

尚洁. 木蹄层孔菌产锰过氧化物酶的碳氮源优化及酶学性质[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(15): 273-277.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.15.063

# 木蹄层孔菌产锰过氧化物酶的碳氮源优化及酶学性质

尚洁

(北方民族大学生物科学与工程学院, 宁夏银川 750021)

**摘要:** 锰过氧化物酶是环境工程研究领域广泛关注的酶之一,它能够促进生物燃料合成,促使木质素和污染物降解等工业生物过程更好进行。研究木蹄层孔菌产锰过氧化物酶的最适碳源和氮源,揭示锰过氧化物酶的培养方式、最适pH值和pH耐受性、最适温度和温度耐受性、金属离子对其影响等特征。木蹄层孔菌在静置培养时产锰过氧化物酶显著高于振荡培养。小麦麸皮23 g/L和蛋白胨2 g/L是最佳组合的碳源和氮源。锰过氧化物酶在pH值为4.5或温度为50℃时酶活力最高。酶在pH值4.0~4.5或温度30℃以下处理24 h后,仍可保持80%以上的酶活力。底物为愈创木酚时,锰过氧化物酶的 $K_m$ 值为0.34 mmol/L,  $V_{max}$ 为0.12 mmol/L·min。当添加的金属离子浓度为1 mmol/L,与对照相比, $K^+$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $Ba^{2+}$ 、 $Co^{2+}$ 和 $Na^+$ 可极显著抑制MnP活力。当添加的金属离子浓度为10 mmol/L,与对照相比,除 $Mg^{2+}$ 外,其他金属离子均能极显著抑制酶的活力。 $Mg^{2+}$  1、10 mmol/L对酶的活力没有影响。木蹄层孔菌适合在静置培养时产锰过氧化物酶,最适碳源和氮源分别为小麦麸和蛋白胨,酶在室温和偏酸性环境中耐受性较好,并对 $Mg^{2+}$ 有较好耐受性。

**关键词:** 木蹄层孔菌; 锰过氧化物酶; 碳氮源; 酶学性质

**中图分类号:** S182 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)15-0273-05

木质素是自然界中在数量上仅次于纤维素的第二大生物高分子材料,在能源和日用化工品应用方面具有巨大的潜在价值。锰过氧化物酶(MnP, E. C. 1.11.1.13)是一种含有血红素和 $Mn^{2+}$ 结合部位的过氧化物酶,它在木质素降解过程中发挥着重要的作用。MnP通过氧化 $Mn^{2+}$ 为 $Mn^{3+}$ 直接氧化木质素,并将 $Mn^{3+}$ 分泌到胞外。了解聚天然和合成木质素, MnP还具有修复工业废料的巨大潜能,如降解难处理的工业污染物。MnP能够有效地进行合成染料的脱色,如甲基橙<sup>[1]</sup>和三苯甲烷类染料<sup>[2]</sup>,这种潜在的能力已经引起了广泛的关

注。除了染料脱色,白腐真菌分泌的MnP还可以用于降解持久性有机污染物,如多环芳烃<sup>[3]</sup>、2,4,6-三硝基甲苯<sup>[4]</sup>和联苯中间代谢物<sup>[5]</sup>。如何提高白腐真菌MnP产量,提高酶的活性成为人们日益关心的问题。因此,产酶条件的优化和酶学特性的研究,将有助于MnP的产量增加,酶活力的提高,使MnP能够在未来更好地应用于各个领域。木蹄层孔菌(*Fomes fomentarius*)是担子菌门的一种白腐真菌,常见于桦树和杨树,广泛存在于非洲、亚洲、欧洲和北美洲,在我国主要分布于东北地区、西北地区和西南地区。前期研究发现,木蹄层孔菌能够有效降解白桦中的木质素,保留较高含量的纤维素和较低含量的1% NaOH和苯醇抽出物<sup>[6]</sup>,在白桦生物转化中具有潜在的应用价值。本研究进行了木蹄层孔菌产MnP的碳氮源优化及酶学性质研究,旨在为今后MnP的利用提供相关理论依据。

收稿日期:2018-03-30

基金项目:北方民族大学校级科研项目(编号:2018XYZSK05);宁夏自然科学基金(编号:NZ17110)。

作者简介:尚洁(1979—),女,宁夏中卫人,博士,副教授,主要从事白腐真菌木质纤维素降解研究。E-mail:shangjie@126.com。

[5]徐茂,王绪奎,顾祝军,等.江苏省环太湖地区速效磷和速效钾含量时空变化研究[J].植物营养与肥料学报,2007,13(6):983-990.

