

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] 肖龙铎, 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(1 L):马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂 20 g、pH 值自然。基础培养基<sup>[7]</sup>(1 L):葡萄糖 10.0 g、酒石酸胺 0.2 g、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2.0 g、MgSO<sub>4</sub> 0.5 g、CaCl<sub>2</sub> 0.1 g、琥珀酸(二)甲酯 1.3 mL、微量元素 70.0 mL、硫胺素(维生素 B<sub>1</sub>)1.0 mg。其中微量元素 1 L:MgSO<sub>4</sub> 3.0 g、MnSO<sub>4</sub> 0.5 g、NaCl 1 g、FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.1 g、CaCl<sub>2</sub> 0.1 g、ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.1 g、CuSO<sub>4</sub> 0.1 g、KAl(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·12H<sub>2</sub>O 10.0 mg、NaMoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 10.0 mg、次氨基三乙酸酯(NTA)1.5 g。

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 7 d 待菌丝长满培养皿。取 2 个直径 6 mm 的菌饼接入装有 15 mL 液体培养基的三角瓶(100 mL)中,28℃避光静置培养。另取 6 个直径为 6 mm 的菌饼接入装有 45 mL 液体培养基的三角瓶(100 mL)中,28℃180 r/min 避光振荡培养。取液体培养基,4℃10 000 r/min 离心 10 min,取上清液即为粗酶液。

1.2.2 MnP 活力测定 MnP 酶活定义为 1 min 内催化氧化 1 μmol/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 500 μL 的粗酶液,300 μL 的 4 mmol/L 的愈创木酚溶液,1 500 μL 的酒石酸钠缓冲溶液(0.1 mol/L,pH 值 5),60 μL 的 10 mmol/L 的 MnSO<sub>4</sub> 溶液,60 μL 的 5 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,580 μL 的 H<sub>2</sub>O。测定温度为 30℃时,465 nm[ε=1.21×10<sup>4</sup> L/(mol·cm)]波长处 2 min 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 1 h 和 24 h,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 1 h 和 24 h,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 1 mmol/L 和 10 mmol/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 1 h 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、0.10 mmol/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、12 d 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 9 d 产生的 MnP 活力最大,达到 89.16 U/L,相同条件下静置培养是振荡培养(21.04 U/L)的 4.2 倍。同时研究发现,静置培养 9 d 与静置培养 12 d 的酶活力差异不显著。

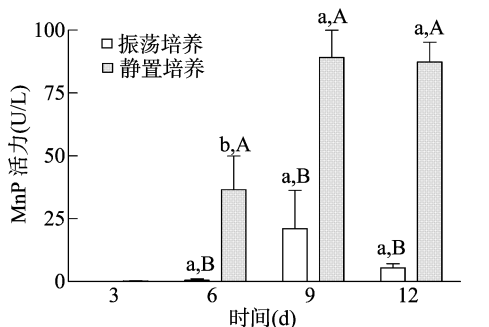
2.2 碳源和氮源的选择

2.2.1 不同碳源的选择 在培养基中分别添加 10 g/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、14 d 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、14 d 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 10 g/L 麦麸为碳源,分别添加 0.2 g/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 10~14 d 内达到最大值,其中以蛋白胨作为氮源时,在 10、12 d 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、12 d 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 10 d 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。

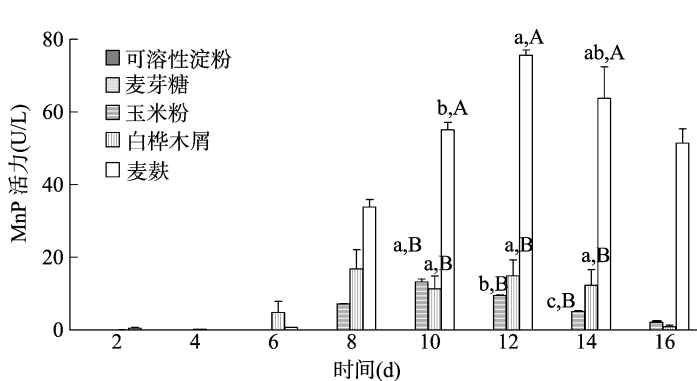
2.3 碳源和氮源正交试验

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 10 d 的 MnP 活力为主要指标,确定最佳 MnP 活力条件为麦麸 23 g/L,蛋白胨 2 g/L。在此条件下 MnP 活力可达 123.51 U/L,比优化前 MnP 活力提高了 38.52%。



