sup> 的 GM 中分别标记为 100/0 和 100/100。

1.6 细胞显微镜观察

将在含 0 和 100 mmol/L Al<sup>3+</sup> 的液体 GM 中培养 24 h 后的 RS1 细胞制片,在 400 倍显微镜下观察细胞形态。

1.7 总蛋白含量及蛋白质电泳分析

在 4℃ 下 3 000 g 离心 5 min 收集细胞。用预冷的 10 mmol/L 的 EDTA 清洗 4 次,除去细胞表面吸附的 Al<sup>3+</sup>,再用预冷的超纯水清洗 2 次。然后将其溶解在 2 ml 1 mol/L NaOH 中,100℃ 水浴 30 min<sup>[8]</sup>。测定提取液中的总蛋白含量<sup>[9]</sup>。收集的细胞立即放于液氮中研磨,用提取液 50 mmol/L 磷酸缓冲液(pH 7.8, 1 mmol/L EDTA)提取。酶提取液通过两步离心收集,分别为 10 000 g,10 min;13 000 g,30 min。测定上清液中的蛋白含量<sup>[9]</sup>。将 20 μg 蛋白用于蛋白质电泳分析<sup>[10]</sup>。

1.8 细胞巯基含量测定

根据 Nagalakshmi 和 Prasad<sup>[11]</sup>描述的方法测定细胞蛋白型巯基和非蛋白型巯基含量。

1.9 数据分析

数据采用 Excel 2003 和 SPSS 16.0 统计软件进行分析,差异水平通过 Duncan 法进行检验( $P<0.05$ )。作图采用 Origin Pro 8.0 进行。

2 结果与分析

2.1 RS1 对不同形态 Al<sup>3+</sup> 的响应

本实验选取 Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> 和 AlCl<sub>3</sub> 两种形态的 Al<sup>3+</sup>,研究不同形态 Al<sup>3+</sup> 对 RS1 生长情况的影响差异。图 1 所示,在起始 pH 3.5 的液体 GM 培养基中,10 mmol/L 两种形态的 Al<sup>3+</sup> 没有对 RS1 的生长产生影响,而 100 mmol/L 两种形态的 Al<sup>3+</sup> 都明显表现出抑制作用,且 RS1 对 Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> 的忍耐能力要高于 AlCl<sub>3</sub>,100 mmol/L AlCl<sub>3</sub> 处理下菌株没有明显地表现出生长对数期。由于 RS1 对 Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> 表现出更强的忍耐性,因此,本文后面的研究选取 Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> 作为 Al<sup>3+</sup> 的处理形式。

2.2 Al<sup>3+</sup> 浓度对 RS1 菌落生长速率的影响

表 1 所示,当 Al<sup>3+</sup> 浓度高于 10 mmol/L 时,RS1

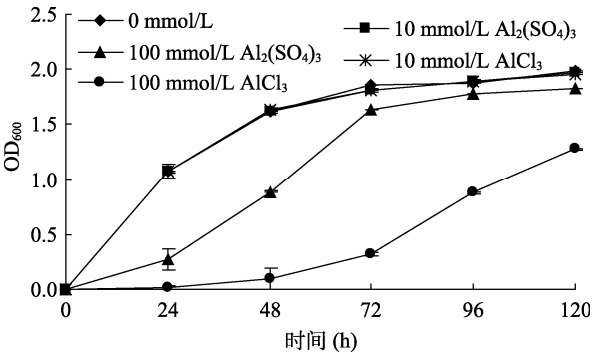


图 1 不同 Al<sup>3+</sup> 形态对 RS1 生长的影响  
Fig. 1 Effects of different Al<sup>3+</sup> chemicals on growth of RS1

表 1 Al<sup>3+</sup> 对酵母菌 RS1 菌落生长速率的影响

Table 1 Effects of Al<sup>3+</sup> concentration on growth rate of RS1 colony

| Al <sup>3+</sup> 浓度 (mmol/L) | 菌落直径平均生长速率(mm/d) |
|------------------------------|------------------|
| 0                            | 0.755 ± 0.069 a  |
| 10                           | 0.745 ± 0.054 a  |
| 50                           | 0.683 ± 0.036 b  |
| 100                          | 0.615 ± 0.045 c  |
| 200                          | 0.555 ± 0.021 d  |