[6]张巧凤,吴纪中,颜伟,等.江苏省沿海地区小麦品种更替与演变分析[J].植物遗传资源学报,2015,16(6):1179-1187.

[7]龚金龙,张洪程,常勇,等.稻麦“双迟”栽培模式及其周年生产力的综合评价[J].中国水稻科学,2011,25(6):629-638.

[8]林葆,李家康.我国化肥的肥效及其提高的途径——全国化肥试验网的主要结果[J].土壤学报,1989,26(3):273-279.

[9]谭德水,刘兆辉,江丽华.中国冬小麦施肥历史演变及阶段特征研究进展[J].中国农学通报,2016,32(12):13-19.

[10]黄丽君.苏南地区中、弱筋小麦高产节肥栽培模式研究[D].扬州:扬州大学,2016.

[11]张洪程,陈长林,刘金明.江苏江北丘陵小麦生育特性及高产栽培

技术模式的研究[J].耕作与栽培,1990(5):38-44.

[12]苏毅清,王志刚.农户施用测土配方肥及效果满意度的影响因素[J].湖南农业大学学报(社会科学版),2014,15(6):25-31.

[13]杨泳冰,胡浩,王益文.农户以商品有机肥替代化肥的行为分析[J].湖南农业大学学报(社会科学版),2012,13(6):1-7.

[14]陶俊生,徐粉粉,李明华.农户生态行为的影响因素研究——基于杭州市农民有机肥施用的调查[J].江南论坛,2016(4):27-29.

[15]肖龙锋,张兵.土地流转与农户内部收入差距扩大——基于江苏39个村725户农户的调查分析[J].财经论丛(浙江财经大学学报),2017,224(9):10-18.

[16]杨慧.影响太湖流域农户化肥投入的因素分析[D].南京:南京农业大学,2009.

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

试验于2013年9月至2014年3月在宁夏回族自治区北方民族大学进行。木蹄层孔菌为北方民族大学生物化学实验室保存,4℃生长于木屑麦麸培养基(78%白桦木屑、20%麦麸、1%CaSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O、1%蔗糖)。马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基(1L):马铃薯200g、葡萄糖20g、琼脂20g、pH值自然。基础培养基<sup>[7]</sup>(1L):葡萄糖10.0g、酒石酸胺0.2g、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>2.0g、MgSO<sub>4</sub>0.5g、CaCl<sub>2</sub>0.1g、琥珀酸(二)甲酯1.3mL、微量元素70.0mL、硫酸素(维生素B<sub>1</sub>)1.0mg。其中微量元素1L:MgSO<sub>4</sub>3.0g、MnSO<sub>4</sub>0.5g、NaCl1g、FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O0.1g、CaCl<sub>2</sub>0.1g、ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O0.1g、CuSO<sub>4</sub>0.1g、KAl(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·12H<sub>2</sub>O10.0mg、NaMoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O10.0mg、次氨基三乙酸酯(NTA)1.5g。

### 1.2 方 法

1.2.1 粗酶液的制备 将木蹄层孔菌接种到PDA固体培养基上,28℃避光培养约7d待菌丝长满培养皿。取2个直径6mm的菌饼接入装有15mL液体培养基的三角瓶(100mL)中,28℃避光静置培养。另取6个直径为6mm的菌饼接入装有45mL液体培养基的三角瓶(100mL)中,28℃180r/min避光振荡培养。取液体培养基,4℃10000r/min离心10min,取上清液即为粗酶液。

1.2.2 MnP活力测定 MnP酶活定义为1min内催化氧化1μmol/L愈创木酚所需的酶量为1个酶活力单位(U)。酶活测定体系包括500μL的粗酶液,300μL的4mmol/L的愈创木酚溶液,1500μL的酒石酸钠缓冲溶液(0.1mol/L,pH值5),60μL的10mmol/L的MnSO<sub>4</sub>溶液,60μL的5mmol/LH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,580μL的H<sub>2</sub>O。测定温度为30℃时,465nm[ε=1.21×10<sup>4</sup>L/(mol·cm)]波长处2min内吸光度的变化。

