

DOI: 10.13758/j.cnki.tr.2020.06.009

程思, 王超, 沈仁芳, 等. 高耐铝红酵母 RS1 的红外光谱和拉曼光谱研究. 土壤, 2020, 52(6): 1158–1163.

高耐铝红酵母 RS1 的红外光谱和拉曼光谱研究^①

程 思^{1,2}, 王 超¹, 沈仁芳^{1,2*}

(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: 微生物菌株 RS1 是从江西鹰潭油茶酸性土壤中筛选获得的一株高耐铝红酵母, 能够忍耐高达 200 mmol/L 以上的铝浓度。前期研究表明 RS1 可以把铝固定在细胞表面, 阻挡其进入细胞内部, 但是细胞表面何种基团参与铝的固定并不清楚。本文综合采用傅里叶红外光谱和拉曼光谱技术研究了铝胁迫下红酵母 RS1 细胞表面官能团变化, 以期从光谱学角度来探索 RS1 的高耐铝机制。研究发现, 70 mmol/L 铝处理 24 h 后 RS1 红外光谱中 1 403 cm⁻¹ 处的吸收峰红移到 1 397 cm⁻¹ 处, 这可能是羧基峰; 在 1 706 cm⁻¹ 处出现新的吸收峰, 这可能是羰基峰; 酰胺 I 带吸收峰强度显著上升, 且甘露聚糖的吸收峰消失。拉曼光谱在 779、856 cm⁻¹ 处和 1 270 cm⁻¹ 处出现新的吸收峰, 可能分别为核糖核酸、酪氨酸和酰胺 III 带的吸收峰。综合结果表明, RS1 细胞表面与铝吸附相关的物质主要是细胞壁多糖和蛋白质, 主要涉及的官能团包括羧基、羰基和酰胺基。这些细胞表面官能团对铝的固定作用可能是红酵母 RS1 高耐铝的一个重要机制。

关键词: 红酵母; 铝毒; 傅里叶红外光谱; 拉曼光谱

中图分类号: S154.3 **文献标志码:** A

Infrared Spectroscopy and Raman Spectroscopy Study on High Resistant Aluminum *Rhodotorula Taiwanensis* RS1

CHENG Si^{1,2}, WANG Chao¹, SHEN Renfang^{1,2*}

(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: RS1 is a high aluminum resistant *Rhodotorula taiwanensis* strain selected from acid soil of oil tea in Yingtan of Jiangxi Province, which can tolerate aluminum concentration up to 200 mmol/L. Previous studies have showed that RS1 can immobilize aluminum on the cell surface and block it from entering the cell. However, it is unclear what kind of group on the cell surface is involved in aluminum fixation. In this paper, Fourier transform infrared spectroscopy and Raman spectroscopy were used to study the surface functional group changes of RS1 cells under aluminum stress in order to explore the high aluminum resistance mechanism of RS1 from the perspective of spectroscopy. It was found that the absorption peak at 1 403 cm⁻¹ in the IR spectrum of RS1 was red shifted to 1 397 cm⁻¹ after treatment with 70 mmol/L aluminum for 24 h, which may be a carboxyl group. A new absorption peak appeared at 1 706 cm⁻¹, which may be a carbonyl peak. The absorption peak intensities of amide I band in the IR spectrum with aluminum treatment were significantly increased and the mannan peak disappeared. The new absorption peaks of the Raman spectrum at 779 cm⁻¹, 856 cm⁻¹ and 1 270 cm⁻¹ may be the absorption peaks of RNA, tyrosine and amide III band, respectively. The results of IR and Raman spectroscopy show that the substances related to aluminum adsorption on the surface of RS1 cells are mainly polysaccharides and proteins of cell wall, and the main functional groups include carboxyl groups, carbonyl groups and amide groups. The immobilization of aluminum by these functional groups on cell surface may be an important mechanism for the high aluminum tolerance of *Rhodotorula taiwanensis* RS1.

