

## 三国吴简蚀斑可培养微生物的多样性

柴立元, 陈跃辉, 黄燕, 杨志辉

(中南大学 冶金科学与工程学院, 湖南 长沙, 410083)

**摘要:** 采用普通细菌和真菌培养基, 从湖南长沙简牍博物馆收藏的一批走马楼出土的三国时期吴国竹简腐蚀浸泡液中分离得到 8 株细菌和 1 株霉菌的纯培养。结合培养特征、形态特征、基于细菌 16SrDNA 和真菌 18SrDNA 和 ITS 基因序列的系统发育分析, 对分离得到的可培养微生物的多样性进行研究。研究表明: 8 株细菌分别划归为 4 个纲( $\alpha$ -Proteobacteria,  $\beta$ -Proteobacteria,  $\gamma$ -Proteobacteria 和 Bacilli)的 7 个属(*Bacillus*, *Acinetobacter*, *Staphylococcus*, *Pandoraea*, *Novosphingobium*, *Cupriavidus* 和 *Comamonas*); 霉菌属于 *Aspergillus*。

**关键词:** 三国吴简; 竹简蚀斑病; 微生物多样性; 16SrDNA; 18SrDNA 和 ITS; 系统发育分析

中图分类号: Q93.3

文献标志码: A

文章编号: 1672-7207(2010)05-1674-06

## Diversity of culturable microorganisms from erosive bamboo slips of Kingdom Wu

CHAI Li-yuan, CHEN Yue-hui, HUANG Yan, YANG Zhi-hui

(School of Metallurgical Science and Engineering, Central South University, Changsha 410083, China)

**Abstract:** 8 bacterial strains and 1 fungus strain were isolated from steeping fluid of the erosive bamboo slips using bacterial and fungal medium, and the bamboo slips were derived from Kingdom Wu during the Three-Kingdoms period and were stored in Bamboo Slips Museum of Changsha, Hunan Province, China, which were eroded severely by microorganisms in the storing period. Based on the cultural, morphological characteristics of the strains, and sequence analysis of the nucleic acids (parts sequence of 16SrDNA of the bacterial strains and 18SrDNA and ITS of the fungi strain), the bacteria belong to seven genera (*Bacillus*, *Acinetobacter*, *Staphylococcus*, *Pandoraea*, *Novosphingobium*, *Cupriavidus* and *Comamonas*) of four different classes (Bacilli,  $\alpha$ -Proteobacteria,  $\beta$ -Proteobacteria and  $\gamma$ -Proteobacteria), and the fungus strain shows great similarity to *Aspergillus*.

**Key words:** bamboo slips of Kingdom Wu; erosive microorganisms; microorganism diversity; 16SrDNA; 18SrDNA and ITS; phylogenetic analysis

竹简是中国在晋以前档案的主要载体, 对我国传统文明的传播起了至关重要的作用。湖南长沙简牍博物馆收藏了一批走马楼出土的三国时期吴国竹简, 具有极为珍贵的史料价值。在出土后保存过程中, 该批竹简爆发了一种竹简蚀斑病, 竹简损害严重, 白斑中的竹简竹体变为半透明膜状物质。胡东波等<sup>[1]</sup>从走马楼出土的带菌竹简浸泡液中分离出未知的 M 菌、桔青

霉、黄曲霉、黑曲霉等霉菌和副球菌, 通过对竹简被侵害的特征以及竹简蚀斑病爆发的环境条件进行分析, 认为其中的霉菌 M 菌是造成竹简腐蚀斑的主要侵害菌; Zeng 等<sup>[2]</sup>采用牛肉膏蛋白胨培养基从该批爆发蚀斑病的竹简中分离出 10 株细菌, 其中菌株 Be-2 反接回废竹片, 能使竹片的表面由原来的亮褐色变成黑褐色, 且在竹片上形成的腐蚀斑与初始爆发的腐蚀

收稿日期: 2009-10-24; 修回日期: 2010-01-24

基金项目: 国家高技术研究发展计划(“863”计划)项目(2007AA021304)

通信作者: 黄燕(1979-), 女, 江苏常熟人, 博士, 讲师, 从事环境微生物研究; 电话: 0731-88830875; E-mail: huangyan.hnu@gmail.com

斑相似。然而, 目前还缺乏证据证明导致该批竹筒发生蚀斑病的微生物的种群和分类地位, 病原菌还未得到分离, 其快速侵蚀竹筒的机制更是未知。本研究以该批爆发蚀斑病的竹筒浸泡液为原料, 采用适于各种微生物生长的不同丰富培养基分离纯化其中的微生物, 并对获得的纯培养进行多样性分析, 以期为进一步研究不同种群微生物在竹筒腐蚀过程中的作用提供依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 培养基