1.2.3 碳源和氮源的优化 试验采用单因素试验,考察不同碳源和氮源对木蹄层孔菌产MnP的影响。根据单因素试验结果,对最佳碳源和氮源进行2个因素4个水平正交试验,以获得碳源和氮源的最佳浓度。正交试验因素水平见表1。

表1 木蹄层孔菌产MnP碳氮源正交试验因素水平设计

水平	因素	
	A:碳源(g/L)	B:氮源(g/L)
1	20	1.5
2	23	2.0
3	26	2.5
4	29	3.0

1.2.4 酶反应的最适pH值和pH值耐受性 分别在温度4℃,pH值为3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0的缓冲液中测定粗酶液中MnP活力。同时,将粗酶液和pH值为3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0的缓冲液混合温度为在4℃保持1h和24h,测定粗酶液中MnP活力。试验中的最高酶活定义为100%。

1.2.5 酶反应的最适温度和热耐受性 在最适pH值,温度为20、30、40、50、60、70、80℃条件下分别测定粗酶液中MnP活力。同时,分别在温度为20、30、40、50、60℃条件下将粗酶

液保温1h和24h,测定粗酶液中MnP活力。试验中的最高酶活力定义为100%。

1.2.6 金属离子对酶反应的影响 在粗酶液中分别添加终浓度为1mmol/L和10mmol/L的钙(Ca<sup>2+</sup>)、铁(Fe<sup>2+</sup>)、镁(Mg<sup>2+</sup>)、铜(Cu<sup>2+</sup>)、钡(Ba<sup>2+</sup>)、锰(Mn<sup>2+</sup>)、锌(Zn<sup>2+</sup>)、钠(Na<sup>+</sup>)、钴(Co<sup>2+</sup>)、钾(K<sup>+</sup>)。最适pH值条件下,温度为30℃保温1h后测定粗酶液中MnP活力。试验中未添加金属离子的酶活定义为100%。

1.2.7 MnP的动力学研究 当愈创木酚浓度为0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.10mmol/L时,测定粗酶液中的MnP活力。

1.2.8 统计分析 本试验中所有数据均平行重复3次,结果为“平均值±标准差”。结果使用统计分析软件SPSS进行邓肯多重比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 培养方式对木蹄层孔菌产MnP的影响

振荡培养和静置培养对木蹄层孔菌MnP活力的影响,结果见图1。将木蹄层孔菌在液体培养基中分别培养6、9、12d后,静置培养产生的MnP活力均显著高于振荡培养。其中,静置培养9d产生的MnP活力最大,达到89.16U/L,相同条件下静置培养是振荡培养(21.04U/L)的4.2倍。同时研究发现,静置培养9d与静置培养12d的酶活力差异不显著。

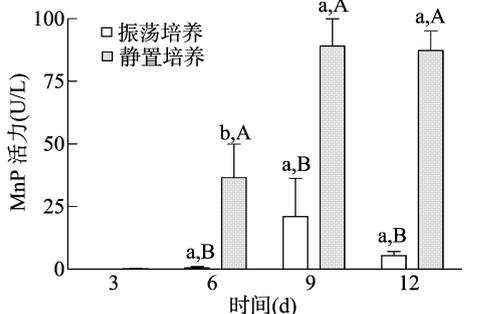
### 2.2 碳源和氮源的选择

2.2.1 不同碳源的选择 在培养基中分别添加10g/L的可溶性淀粉、麦芽糖、玉米粉、白桦木屑、麦麸作为碳源,研究不同碳源对木蹄层孔菌MnP活力的影响。试验结果见图2,以麦麸作为碳源时,在10、12、14d产生的MnP活力均显著高于以玉米粉、白桦木屑作为碳源产生的酶活力。以麦麸作为碳源时,在12、14d所产生的MnP活力无显著差异。以可溶性淀粉、麦芽糖作为碳源时,在整个培养期间,均未测得酶活。结果表明,以麦麸作为碳源,可以有效促进木蹄层孔菌MnP的产生,而可溶性淀粉和麦芽糖作为碳源不利于MnP的分泌。