Key words: *Rhodotorula*; Aluminum toxicity; Fourier transform infrared spectrum; Raman spectroscopy

全球酸性土壤面积约为 39.5×10⁸ hm², 占可耕地 土壤面积的 40% 左右^[1]。我国酸性土壤主要分布在

①基金项目: 国家自然科学基金项目(41501328)和中国科学院战略性先导科技专项重点研究计划项目(XDB15030302)资助。

* 通讯作者(rfshen@issas.ac.cn)

作者简介: 程思(1994—), 女, 安徽滁州人, 硕士研究生, 主要从事生物逆境机制研究。Email: chengsi@issas.ac.cn

南方各省,在热带和亚热带地区土壤酸化问题尤为严重,酸性土壤总面积约为 218 km²,约占我国陆地面积的 22.7%,而且面积不断在扩大^[2]。当土壤 pH<5 时,土壤中的铝会从固相释放进入土壤溶液或以交换性铝吸附于土壤表面的阳离子交换位上,使土壤铝活性增加,进而产生毒害^[3]。铝毒被认为是酸性土壤生物生长的主要限制因子之一^[4]。植物忍耐铝的浓度一般小于 0.1 mmol/L。近年来,一些土壤高耐铝微生物被发现,它们能够在几十甚至几百毫摩尔的铝浓度下生长^[5-9]。这些微生物菌株对铝的忍耐程度远大于植物,其中必然存在有别于植物的耐铝机制。由于微生物具有生长快、周期短、易变异等优点^[10],因此可以作为研究生物高耐铝机制的良好试验材料。对其高耐铝机制的阐明一方面可很好地补充生物的耐铝机制,另一方面有助于酸性土壤生产力及生态系统的维持,改善生态环境^[11]。

本实验室前期从江西鹰潭油茶土壤中筛选获得一株高耐铝红酵母 RS1,在 200 mmol/L 的铝浓度中仍可以生长^[12]。前期研究表明,RS1 可有效阻挡胞外高浓度铝进入细胞内部,与细胞壁表面含有较少负电荷和结构修饰密切相关^[13]。细胞壁表面较少的负电荷可降低铝在细胞表面的吸附能力,进而减少铝进入细胞内部的机会,降低毒害作用。酵母细胞壁主要由 β -葡聚糖、甘露聚糖、蛋白质,以及少量几丁质组成^[14]。这些细胞壁表面结构存在多种官能团,通过去质子化作用,使得菌体带负电^[15],带负电的官能团可以参与对铝的吸附固定。但是,何种官能团的存在或含量差异使得 RS1 细胞壁表面具有较少的负电荷尚不清楚。

光谱检测技术是一种确定官能团存在和化合物类别的技术手段,常见的光谱检测技术包括红外光谱和拉曼光谱。这两种光谱技术均为测量分子振动光谱的方法,但机理不同且能相互补充^[16],结合采用两种技术能更全面地研究分子振动状态,提供更多分子结构信息。红外光谱技术已广泛用于研究酵母对金属离子的吸附试验中^[17-18],而拉曼光谱技术多用于对酵母发酵、凋亡等生理过程中生物大分子变化情况进行监测。孙素琴等^[19]运用这两种光谱技术对中药材真伪进行鉴别,发现拉曼光谱可提供对红外光谱表现弱吸收或无吸收的官能团信息;黄皓等^[20]运用红外和拉曼光谱技术研究发现,酿酒酵母细胞表面的羟基、羧基参与铅和镉的吸附过程。可见,综合运用这两种技术能够对分子结构有更加完整的分析。

在本实验室前期研究的基础上,本文综合利用红外和拉曼光谱技术以探究红酵母 RS1 高耐铝过程中,

细胞表面官能团及相应生物大分子的光谱信息变化,期望对酵母铝吸附基团具有更加全面准确的认识,以进一步探索红酵母 RS1 的高耐铝机制。

1 材料与方法

1.1 主要仪器和试剂

ZWY-2102C 恒温培养振荡器,上海智城分析仪器制造公司;D-8PC 分光光度计,南京菲勒仪器有限公司;HVE-50 灭菌锅,日本株式会社平山制作所;SIGMA 4-16K 离心机,美国默克公司;LABCONCO 2.5L 冻干机,美国 Labconco 公司;Nicolet 8700 红外光谱仪,美国尼高利仪器公司;DXP 780 拉曼光谱仪,美国尼高利仪器公司;六水合氯化铝(分析纯),国药集团试剂有限公司;酵母提取物(IVD),OXOID;蛋白胨(生物试剂),北京奥博星生物技术有限公司;葡萄糖(分析纯),国药集团试剂有限公司;琼脂(IVD),OXOID。