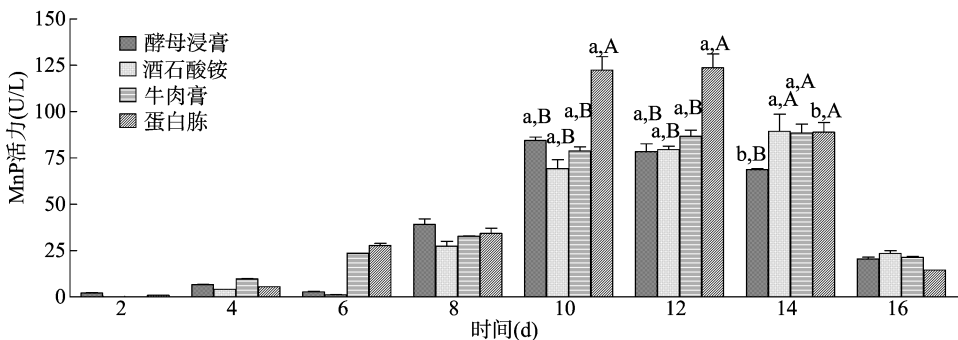
不同小写字母表示不同培养时间间具有显著差异 ( $P<0.05$ )。图 2, 图 3 同。不同大写字母表示培养方式间具有显著差异 ( $P<0.05$ )

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

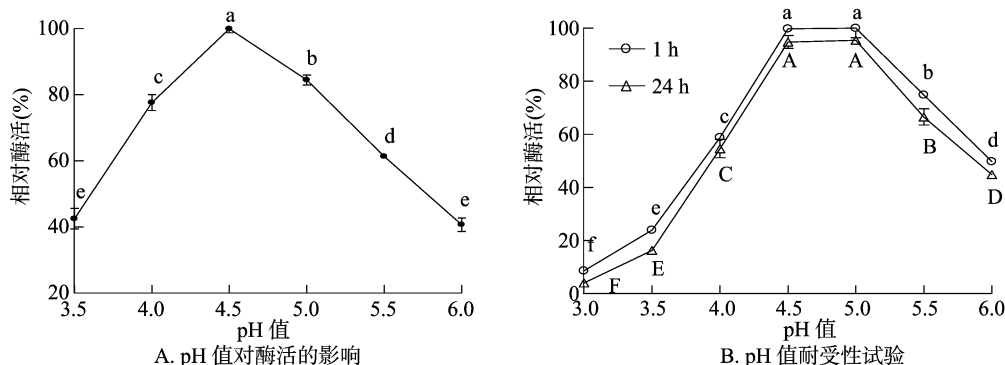
4.5 时达到最大值,之后随着 pH 值的进一步升高,酶活力逐渐降低。其中,在 pH 值为 4 ~ 5 之间时,MnP 均具有较高的酶活力,相对酶活均大于 80%。在 pH 值 4.5 时 MnP 酶活力与 pH 值 4 和 pH 值 5 时相比差异显著,结果表明,木蹄层孔菌 MnP 的最适 pH 值为 4.5 (图 4 - A)。

在温度为 4 ℃ 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

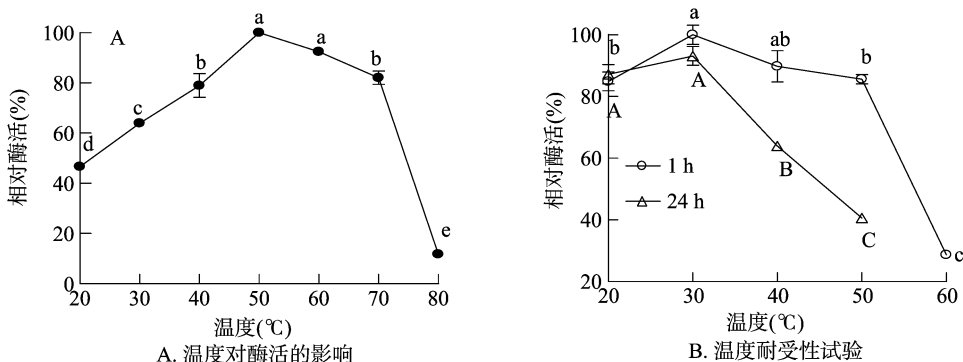
取粗酶液在温度为 20 ~ 80 ℃ 条件下测定木蹄层孔菌 MnP 活力,研究其最适温度,结果见图 5 - A。随着温度的升高,MnP 活力逐渐增加,当温度达到 50 ℃ 时 MnP 活力达到最大,随着温度的进一步升高,MnP 活力逐渐降低。其中,在温度为 50、60 ℃ 条件下测得的 MnP 活力差异不显著,因此,确定木蹄层孔菌 MnP 的最适反应温度在 50 ~ 60 ℃ 之间。