2.2.2 不同氮源的选择 在培养基中添加10g/L麦麸为碳源,分别添加0.2g/L的酵母浸膏、酒石酸铵、牛肉膏、蛋白胨作为氮源,研究对木蹄层孔菌MnP活力的影响。试验结果见图3,4种不同的氮源处理所产MnP的活力,均在10~14d内达到最大值,其中以蛋白胨作为氮源时,在10、12d测得的MnP活力最高,均显著高于其他氮源测得的酶活。研究发现以蛋白胨为氮源时,10、12d所产MnP活力并无显著差异。结果表明,蛋白质可以作为木蹄层孔菌产MnP的有效氮源,培养10d即可获得理想的MnP产量,延长培养时间不利于MnP的有效积累。

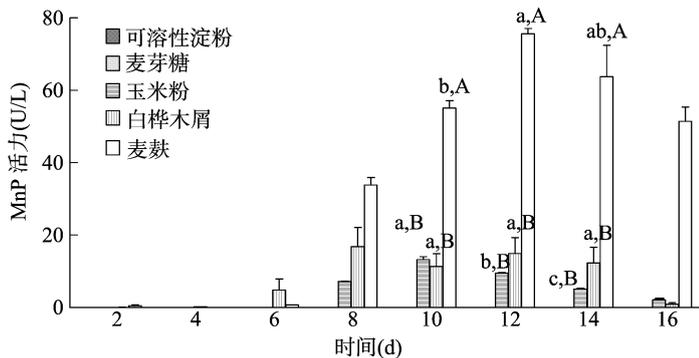
### 2.3 碳源和氮源正交试验

基于上述碳源和氮源不同浓度的影响结果,设计2个因素4个水平正交表优化木蹄层孔菌产MnP的碳源和氮源浓度(表2)。正交试验结果显示,碳源对木蹄层孔菌MnP活力的影响最明显,氮源其次。本试验以培养10d的MnP活力为主要指标,确定最佳MnP活力条件为麦麸23g/L,蛋白胨2g/L。在此条件下MnP活力可达123.51U/L,比优化前MnP活力提高了38.52%。



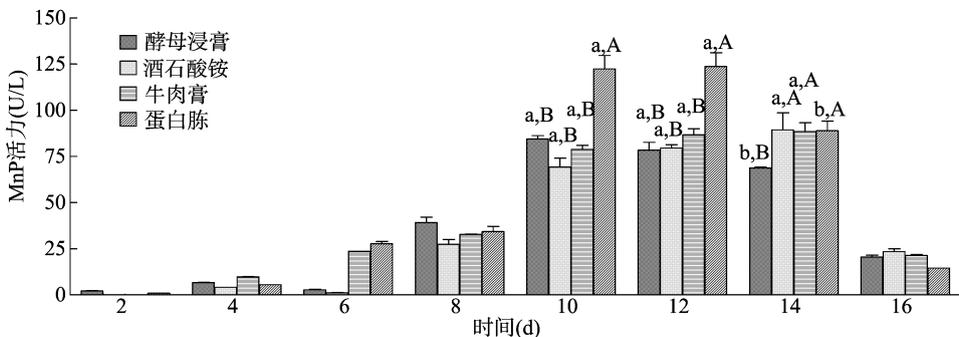
不同小写字母表示不同培养时间间具有显著差异 ( $P < 0.05$ )。图2, 图3同。不同大写字母表示培养方式间具有显著差异 ( $P < 0.05$ )

图1 静置培养和振荡培养对木蹄层孔菌 MnP 活力的影响



不同大写字母表示不同碳源间具有显著差异 ( $P < 0.05$ )

图2 不同碳源对木蹄层孔菌 MnP 活力的影响



不同大写字母表示不同氮源间具有显著差异 ( $P < 0.05$ )