1.2 试验材料

采用高耐铝红酵母 *Rhodotorula taiwanensis* RS1(RS1)(中国普通微生物菌种保藏管理中心,编号 2.4753)为试验材料。

1.3 培养条件

试验采用低 pH 低磷低镁培养基(LPM),其中镁、磷浓度均为 0.1 mmol/L, pH 为 3.5,具体组分参照文献[21]。采用 50 mmol/L 琥珀酸作为 pH 缓冲液。将 1 mol/L 的铝母液抽滤灭菌后加入高温灭菌后的 LPM 培养基,获得不同铝浓度的 LPM 培养基。液体培养在 30℃、200 r/min 下进行。固体培养基采用酵母浸提粉葡萄糖培养基(YPD),包含 1% 酵母提取物、2% 葡萄糖、2% 蛋白胨和 1% 的琼脂粉, pH 为自然 pH。固体培养在 30℃ 倒置静止进行。

1.4 酵母菌 RS1 的培养过程

从 YPD 平板上挑取单个 RS1 菌落,活化至对数期后接种到 LPM 液体培养基中。前期研究表明,在 LPM 培养基中 70 mmol/L 的铝浓度对 RS1 产生显著抑制作用^[13]。故将 RS1 菌体分别接入铝浓度为 0 和 70 mmol/L 的 LPM 培养中。培养 24 h 后取样,通过检测 OD₆₀₀ 确定菌株的生长状况。然后,3 000 g 离心 5 min 收集菌体,除去上清液,用灭菌的去离子水清洗 3 次后,对菌体进行冷冻干燥处理。冷冻干燥后的菌体样品进行光谱分析。

1.5 光谱测定及光谱数据处理

傅里叶红外光谱(FTIR)测定:称取 2 mg 菌体与 200 mg 溴化钾混匀、压片,制备好后,用 Nicolet 8700

红外光谱仪测定, 测量范围为 $4\ 000\sim 400\text{ cm}^{-1}$, 每次试验对信号进行 32 次扫描累加, 仪器分辨率为 4 cm^{-1} 。

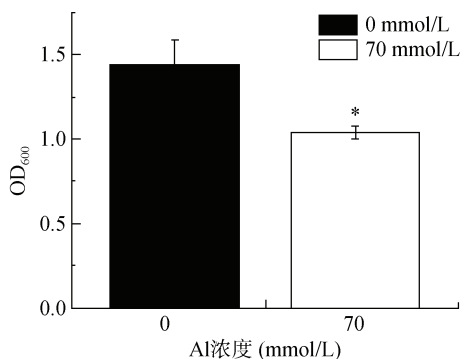
拉曼光谱(Raman)测定: 称取适量菌体放于平板式通用样品架上, 置于样品室内, 采用 DXP 780 拉曼光谱仪检测, 用波长为 780 nm 的激光激发, 积分时间 5.0 s, 测量范围为 $3\ 500\sim 160\text{ cm}^{-1}$ 。

每个样品设置 5 个重复, 谱图均采用 OMNIC 9.0 软件进行处理, 自动基线校正、自动平滑后取平均光谱进行分析, 绘图采用 Origin 8.0 软件。所得数据采用 WPS 2019 和 SPSS 19.0 软件进行处理和统计分析, 用独立样本 t 检验(unpaired Student's t-test)来检测不同处理在 $P<0.05$ 条件下的显著差异性。

2 结果与分析

2.1 红酵母 RS1 对铝的耐受性

在 LPM 培养基中培养 24 h 后, 对照组的 OD_{600} 值为 1.599, 而 70 mmol/L 铝处理组的 OD_{600} 值为 1.001(图 1)。可见, 相应浓度的铝处理显著抑制了 RS1 菌体的生长量, 约抑制了 RS1 菌体 37% 的生长量。



(图中*表示处理间差异在 $P<0.05$ 水平显著, 下同)