注 同列不同小写字母表示处理间在  $P<0.05$  水平差异显著。

菌落生长速率明显受到抑制( $P<0.05$ ),而且随 Al<sup>3+</sup> 浓度的增大,抑制效果加剧,说明 Al<sup>3+</sup> 对其产生了毒害作用。100 和 200 mmol/L Al<sup>3+</sup> 分别使菌落生长速率减少到无 Al<sup>3+</sup> 条件下的 81.5%和 73.5%。

2.3 RS1 对 pH 和其他阳离子的响应

生物体耐铝首先必须应该是耐酸的,因为只有在酸性条件下,铝才能表现出毒害作用,因此,研究了 RS1 对 pH 的响应。图 2 所示,培养 24 h 后,起始 pH 高于 3.5 的培养基没有对 RS1 的生长产生影响,而 pH 低于 3 时明显地抑制了 RS1 的生长。培养基起始 pH 低至 2 时已经完全抑制了 RS1 的生长,说明 RS1 能在 pH 2.5 的环境下生长。此外,研究了同等电荷数的不同阳离子对 RS1 生长的影响。图 3 结果显示,在起始 pH 3.5 中培养 24 h 后,100 mmol/L Al<sup>3+</sup> 明显抑制了 RS1 的生长,而 300 mmol/L K<sup>+</sup> 和 150 mmol/L Mg<sup>2+</sup> 对其生长没有表现出任何影响,虽然 300 mmol/L Na<sup>+</sup> 略有抑制作用,但是统计上并无显著差异( $P>0.05$ )。可见,高浓度 Al<sup>3+</sup> 对 RS1 的毒害作用并不是由于高离子浓度导致的渗透调节变化。

2.4 Al<sup>3+</sup> 对 RS1 耐铝性的诱导及对细胞形态的影响

图 4 所示,将经过 0 和 100 mmol/L Al<sup>3+</sup> 处理 3 天后的 RS1,分别接种到 0 和 100 mmol/L Al<sup>3+</sup> 的培养基中,与没有前期 Al<sup>3+</sup> 处理的菌体相比,前期 Al<sup>3+</sup> 处理的菌体生长曲线没有表现出差异,说明 RS1 的高耐