图3 不同氮源对木蹄层孔菌 MnP 活力的影响

表2 基于最佳碳源和氮源不同浓度的正交优化结果

试验号	A:碳源	B:氮源	MnP 活力 (U/L)
1	1	1	68.50 ± 1.46
2	1	2	55.06 ± 3.56
3	1	3	94.54 ± 6.37
4	1	4	102.57 ± 6.02
5	2	1	100.69 ± 6.57
6	2	2	123.51 ± 18.70
7	2	3	114.65 ± 21.62
8	2	4	93.07 ± 4.46
9	3	1	59.75 ± 4.96
10	3	2	85.12 ± 3.74
11	3	3	107.55 ± 2.99
12	3	4	78.20 ± 5.85
13	4	1	55.83 ± 3.92
14	4	2	63.03 ± 2.93
15	4	3	87.17 ± 1.88
16	4	4	98.70 ± 7.41
$k_1$	80.17	71.20	
$k_2$	107.95	81.65	
$k_3$	82.66	100.98	
$k_4$	76.18	89.54	
$R'$	31.77	29.78	

2.4 酶反应的最适 pH 值和 pH 耐受性

取静置培养 10 d 的粗酶液,以愈创木酚作为底物,在 pH 值 3.5 ~ 6.0 范围内,测定木蹄层孔菌 MnP 的最适 pH 值。结果显示,随着 pH 值的增加,MnP 的活力逐渐增加,在 pH 值

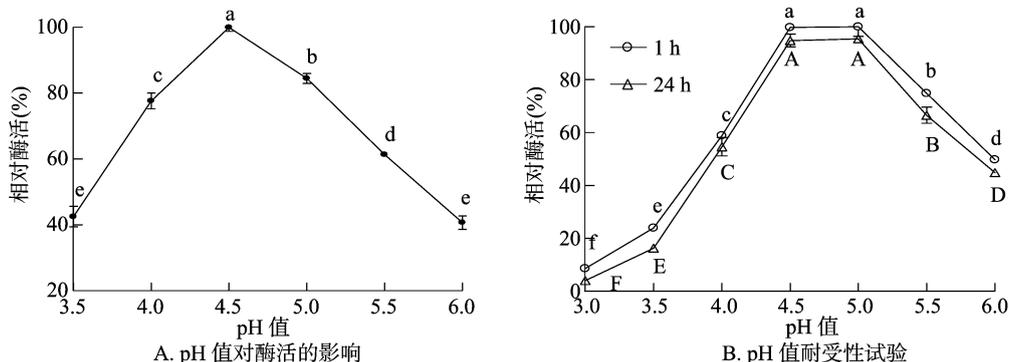
4.5 时达到最大值,之后随着 pH 值的进一步升高,酶活力逐渐降低。其中,在 pH 值为 4 ~ 5 之间时,MnP 均具有较高的酶活力,相对酶活均大于 80%。在 pH 值 4.5 时 MnP 酶活力与 pH 值 4 和 pH 值 5 时相比差异显著,结果表明,木蹄层孔菌 MnP 的最适 pH 值为 4.5 (图 4 - A)。

在温度为 4 °C 时,分别将粗酶液置于 pH 值为 3 ~ 6 的缓冲液中处理 1 h 和 24 h,研究木蹄层孔菌 pH 值耐受性。结果显示,在 pH 值 4.5 和 pH 值 5.0 条件下分别处理 1 h 和 24 h 后,木蹄层孔菌 MnP 相对酶活力均能保持在 89% 以上,2 种条件下测得的酶活力差异不显著。结果表明,木蹄层孔菌 MnP 在 pH 值 4.5 ~ 5.0 之间具有较好的耐受性(图 4 - B)。

2.5 酶反应的最适温度和温度耐受性

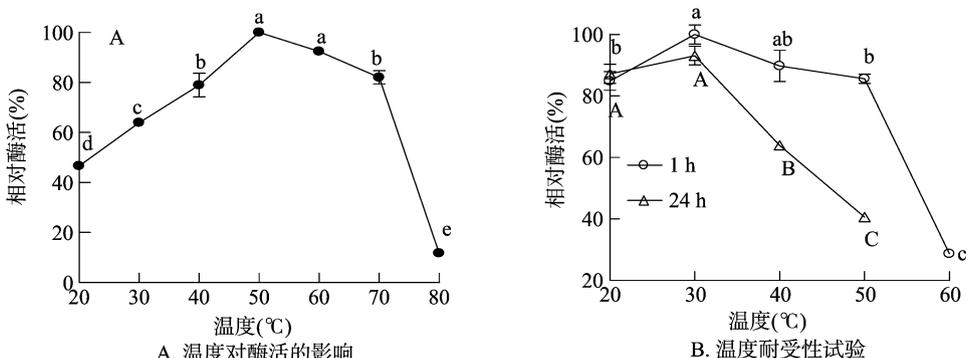
取粗酶液在温度为 20 ~ 80 °C 条件下测定木蹄层孔菌 MnP 活力,研究其最适温度,结果见图 5 - A。随着温度的升高,MnP 活力逐渐增加,当温度达到 50 °C 时 MnP 活力达到最大,随着温度的进一步升高,MnP 活力逐渐降低。其中,在温度为 50、60 °C 条件下测得的 MnP 活力差异不显著,因此,确定木蹄层孔菌 MnP 的最适反应温度在 50 ~ 60 °C 之间。