图 1 RS1 在不同铝浓度下生长状况

Fig. 1 Tolerance of RS1 to different Al concentrations

2.2 红酵母 RS1 菌体的傅里叶红外光谱

图 2 为红酵母 RS1 在无铝和 70 mmol/L 铝处理下的傅里叶红外光谱图。可以看出, 红酵母 RS1 的傅里叶红外光谱吸收峰种类较多, 在整个波数范围内均有吸收。表 1 列举了 RS1 酵母细胞主要红外光谱信号峰可能对应的生物大分子。由表 1 可见, RS1 的光谱图主要包括几丁质的 O-H 和仲胺的 N-H 的伸缩振动峰($3\ 283\text{ cm}^{-1}$)、蛋白质特征峰($1\ 645$ 、 $1\ 543$ 、 $1\ 240\text{ cm}^{-1}$)、甲基和亚甲基的吸收峰($2\ 923$ 、 $1\ 455\text{ cm}^{-1}$)、 $2\ 853\text{ cm}^{-1}$ 处的峰可能为脂肪酸 C-H 骨架的吸收峰, $1\ 076\text{ cm}^{-1}$ 处的峰可能是细胞壁中碳水化合物的 C-O 伸缩振动峰, $1\ 403\text{ cm}^{-1}$ 处的峰可能是羧基的对称伸

缩振动峰, $1\ 744\text{ cm}^{-1}$ 处的峰可能是酯羰基峰^[22]。此外, 还有 $1\ 377\text{ cm}^{-1}$ 和 $2\ 923\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰, 表明 RS1 细胞表面含有 β -1,3 葡聚糖, 804 cm^{-1} 处的吸收峰可能为甘露聚糖峰^[23]。

图 2 和表 1 结果还显示, 在铝处理后, 804 cm^{-1} 处的吸收峰消失, 推测甘露聚糖与铝结合使得结构发生变化以致吸收峰消失; $1\ 403\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰移至 $1\ 397\text{ cm}^{-1}$, 表明羧基的 C-O 键发生位移, 且吸收峰强度降低至对照的 44.3%(图 3)。铝处理后在 $1\ 706\text{ cm}^{-1}$ 处出现了一个新的吸收峰, 这可能来自羰基基团。为了描述红酵母 RS1 铝处理后细胞中生物大分子的变化规律, 本文总结了铝处理后主要特征峰的强度变化(图 3)。统计结果显示, 铝处理后多糖类吸收峰强度无显著变化($1\ 076\text{ cm}^{-1}$), 酰胺 I 带吸收峰($1\ 645\text{ cm}^{-1}$) 强度显著上升, 这个蛋白质特征峰强度的增加, 暗示 RS1 在铝胁迫下蛋白质合成增强。

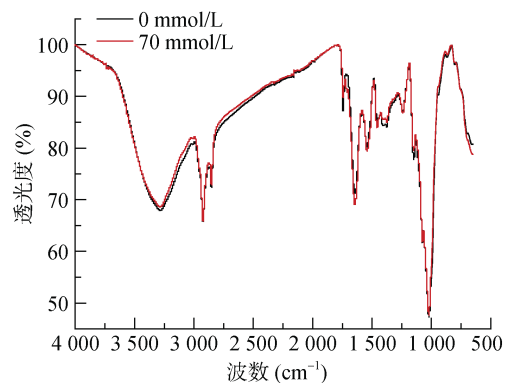


图 2 RS1 傅里叶红外光谱图
Fig. 2 FTIR spectroscopy of RS1

2.3 红酵母 RS1 菌体的拉曼光谱

图 4 为红酵母 RS1 在无铝和 70 mmol/L 铝处理下的拉曼光谱图。表 2 列举了 RS1 酵母细胞主要拉曼光谱信号峰可能对应的生物大分子。如图 4 和表 2 所示, 红酵母 RS1 拉曼谱光图中 $1\ 002\text{ cm}^{-1}$ 处的峰来源于苯丙氨酸单基取代苯基环, $1\ 083\text{ cm}^{-1}$ 处的峰属于核酸和脂类, $1\ 153\text{ cm}^{-1}$ 处的峰属于蛋白质, $1\ 289\text{ cm}^{-1}$ 处的峰属于脂类, $1\ 450\text{ cm}^{-1}$ 处的峰属于脂类和蛋白质, $1\ 656\text{ cm}^{-1}$ 处的峰主要来自蛋白酰胺 I 的 C=O 伸缩振动, 属于蛋白质二级结构的 α -螺旋结构^[24-26]。