牛肉膏蛋白胨: 蛋白胨 5 g, 牛肉膏 3 g, NaCl 5 g, 琼脂 15~20 g, 蒸馏水 1 000 mL。

高氏一号: KNO<sub>3</sub> 1 g, 可溶性淀粉 20 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.5 g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5 g, NaCl 0.5 g, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.01 g, 琼脂 15~20 g, 蒸馏水 1 L。

查氏培养基: 蔗糖 30 g, NaNO<sub>3</sub> 3 g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5 g, KCl 0.5 g, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.01 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1 g, 琼脂 15~20 g, 蒸馏水 1 L。

### 1.2 菌株分离与纯化

将长沙简牍博物馆密封保藏的竹筒浸泡液分别接种于牛肉膏蛋白胨、高氏一号以及查氏培养基进行富集培养。培养物以稀释平板法结合划线分离法在相应的固体平板上进行分离, 直至获得各种微生物的纯培养为止。培养温度为 30 ℃。

### 1.3 菌株基因组 DNA 提取、PCR 扩增和序列分析

#### 1.3.1 细菌 16SrDNA PCR

采用菌落 PCR 扩增所获得的细菌的部分 16SrDNA 片段, 从固体平板上挑取单克隆, 用 solution II (10 μL 10% SDS, 2 μL 40% NaOH, 88 μL 超纯水) 裂解菌体, 裂解液稀释后作为模板, 引物为细菌 16SrDNA 通用引物(27F, 1492R)<sup>[3]</sup>。

#### 1.3.2 真菌 18SrDNA 和 ITS PCR

真菌基因组 DNA 采用氯化苄法<sup>[4]</sup>提取, 根据真菌 18SrDNA 保守区域设计引物。ITS(包括 ITS1, 5.8SrDNA, ITS2)序列用通用引物 ITS4 和 ITS5<sup>[5]</sup>扩增, 引物由上海生物工程有限公司合成。

18SrDNA 引物序列为:

Pf: 5'-AACCTGGTTGATCCTGCCAGT-3';

Pr: 5'-CGACGGCGGTGTGTAC-3'。

ITS 引物序列为:

ITS4: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3';

ITS5: 5'-GGAAGTAAAAGTAACAAGG-3'。

### 1.3.3 序列分析

PCR 产物经琼脂糖 DNA 回收试剂盒(天根, 北京)切胶回收后, 由上海生物工程有限公司完成测序。将得到的细菌 16SrDNA、真菌 18SrDNA 以及 ITS 序列与 NCBI 中的核酸数据库进行 Blast 比对, 利用 Mega 4.0 软件分析亲缘关系、构建系统发育树。

### 1.3.4 细菌多样性分析

定义 16SrDNA 序列相似性小于 97% 作为不同的分类单元, 采用 Shannon Wienerps 指数(以下简称 Shannon 多样性指数  $H$ )计算多样性<sup>[6]</sup>:

$$H = -\sum_{i=1}^s P_i \log_2 P_i$$

式中:  $s$  为物种(这里采用分类单元)数目;  $P_i$  为属于第  $i$  种的个体占全部个体的比例。

## 2 结果

### 2.1 菌株分离及形态特征

长沙简牍博物馆密封保藏的腐蚀竹筒浸泡液经无菌操作接种于各种丰富培养基, 富集培养、分离纯化后, 共获得 8 株细菌以及 1 株霉菌的纯培养, 分别命名为菌株 B-1, B-2, B-3, B-4, B-6, B-7, B-8, B-9 以及 F-1。其菌落形态、革兰氏染色和菌体形态如表 1 所示。

### 2.2 细菌 16SrDNA 序列与多样性分析

#### 2.2.1 16SrDNA 序列分析

通过菌落 PCR 扩增得 8 株细菌的 16SrDNA 1 500 bp 左右片段, 经测序获得相关序列, 将这些序列与 NCBI 的核酸数据库进行 Blast 比对, 结果如表 2 所示。所有分离得到的细菌 16SrDNA 序列均与数据库中已知细菌的相关序列有较高的相似性(≥99%)。定义 16SrDNA 序列相似性低于 97% 时作为不同分类单元进行多样性计算, 结果表明分离得到的 8 株细菌可分为 7 个不同的分类单元, Shannon 多样性指数为 2.92。