取粗酶液分别在温度为 20 ~ 60 ℃ 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 ℃ 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 ℃ 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 ℃ 的酶活都保持在 87% 以上,但是温度超过 30 ℃ 时,酶活急剧丧失,当温度达 40 ℃ 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



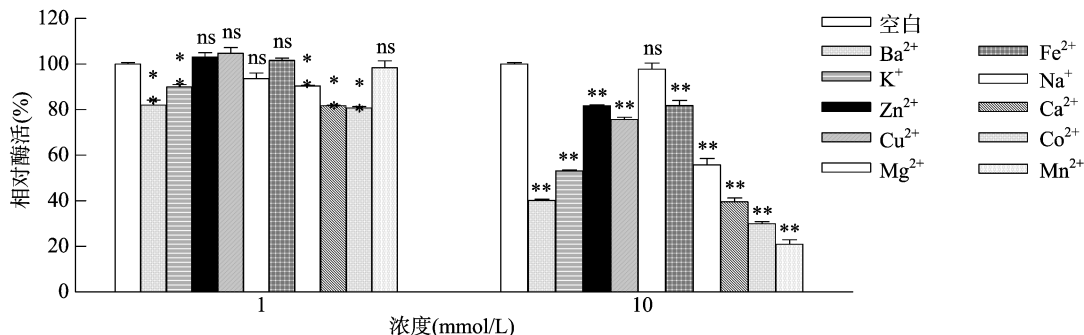
A. 小写字母表示不同温度间具有显著差异 ( $P < 0.05$ )；B. 小写字母表示不同温度处理 1 h 后具有显著差异 ( $P < 0.05$ )，大写字母表示不同温度处理 24 h 后具有显著差异 ( $P < 0.05$ )

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  $\text{Ba}^{2+}$ 、 $\text{K}^{+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Co}^{2+}$  和  $\text{Na}^{+}$  对木蹄层孔菌 MnP 活力具有显著抑制作用;而添加  $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Fe}^{2+}$  对 MnP 活力无显著影响。当金属离子

浓度为 10 mmol/L 时,除了  $\text{Mg}^{2+}$  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  $\text{Mn}^{2+}$  和  $\text{Co}^{2+}$  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  $\text{Mg}^{2+}$  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  $\text{Mg}^{2+}$  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>,可能因为振荡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

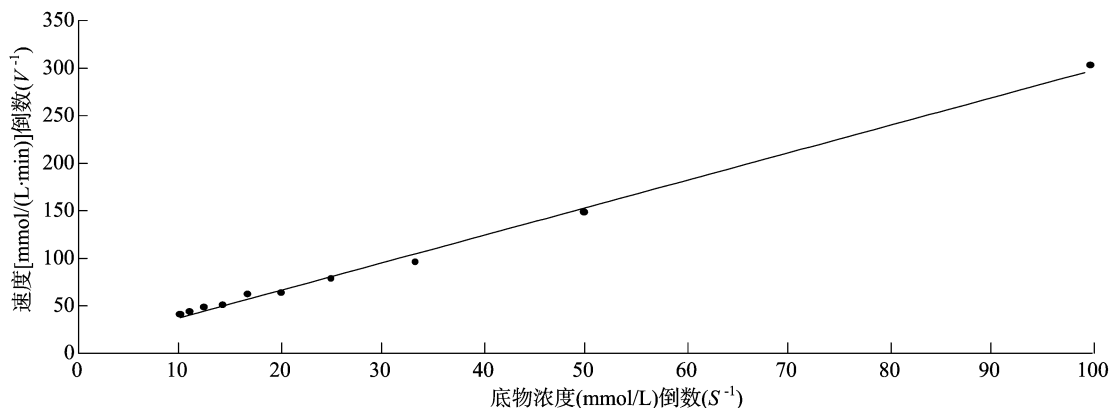


图7 木蹄层孔菌 MnP 的 Lineweaver-Burk

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>。

$Mg^{2+}$  (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  $Mn^{2+}$ 对木蹄层孔菌 MnP 活力没有显著影响,10 mmol/L  $Mn^{2+}$ 显著抑制 MnP 活力。尽管已有研究表明,金属离子  $Mn^{2+}$ 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置浅层培养,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  $Mg^{2+}$ 具有较好的耐受性。

#### 参考文献:

- [1]董明,于晓龙,孙 晔,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.