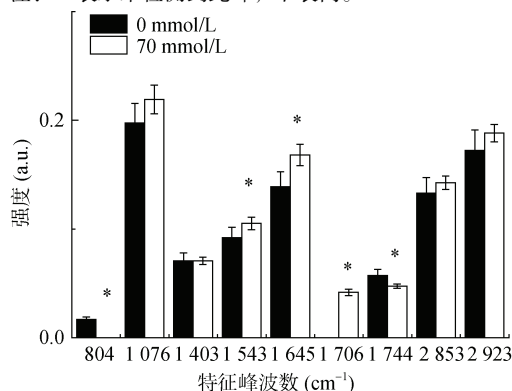
图 4 和表 2 还所示, 铝处理后 RS1 出现了 3 个新的特征峰, 分别是 779 cm^{-1} 核糖核酸(RNA)峰、 856 cm^{-1} 的酪氨酸峰和 $1\ 270\text{ cm}^{-1}$ 酰胺 III 带峰。然而, 检测到的特征峰并无明显漂移现象, 也无显著强度变化(图 5)。

表 1 RS1 酵母细胞傅里叶红外光谱主要信号峰可能对应的生物大分子(基团)^[22-23]

Table 1 Tentative assignment of FTIR derived from RS1

对照组峰位(cm^{-1})	铝处理组峰位(cm^{-1})	对应基团指认
804	-	甘露聚糖
1 076	1 076	多糖(C-O 键的伸缩振动)
1 240	1 240	酰胺 III 带(N-H 键的弯曲振动和 C-N 键的伸缩振动)
1 377	1 376	CH_3 的伸缩振动
1 403	1 397	羧酸酯(C-O 键的伸缩振动)
1 455	1 455	CH_3 和 CH_2 的变形振动
1 543	1 542	酰胺 II 带(N-H 键的弯曲振动和 C-N 键的伸缩振动)
1 645	1 646	酰胺 I 带(C=O 的伸缩振动)
-	1 706	C=O
1 744	1 744	酯(C=O 的伸缩振动)
2 853	2 853	脂肪酸(C-H 键的伸缩振动)
2 923	2 923	CH_2 的不对称伸缩振动
3 283	3 284	O-H 和 N-H 键的伸缩振动

注：- 表示未检测到此峰，下表同。



(图中显示的峰位置为对照组峰位置，下图同)

图 3 RS1 铝处理及对照的傅里叶红外光谱特征峰强度

Fig. 3 FTIR intensities of RS1 with and without Al treatment

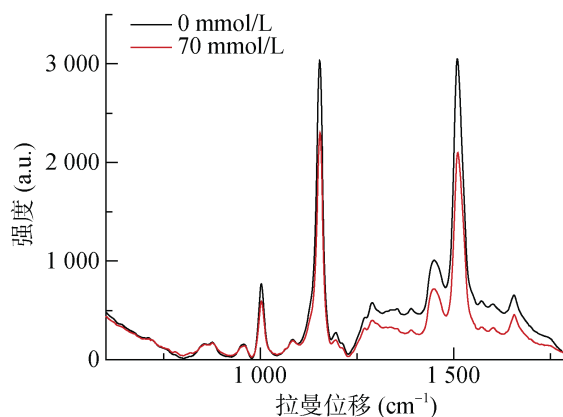


图 4 RS1 拉曼光谱图

Fig. 4 Raman spectra of RS1

表 2 RS1 酵母细胞拉曼光谱主要信号峰可能对应的生物大分子(基团)^[24-26]