取粗酶液分别在温度为 20 ~ 60 °C 条件下保温 1 h 和 24 h,研究木蹄层孔菌 MnP 的温度耐受性。结果见图 5 - B,当温度超过 30 °C 时,粗酶液在保温 1 h 和 24 h 以后,酶活均开始降低。同一温度下 MnP 保温时间越长,酶活丧失越多。保温 1 h 时,温度为 30、40 °C 的相对酶活几乎都保持在 90% 以上,并且 2 个温度的酶活变化差异不显著。保温 24 h 时,温度为 20、30 °C 的酶活都保持在 87% 以上,但是温度超过 30 °C 时,酶活急剧丧失,当温度达 40 °C 时,相对酶活只有 63.92%。



A. 小写字母表示不同 pH 值间具有显著差异 ( $P < 0.05$ )；B. 小写字母表示不同 pH 值处理 1 h 后具有显著差异 ( $P < 0.05$ )，大写字母表示不同 pH 值处理 24 h 后具有显著差异 ( $P < 0.05$ )

图4 pH 值对木蹄层孔菌 MnP 活力和耐受性的影响



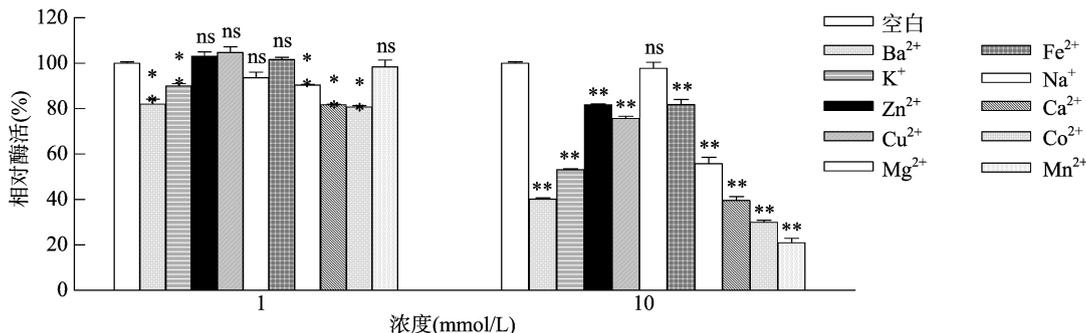
A. 小写字母表示不同温度间具有显著差异 ( $P < 0.05$ )；B. 小写字母表示不同温度处理 1 h 后具有显著差异 ( $P < 0.05$ )，大写字母表示不同温度处理 24 h 后具有显著差异 ( $P < 0.05$ )

图5 温度对木蹄层孔菌 MnP 活力和耐受性的影响

2.6 金属离子对酶活力的影响

选取 10 种金属离子,研究 1、10 mmol/L 金属离子对木蹄层孔菌 MnP 活力的影响,结果见图 6。当金属离子浓度为 1 mmol/L 时,与对照相比,粗酶液中添加  $Ba^{2+}$ 、 $K^+$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $Co^{2+}$  和  $Na^+$  对木蹄层孔菌 MnP 活力具有显著抑制作用;而添加  $Zn^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$  和  $Fe^{2+}$  对 MnP 活力无显著影响。当金属离子

浓度为 10 mmol/L 时,除了  $Mg^{2+}$  与对照无显著差异外,其他金属离子均表现出对 MnP 活力具有极显著的抑制作用,其中  $Mn^{2+}$  和  $Co^{2+}$  对酶活的抑制作用最大,相对酶活分别降低至 20.92% 和 29.93%。在反应液中  $Mg^{2+}$  浓度为 1 mmol/L 和 10 mmol/L 时,MnP 相对酶活分别为 93.76% 和 97.72%,表明  $Mg^{2+}$  对 MnP 酶活几乎没有影响,差异不显著。