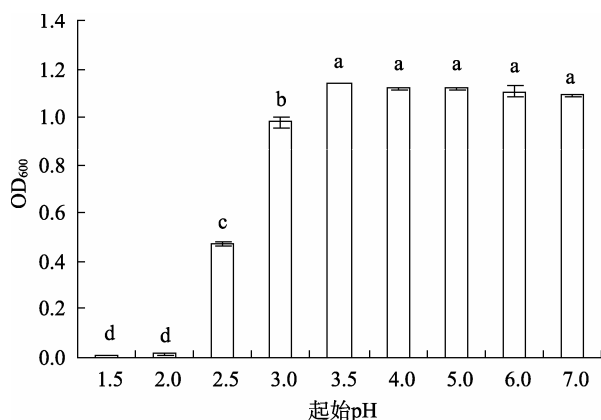


图2 RS1 对培养基 pH 的响应

Fig. 2 Response of RS1 cell to medium pH

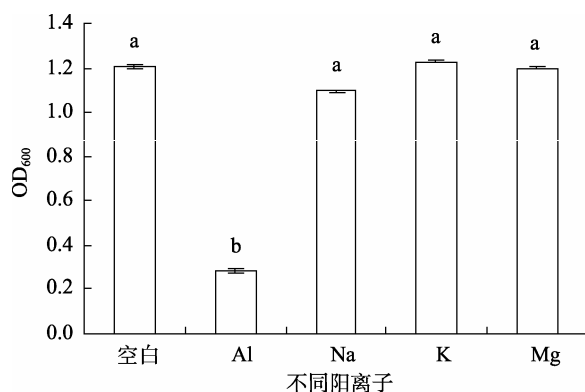


图3 不同阳离子对 RS1 生长的影响

Fig. 3 Effects of different cations on growth of RS1

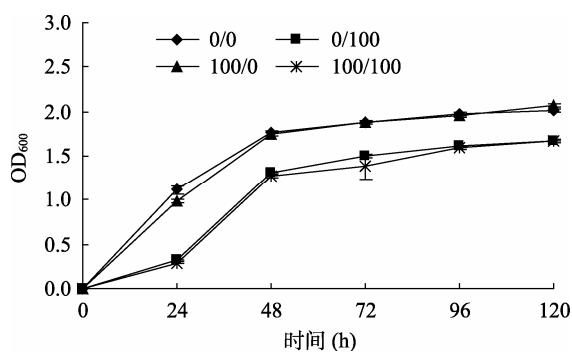
图4  $\text{Al}^{3+}$  对 RS1 耐铝性诱导

Fig. 4 Al-induced Al tolerance of RS1

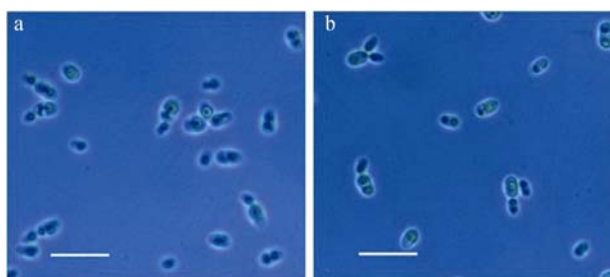
(a 为 0 mmol/L  $\text{Al}^{3+}$  处理; b 为 100 mmol/L  $\text{Al}^{3+}$  处理;图中标尺代表 50  $\mu\text{m}$ )

图5 RS1 细胞的显微镜观察

Fig. 5 Microphotographs of RS1 cell

铝能力是遗传固有, 并非诱导获得的, 也并没有被诱导增强。此外, 0 和 100 mmol/L  $\text{Al}^{3+}$  处理后 RS1 细胞外观形态并未表现出明显不同(图 5)。

## 2.5 RS1 细胞体内可溶性蛋白对 $\text{Al}^{3+}$ 的响应

蛋白质是生命的物质基础, 与各种形式的生命活动紧密联系在一起, 细胞中每一个过程和重要的组成部分都有蛋白质参与。因此, RS1 的高耐铝能力必定与细胞中的蛋白变化有关。研究发现铝胁迫明显提高了 RS1 体内总的可溶性蛋白的含量( $P < 0.05$ )(图 6)。而蛋白质电泳分析结果表明(图 7), 铝胁迫并没有明显诱导新的蛋白条带产生。

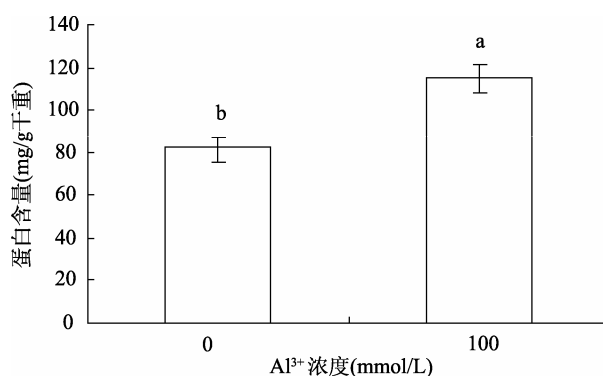
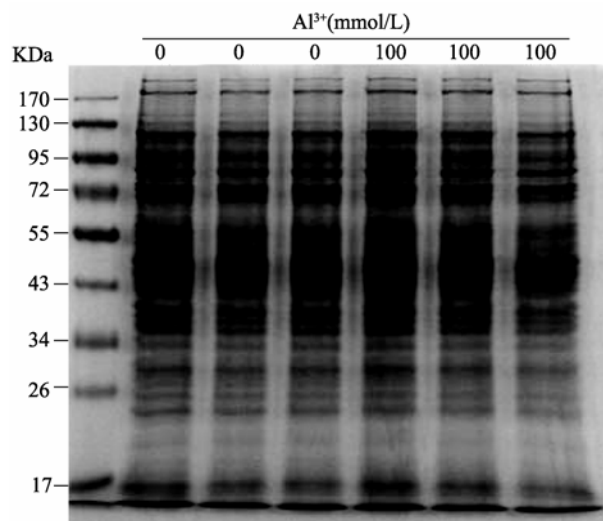
图6  $\text{Al}^{3+}$  对 RS1 总蛋白含量的影响Fig. 6 Effect of  $\text{Al}^{3+}$  on protein content of RS1