Table 2 Tentative assignment of Raman bands derived from RS1

对照组峰位(cm^{-1})	铝处理组峰位(cm^{-1})	对应基团指认
-	779	核糖核酸(碱基)
-	856	酪氨酸(对羟基苯基呼吸振动)
875	875	乙醇(C-C-O 伸缩振动)
957	958	蛋白质(N-C α -C 伸缩振动)
1 002	1 002	苯丙氨酸(苯环呼吸振动)
1 083	1 084	脂类(C-C 键扭曲旋转), 核酸(O=P-O 键伸缩振动)
1 153	1 154	蛋白质(C-C 键伸缩振动)
-	1 270	酰胺 III 带(N-H 键的弯曲振动和 C-N 键的伸缩振动), 脂类(=C-H 键的变形振动)
1 289	1 289	脂类(CH_2 弯曲变形振动)
1 450	1 448	脂类, 蛋白质(C-H 键变形振动)
1 572	1 572	鸟嘌呤和腺嘌呤
1 600	1 602	酪氨酸和苯丙氨酸
1 656	1 656	酰胺 I 带 α -螺旋(C=O 伸缩振动)

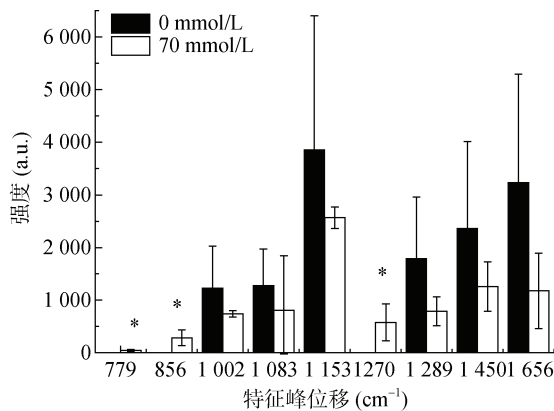


图 5 RS1 铝处理及对照的拉曼光谱特征峰强度
Fig. 5 Raman intensities of RS1 with and without Al treatment

3 讨论

傅里叶红外光谱结果显示,红酵母 RS1 的无铝对照组在 804 cm^{-1} 处检测出甘露聚糖吸收特征峰,但铝处理后此峰消失,推测甘露聚糖参与对铝的固定过程使其结构发生变化。Kapoor 和 Viraraghavan^[27] 研究发现,细胞壁甘露聚糖对金属离子表现出很强的吸附能力。铝处理下 RS1 羧基的 C-O 键发生位移,由 1403 cm^{-1} 移至 1397 cm^{-1} ,红移 6 cm^{-1} ,同时峰强度减弱。这种位移归属于羧基阴离子与阳离子的结合,说明羧基基团可能参与了对铝的吸附作用。已有研究报道,酿酒酵母细胞表面羧基基团在对铜离子和铅离子等金属离子吸附中起重要作用^[28-29],表明羧基对酵母抵御金属离子胁迫的贡献可能具有广泛性。同时在 1706 cm^{-1} 处出现了一个新的吸收峰,可能来自羰基基团,说明羰基也是 RS1 对铝的吸附位点。而拉曼光谱中 RS1 铝处理组在 1270 cm^{-1} 新出现的酰胺 III 带吸收峰,在 856 cm^{-1} 处出现酪氨酸吸收峰,表明酰胺基和酪氨酸也是铝离子吸附位点。任铮宇等^[30] 也发现,嗜重金属菌菌体表面的羰基和酰胺基等官能团在对金属离子的吸附中起关键作用。前人大量研究表明,细胞表面羟基是酵母吸附金属离子的一个重要位点^[17-18, 28-29],但在本研究中并未发现 RS1 的羟基峰对铝处理有明显响应,这可能与吸附的金属离子不同,或与不同菌株之间的差异相关。

铝处理后的 RS1 红外光谱特征峰酰胺 I 带吸收峰(1645 cm^{-1})和酰胺 II 带吸收峰(1543 cm^{-1})吸收强度均显著增加,这两个蛋白质特征峰强度的变化表明铝处理后 RS1 细胞的部分蛋白质合成增加。李金金等^[31] 采用拉曼光谱对铝处理后土生隐球酵母检测发现蛋白质类峰强度下降,这是铝毒诱导土生隐球酵母

细胞发生凋亡引起的。鲍改玲等^[32] 用 ZnSO_4 处理啤酒酵母时,发现处理后蛋白质特征峰的吸光度下降,认为是蛋白质参与结合 Zn^{2+} 所致。铝胁迫下 RS1 蛋白质增加或许与 RS1 高耐铝性相关。