\*表示差异显著 ( $P < 0.05$ )；\*\*表示差异极显著 ( $P < 0.01$ )；ns 表示差异不显著 ( $P > 0.05$ )

图6 不同金属离子对木蹄层孔菌 MnP 活力的影响

2.7 MnP 的酶动力学研究

以愈创木酚作为底物的 Lineweaver - Burk 见图 7,木蹄层孔菌 MnP 的米氏常数 ( $K_m$ ) 是 0.34 mmol/L,最大速度 ( $v_{max}$ ) 是 0.12 mmol/(L · min)。  $K_m$  值的大小一般能够体现酶对底物的亲和力大小。以愈创木酚作为底物,木蹄层孔菌 MnP 测得的  $K_m$  较小,说明木蹄层孔菌 MnP 对愈创木酚亲和力较大。

3 讨论与结论

已有相关文献报道,白腐真菌产木质素酶的培养方式多选择振荡培养<sup>[8-9]</sup>,可能因为振动培养可以增加细胞和培养基之间氧的传递,同时增加生物量以及酶的产量。但是在木蹄层孔菌中发现,振荡培养测得的 MnP 酶活力远远低于静置

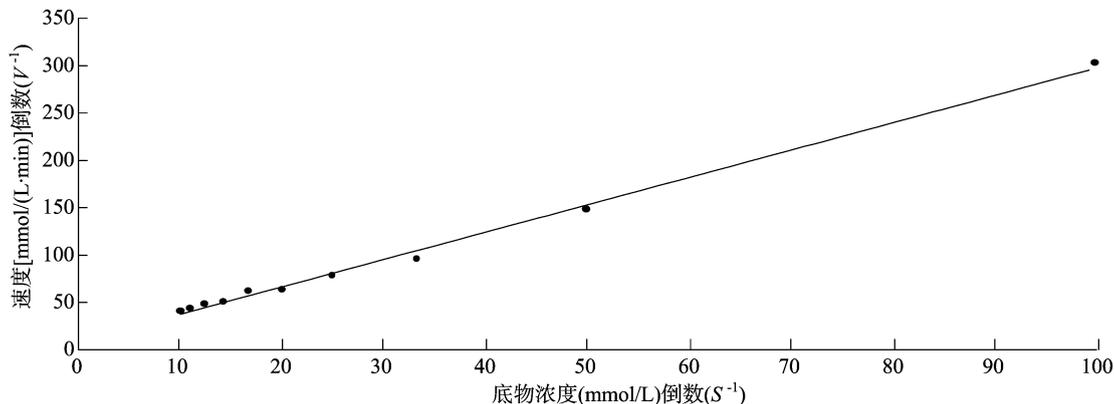


图7 木蹄层孔菌 MnP 的 Lineweaver-Burk

培养时,可能因为振荡培养会使木蹄层孔菌形成菌丝球,不利于分泌 MnP,也可能振荡培养会使部分 MnP 因机械损伤失去活力。在对 *Pleurotus ostreatus* 的研究中也发现,其产生的木质素酶漆酶在静置培养时产量明显高于振荡培养<sup>[10]</sup>。

木蹄层孔菌 MnP 活力的最适 pH 值是 4.5,在 pH 值 4.5~5.0 之间的耐受性最好,这与大多数研究报道的真菌<sup>[8,11-13]</sup> MnP 相同,也介于 4.0~5.5 之间。木蹄层孔菌 MnP 的最适反应温度是 50℃,温度为 20~30℃ 时 MnP 的稳定性较好,在木质层孔菌和 *Echinodontium taxodii* 2538 中发现的 MnP 的最适温度分别为 52、55℃<sup>[9]</sup>。