图7 RS1 蛋白质电泳图

Fig. 7 Electrophoresis of RS1 protein

## 2.6 RS1 细胞中巯基含量对 $\text{Al}^{3+}$ 的响应

图 8 所示,  $\text{Al}^{3+}$  处理明显提高了 RS1 体内蛋白型巯基的含量, 而对非蛋白型巯基的含量没有影响。蛋白型巯基含量的增加说明结合金属的蛋白质肽键增多, 这些肽键对  $\text{Al}^{3+}$  在细胞体内的固定和平衡有重要作用。

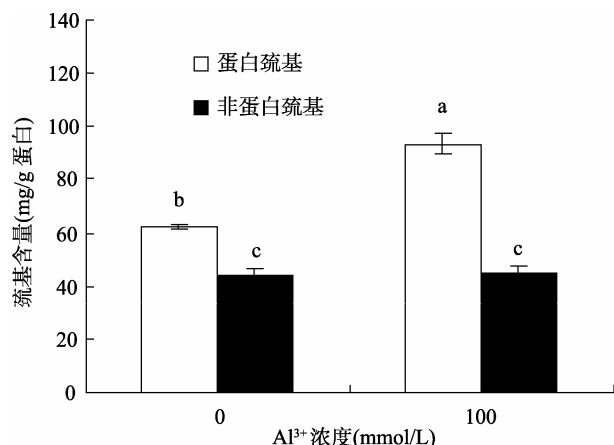


图 8  $\text{Al}^{3+}$  对 RS1 细胞体内巯基的影响

Fig. 8 Effect of  $\text{Al}^{3+}$  on thiols of RS1 cell

### 3 讨论与结论

虽然 RS1 可以在高达 200 mmol/L 的  $\text{Al}^{3+}$  中生长,但是 50 mmol/L 的  $\text{Al}^{3+}$  就对其产生了毒害作用,抑制了 RS1 菌落的生长,这主要由于铝不是生命必需元素<sup>[12]</sup>。Thompson 和 Medve<sup>[13]</sup>也发现  $\text{Al}^{3+}$  可以明显地抑制真菌的生长,而葛德永等<sup>[5]</sup>和赵丽伟等<sup>[14]</sup>发现,低浓度的  $\text{Al}^{3+}$ (10 mmol/L)反而促进了耐铝菌丝体和酵母细胞的生长。耐铝霉菌 A1F-1 的生长则是对铝表现出依赖性,在无铝条件下,菌株不生长或生长不好<sup>[6]</sup>。Wakao 等<sup>[15]</sup>发现一些嗜酸菌也是依靠铝的,高  $\text{Al}^{3+}$  环境可以明显促进其生长。这些差异可能是由于菌体对 pH 和铝敏感程度不同造成的。铝本身对培养基的 pH 有很强的缓冲能力,低铝下菌体活动对 pH 有明显影响,高铝下 pH 变化不明显,从而改变了 pH 对菌体的影响。此外,铝还可能通过改变菌株对其他离子和营养物质的吸收来影响细胞生长过程<sup>[15]</sup>。

对于微生物是否可以通过  $\text{Al}^{3+}$  的诱导来提高耐铝能力有不同的报道<sup>[3, 16-17]</sup>。本研究发现 RS1 这种高耐铝的特性是本身所遗传具有的,并非是铝诱导获得的。一些高耐铝的真菌和酵母菌同样发现其耐铝性并不能被诱导<sup>[3, 6, 17]</sup>,而有些菌株本身并不耐铝,连续的铝处理可以诱导出耐铝性,并且这种特性可以获得稳定遗传<sup>[16]</sup>。可以发现由于个体间的差异,耐铝机制的研究存在复杂性,具体的机制需要从分子水平阐明。蛋白质是生理功能的执行者,是生命现象的直接体现者。Hassen 等<sup>[18]</sup>发现金属胁迫下,铜绿假单胞菌和苏云金芽孢杆菌可以通过合成一些蛋白来应对胁迫。红酵母 Y11 在铜胁迫下也增加了体内蛋白含量<sup>[8]</sup>。本研究中,高浓度铝显著提高了 RS1 体内可溶