傅里叶红外光谱和拉曼光谱研究结果发现了可能参与铝吸附的不同官能团,傅里叶红外光谱主要有羧基和羰基,拉曼光谱主要是酰胺基。因此,傅里叶红外光谱和拉曼光谱技术结合运用,能够更加全面地揭示 RS1 细胞表面与铝吸附相关的官能团,充分发掘其耐铝机制。黄皓等^[20] 曾将红外和拉曼光谱技术结合用于对酿酒酵母吸附 Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 的相互作用机理研究,通过红外光谱发现酿酒酵母对 Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 的吸附主要与羟基和羧基官能团有关,然后通过这两个基团对应的拉曼光谱峰强度的增加进一步确定其参与酿酒酵母的吸附过程。由此可见,两种光谱技术所得结果既可以相互验证,也可以相互补充,结合起来使用增强了研究结果的可信度,也使得研究结果更加全面。综上所述,红酵母 RS1 细胞表面对铝有吸附固定作用的生物大分子主要是细胞壁多糖以及蛋白质,羧基、羰基、酰胺基对铝的吸附固定作用可能是 RS1 具有高耐铝性的重要机理之一。这些基团或许也参与了其他耐铝微生物对铝的吸附过程,对研究其他耐铝微生物对铝吸附基团有一定借鉴和参考作用,并为微生物的耐铝性研究提供了一定的理论依据。对于高耐铝微生物耐铝机制的研究,不仅补充了生物的耐铝机制,为植物耐铝毒机制的研究提供一种新视角,而且高耐铝特征有助于筛选和通过遗传改良获得抗铝毒害能力较强的植物品种,这是解决酸性土壤中铝毒害的高效途径之一。因此,高耐铝微生物的特性研究对酸性土壤的改良与修复、生产潜力提升有重大意义。

4 结论

红酵母 RS1 细胞表面与铝吸附相关的物质主要是细胞壁葡聚糖,主要涉及的官能团包括羧基、羰基和酰胺基。这些细胞表面官能团对铝的固定作用可能是红酵母 RS1 高耐铝的一个重要机制。

参考文献:

- [1] Kochian L V. Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants[J]. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 1995, 46(1): 237-260.
- [2] 徐仁扣,李九玉,周世伟,等. 我国农田土壤酸化调控的科学问题与技术措施[J]. 中国科学院院刊, 2018, 33(2): 160-167.