Mg<sup>2+</sup> (1、10 mmol/L) 对木蹄层孔菌 MnP 活力没有影响,本结果与对木质层孔菌 MnP 酶的研究结果<sup>[13]</sup> 相同。数据显示,1 mmol/L 的 Mn<sup>2+</sup> 对木蹄层孔菌 MnP 活力没有显著影响,10 mmol/L Mn<sup>2+</sup> 显著抑制 MnP 活力。尽管已有研究表明,金属离子 Mn<sup>2+</sup> 在很多白腐真菌中被认为是一种强有力的产酶诱导剂<sup>[14-15]</sup>,但是在木蹄层孔菌中却表现了对锰过氧化物酶产生抑制作用,具体原因还有待于进一步研究阐明。

本研究获得了木蹄层孔菌产 MnP 的最适培养方式为静止浅层培养,最佳碳源和氮源组合为小麦麸皮 23 g/L、蛋白胨 2 g/L。同时发现含木质纤维素的碳源有利于 MnP 的合成。木蹄层孔菌 MnP 的 pH 值耐受范围位于酸性区域,室温条件下稳定性较好,对 Mg<sup>2+</sup> 具有较好的耐受性。

#### 参考文献:

- [1] 董明,于晓龙,孙 磊,等. 不同培养条件下锰过氧化物酶(MnP)的合成及其对甲基橙的降解[J]. 环境工程学报,2015,9(5):2510-2514.
- [2] 杨秀清,李树仁,沈 翀,等. 耐过氧化氢的锰过氧化物酶对三苯甲烷类染料的脱色[J]. 微生物学通报,2013,40(8):1356-1364.
- [3] Gupte A, Tripathi A, Patel H, et al. Gupte S. *bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs): a perspective* [J]. Open Biotech J,2016,10(1):363-378.
- [4] van A B, Hofrichter M, Scheibner K, et al. Transformation and mineralization of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) by manganese peroxidase from the white-rot basidiomycete *Phlebia radiata* [J]. Biodegradation,1999,10(2):83-91.
- [5] 杨秀清,张新宪. 白腐菌 SQ01 锰过氧化物酶对联苯中间代谢物的转化[J]. 微生物学报,2016,56(6):1044-1055.
- [6] Shang J, Yan S P, Wang Q Y. Degradation mechanism and chemical component changes in *Betula platyphylla* wood by wood-rot fungi [J]. BioResources,2013,8(4):6066-6077.
- [7] Tien M, Kirk T K. Lignin-degrading enzyme from the hymenomycete *Phanerochaete chrysosporium* burds [J]. Science,1983,221(4611):661-663.
- [8] Zhang H, Zhang S, He F, et al. Characterization of a manganese peroxidase from white-rot fungus *Trametes* sp. 48424 with strong ability of degrading different types of dyes and polycyclic aromatic hydrocarbons [J]. J Hazard Mater,2016,320:265-277.
- [9] Kong W, Chen H, Si L, et al. Characterization of a novel manganese peroxidase from white-rot fungus *Echinodontium taxodii* 2538, and its use for the degradation of lignin-related compounds [J]. Process Biochemistry,2016,51(11):1776-1783.
- [10] Hou H M, Zhou J T, Wang J, et al. Enhancement of laccase production by *Pleurotus ostreatus* and its use for the decolorization of anthraquinone dye [J]. Process Biochemistry, 2004, 39(11):1415-1419.
- [11] Knop D, Yarden O, Hadar Y. The ligninolytic peroxidases in the genus *Pleurotus*: divergence in activities, expression, and potential applications [J]. Applied Microbiology and Biotechnology,2015,99(3):1025.
- [12] Sklenar J, Niku-Paavola M L, Santos S, et al. Isolation and characterization of novel pI 4.8 MnP isoenzyme from white-rot fungus *Irpex lacteus* [J]. Enzyme and Microbial Technology,2010,46(7):550-556.
- [13] 崔艳红,韩庆功,常魁珍,等. 木质层孔菌产锰过氧化物酶条件的优化及酶学性质研究[J]. 饲料工业,2012,33(12):55-59.
- [14] Boer C G, Obici L, de Souza C G, et al. Decolorization of synthetic dyes by solid state cultures of *Lentinula (Lentinus) edodes* producing manganese peroxidase as the main ligninolytic enzyme [J]. Bioresource Technology,2004,94(2):107-112.
- [15] Asgher M, Ramzan M, Bilal M. Purification and characterization of manganese peroxidases from native and mutant *Trametes versicolor* IBL-04 [J]. Chinese Journal of Catalysis,2016,37(4):561-570.