性蛋白的含量,可推测一些蛋白的诱导表达参与 RS1 的高耐铝过程。蛋白在铝毒防御中有重要作用<sup>[19]</sup>。Somers 等<sup>[20]</sup>认为一些蛋白的合成可以络合铝,或分布到膜上阻碍铝进入细胞。朱雪竹等<sup>[21]</sup>发现耐铝小麦明显增加了细胞壁中蛋白含量。很多蛋白酶直接参与生物体耐铝的外部 and 内部机制<sup>[1, 3]</sup>。本研究表明高铝浓度增加了 RS1 总蛋白含量,但并未对蛋白组成产生显著影响,说明铝主要增加了一些蛋白的表达量而不是诱导新的蛋白种类,这些蛋白表达量的增加可能参与了 RS1 的高耐铝过程,也可能是铝对 RS1 毒害效应的结果。

生物体可以通过提高一些物质的合成来适应金属毒害,如与胁迫应激响应相关的蛋白可以缓解金属诱导的胁迫,与金属有螯合作用的蛋白可以在体内将金属离子螯合固定为无毒的形态。含有巯基的蛋白质就是其中重要的一种,例如谷胱甘肽和金属硫蛋白与金属离子的结合在酵母金属解毒中有重要作用<sup>[22]</sup>。本研究结果表明铝胁迫诱导 RS1 体内总蛋白巯基含量增多,这暗示着铝螯合蛋白含量的合成可能增加。一些巯基蛋白可以调节生物体内氧化还原电位的稳定,当金属离子诱导氧化胁迫时,这些蛋白表现出重要作用。

综上所述,酸性土壤中分离出的高耐酸铝红酵母 RS1 可以在 pH 2.5 的环境下生长,并且对  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  忍耐能力高于  $\text{AlCl}_3$ 。RS1 的耐酸铝特性是自身遗传特有的,RS1 可以通过调节体内的反应来应对高的铝毒害,这可能涉及到体内铝的结合和固定,而具体的生理生化反应还需进一步研究。

### 参考文献:

- [1] Kochian LV, Pineros MA, Hoekenga OA. The physiology, genetics and molecular biology of plant aluminum resistance and toxicity[J]. Plant and Soil, 2005, 274(1/2): 175-195
- [2] Pina RG, Cervantes C. Microbial interactions with aluminium[J]. Biometals, 1996, 9(3): 311-316
- [3] Kanazawa S, Chau NTT, Miyaki S. Identification and characterization of yeasts with tolerance to high acidity and resistance to aluminum isolated from tea soils[J]. Soil Science and Plant Nutrition, 2005, 51(4): 507-513
- [4] Kawai F, Zhang DM, Sugimoto M. Isolation and characterization of acid- and Al-tolerant microorganisms[J]. Fems Microbiology Letters, 2000, 189(2): 143-147
- [5] 葛德永, 姚槐应, 黄昌勇. 茶园土壤耐酸铝微生物的分离鉴定及其耐铝特性研究[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2007, 33(6): 626-632