- [3] 沈仁芳. 铝在土壤-植物中的行为及植物的适应机制[M]. 北京: 科学出版社, 2008.
- [4] Kochian L V, Piñeros M A, Hoekenga O A. The physiology, genetics and molecular biology of plant aluminum resistance and toxicity[M]// Lambers H, Colmer T D. Root Physiology: from Gene to Function. Plant Ecophysiology, vol. 4. Dordrecht: Springer, 2005.
- [5] 邱金奎, 张磊, 年洪娟, 等. 一株耐铝隐球酵母菌株 5-2 的分离鉴定及耐铝特性分析[J]. 中国微生态学杂志, 2015, 27(5): 497-500.
- [6] 肖春玲, 王安萍, 贺根和, 等. 油茶根际土壤耐酸铝微生物的筛选[J]. 贵州农业科学, 2012, 40(1): 90-92.
- [7] Ji B, Chen W, Zhu L, et al. Isolation of aluminum-tolerant bacteria capable of nitrogen removal in activated sludge[J]. Marine Pollution Bulletin, 2016, 106(1/2): 31-34.
- [8] Kimoto K I, Aizawa T, Urai M, et al. *Acidocella aluminidurans* sp. nov., an aluminium-tolerant bacterium isolated from *Panicum repens* grown in a highly acidic swamp in actual acid sulfate soil area of Vietnam[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2010, 60(4): 764-768.
- [9] Zhang D M, Duine J A, Kawai F. The extremely high Al resistance of *Penicillium janthineleum* F-13 is not caused by internal or external sequestration of Al[J]. Biometals, 2002, 15(2): 167-174.
- [10] 王阁奇, 年洪娟, 陈丽梅. 微生物耐铝机制的研究进展[J]. 生物技术通报, 2010(4): 59-62.
- [11] Ryan P R, Tyerman S D, Sasaki T, et al. The identification of aluminium-resistance genes provides opportunities for enhancing crop production on acid soils[J]. Journal of Experimental Botany, 2011, 62(1): 9-20.
- [12] Wang C, Zhao X Q, Aizawa T, et al. 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.
- [13] 胡振民, 赵学强, 王超, 等. 细胞壁组分在红酵母 RS1 高耐铝中的作用研究[J]. 土壤, 2017, 49(2): 256-260.
- [14] Kollár R, Petráková E, Ashwell G, et al. Architecture of the yeast cell wall[J]. Journal of Biological Chemistry, 1995, 270(3): 1170-1178.
- [15] Fein J B, Daughney C J, Yee N, et al. A chemical equilibrium model for metal adsorption onto bacterial surfaces[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 1997, 61(16): 3319-3328.
- [16] 张菊华, 朱向荣, 尚雪波, 等. 近红外光谱、中红外光谱、拉曼光谱无损检测技术在食用油脂分析中的研究进展[J]. 食品工业科技, 2010, 31(10): 421-425.
- [17] 丽丽. 粘质红酵母菌 WT6-5 对水中 Pb^{2+} 的耐受性及吸附作用研究[D]. 沈阳: 东北大学, 2013.
- [18] 王晓彧, 郑新艳, 沈扬皓, 等. 酵母菌对低浓度铀的吸附机理及动力学研究[J]. 环境科学学报, 2017, 37(1): 169-177.
- [19] 孙素琴, 刘军, 周群. 傅里叶变换红外光谱和傅里叶变换拉曼光谱法无损鉴别药材的真伪[J]. 分析化学, 2002, 30(2): 140-143.
- [20] 黄皓, 杨忠华, 王光辉, 等. 酿酒酵母吸附 Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 的相互作用机理研究[C]. 中国能源科学家论坛, 2011.
- [21] Sherman F. Getting started with yeast[J]. Methods in Enzymology, 1991, 194: 3-21.
- [22] Han R P, Bao G L, Lu Z. Comparison of infrared spectra of native and esterified beer yeast[J]. Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi, 2004, 24(7): 820-822.
- [23] 王战勇, 杨双春, 苏婷婷. 啤酒废酵母制备碱不溶性葡聚糖[J]. 氨基酸和生物资源, 2006, 28(1): 37-39.
- [24] Huang Y S, Karashima T, Yamamoto M, et al. Molecular-level investigation of the structure, transformation, and bioactivity of single living fission yeast cells by time- and space-resolved Raman spectroscopy[J]. Biochemistry, 2005, 44(30): 10009-10019.
- [25] Puppels G J, de Mul F F M, Otto C, et al. Studying single living cells and chromosomes by confocal Raman microspectroscopy[J]. Nature, 1990, 347(6290): 301.
- [26] Notingher I, Verrier S, Haque S, et al. Spectroscopic study of human lung epithelial cells (A549) in culture: Living cells versus dead cells[J]. Biopolymers, 2003, 72(4): 230-240.
- [27] Kapoor A, Viraraghavan T. Heavy metal biosorption sites in *Aspergillus niger*[J]. Bioresource Technology, 1997, 61(3): 221-227.
- [28] 韩润平, 杨贯羽, 张敬华, 等. 光谱法研究酵母菌对铜离子的吸附机理[J]. 光谱学与光谱分析, 2006, 26(12): 2334-2337.
- [29] 张敬华, 邹卫华, 戴盈盈, 等. 丙酮处理酵母菌吸附铅前后红外光谱分析比较[J]. 河南科学, 2004, 22(6): 777-779.
- [30] 任铮宇. 嗜重金属菌对金属离子的吸附研究[D]. 大连: 大连工业大学, 2013.
- [31] 李金金, 卢明倩, 张晶晶, 等. 拉曼光谱技术研究铝胁迫下的土生隐球酵母细胞凋亡[J]. 中国激光, 2014, 41(11): 276-284.
- [32] 鲍改玲, 张宗培, 韩润平. 啤酒酵母的红外光谱研究[J]. 河南科学, 2002, 20(1): 33-35.