- [6] 梁月荣, 刘祖生, 陆建良, 骆颖颖. 茶树根际土壤抗酸铝真菌 ALF-1(*Neurospora* sp.)对酸性土壤 pH 的影响[J]. 茶叶科学, 1999, 19(2): 115–118
- [7] Wang C, Zhao XQ, Aizawa T, Sunairi M, Shen RF. High aluminum tolerance of *Rhodotorula* sp. RS1 is associated with thickening of the cell wall rather than chelation of aluminum ions[J]. *Pedosphere*, 2013, 23(1): 29–38
- [8] Li Z, Yuan H, Hu X. Cadmium-resistance in growing *Rhodotorula* sp. Y11[J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99(5): 1 339–1 344
- [9] Bradford MM. Rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing principle of protein-dye binding[J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72(1/2): 248–254
- [10] 李合生. 植物生理生化实验原理与技术(面向 21 世纪课程教材) [M]. 北京:高等教育出版社, 2000: 43–58
- [11] Nagalakshmi N, Prasad MNV. Responses of glutathione cycle enzymes and glutathione metabolism to copper stress in *Scenedesmus bijugatus*[M]. *Plant Science*, 2001, 160(2): 291–299
- [12] Williams RJP. Aluminium and biological systems: An introduction[J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 1996, 149: 1–9
- [13] Thompson GW, Medve RJ. Effects of aluminum and manganese on the growth of ectomycorrhizal fungi[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1984, 48(3): 556–560
- [14] 赵丽伟, 罗义勇, 谭浩, 年洪娟, 陈丽梅, 李昆志. 茶园土壤耐酸铝酵母菌的分离鉴定及其耐铝特性的初步研究[J]. 中国微生态学杂志, 2001, 23(9): 792–796
- [15] Wakao N, Yasuda T, Jojima Y, Yamanaka S, Hiraishi A. Enhanced growth of *acidocella facilis* and related acidophilic bacteria at high concentrations of aluminum[J]. *Microbes and Environments*, 2002, 17(2): 98–104
- [16] Tani A, Zhang D, Duine JA, Kawai F. Treatment of the yeast *Rhodotorula glutinis* with  $AlCl_3$  leads to adaptive acquirement of heritable aluminum resistance[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2004, 65(3): 344–348
- [17] Fischer J, Quentmeier A, Gansel S, Sabados V, Friedrich CG. Inducible aluminum resistance of *Acidiphilium cryptum* and aluminum tolerance of other acidophilic bacteria[J]. *Archives of Microbiology*, 2002, 178(6): 554–558
- [18] Hassen A, Saidi N, Cherif M, Boudabous A. Effects of heavy metals on *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus thuringiensis*[J]. *Bioresource Technology*, 1998, 65(1/2): 73–82
- [19] Putterill JJ, Gardner RC. Proteins with potential to protect plants for  $Al^{3+}$  toxicity[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1988, 964(2): 137–145
- [20] Somers DJ, Briggs KG, Gustafson JP. Aluminum stress and protein synthesis in near isogenic lines of *Triticum aestivum* differing in aluminum tolerance[J]. *Physiologia Plantarum*, 1996, 97: 694–700
- [21] 朱雪竹, 董斌, 桑伟莲, 孔繁翔, 王连生. 铝对小麦的毒性及小麦抗铝机理[J]. 环境科学, 2001, 22(4): 33–36
- [22] Gomes DS, Fragoso LC, Riger CJ, Panek AD, Eleutherio ECA. Regulation of cadmium uptake by *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Bba-Gen Subjects*, 2002, 1573(1): 21–25

## A Study on High Aluminum-tolerant Characteristic of *Rhodotorula* sp. RS1

WANG Chao<sup>1,2</sup>, ZHAO Xue-qiang<sup>1</sup>, SHEN Ren-fang<sup>1\*</sup>

(1 State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture (Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences), Nanjing 210008, China;

2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract:** *Rhodotorula* sp. RS1 isolated from acidic oil-tea fields is a high Al-tolerant microorganism. In this study, its Al-tolerant characteristic was studied. Results showed that the growth of RS1 colony was inhibited under the treatment of 50–200 mmol/L  $Al^{3+}$ ; however, Al toxicity did not obviously influence the cell morphology. RS1 showed higher tolerant ability for  $Al_2(SO_4)_3$  than  $AlCl_3$ , and this high Al-tolerant ability was not induced by  $Al^{3+}$ . Under the treatment of highly Al toxicity, RS1 could increase protein content, and protein thiols may play an important role in high tolerance of RS1 to Al.

**Key words:** *Rhodotorula* sp. RS1, Al toxicity, pH, Protein, Thiols