#### 2.2.2 细菌系统发育分析

基于分离细菌 16SrDNA 序列基础上的系统发育分析结果(图 1)表明: 这些细菌分别属于 4 个不同的纲, 包括  $\alpha$ -Proteobacteria(1 株),  $\beta$ -Proteobacteria(3 株),  $\gamma$ -Proteobacteria(1 株)以及 Bacilli(3 株)。

结合菌落形态、细胞形态和基于分离细菌 16SrDNA 序列基础上的系统发育树分析, Bacilli 纲的 3 株细菌中 B-1 和 B-3 属于 *Bacillus*, B-4 为 *Staphylococcus*, *Bacillus* 是分离得到的优势细菌;  $\beta$ -Proteobacteria 纲

表 1 各分离菌株形态学特征及革兰氏染色情况

Table 1 Morphological characteristic of the isolated strains

菌株	菌落形态	菌体形态及革兰氏染色
B-1	白色, 表面粗糙, 菌落较大而扁平, 周缘不整齐	细长杆状, G <sup>+</sup>
B-2	乳白色, 表面光滑, 菌落较大且隆起, 圆形且边缘整齐	短杆状, G <sup>-</sup>
B-3	红色, 表面光滑, 菌落较小, 扁平圆形, 边缘整齐	较大椭圆状, G <sup>+</sup>
B-4	白色, 表面光滑, 菌落较小, 微凸圆形, 边缘整齐	较小圆球状, G <sup>+</sup>
B-6	浅绿色, 表面扁平而光滑、边缘为波状	短杆状, G <sup>-</sup>
B-7	黄色, 表面光滑, 菌落较小且隆起, 圆形且边缘齐整	短杆状, G <sup>-</sup>
B-8	黄绿色, 表面光滑, 菌落大而隆起成水珠状, 圆形且边缘整齐	短杆状, G <sup>-</sup>
B-9	浅绿色, 表面粗糙, 菌落扁平, 边缘锯齿状	短杆状, G <sup>-</sup>
F-1	较规则圆形, 较大而致密, 表面粗糙, 边缘锯齿状; 菌落初生时正面为白色; 生长中期菌落从中心开始逐渐变红; 生长后期菌落呈同心圆, 圆心处为灰白色, 往外一圈为粉红色, 最外圈为白色, 菌落反面为黄褐色	气生菌丝呈长管状, 有横隔, 菌丝顶端膨大成球形的泡囊, 泡囊表面放射状地生有成串的分生孢子

注: G<sup>+</sup>表示革兰氏阳性; G<sup>-</sup>表示革兰氏阴性。

表 2 分离细菌 16SrDNA 序列分析

Table 2 Analysis of partial 16SrDNA gene sequences of the isolated strains

菌株	相似性	种类	登陆号
B-1	1444/1446 (99%)	<i>Bacillus</i> sp. cp-h45	EU584544.1
	1442/1445 (99%)	<i>Bacillus</i> sp. cp-h44	EU584543.1
B-2	1385/1391(99%)	<i>Acinetobacter</i> sp. Z21	EU236748.1
	1382/1388(99%)	<i>Acinetobacter</i> sp. ZY022	EU652882.1
B-3	1511/1513 (99%)	<i>Bacillus cereus</i> strain HS-MP13	EU100616.1
	1508/1510 (99%)	<i>Bacillus cereus</i> strain CTSP45	EU855219.1
B-4	1424/1424 (100%)	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 146	D83362.1
	1423/1424 (99%)	<i>Staphylococcus epidermidis</i> AB111112	AF397060.1
B-6	1398/1398 (100%)	<i>Pandoraea</i> sp. JB1	DQ167022.1
	1398/1398 (100%)	<i>Pandoraea</i> sp. CCUG 39680	AY268171.1
B-7	1349/1351 (99%)	<i>Novosphingobium</i> sp. MUELAK1	EF628247.1
	1349/1352 (99%)	<i>Novosphingobium capsulatum</i> 213	EU730916.1
B-8	1388/1390 (99%)	<i>Cupriavidus</i> sp. WBF7	DQ777737.1
	1388/1390 (99%)	<i>Cupriavidus basilensis</i> strain AU4546	AY860224.1
B-9	1377/1380(99%)	<i>Comamonas</i> sp. TK41	AJ550282.1
	1375/1382 (99%)	<i>Comamonas</i> sp. D1	AF532869.1

的菌株 B-6, B-8 和 B-9 分别属于 *Pandoraea*, *Cupriavidus* 和 *Comamonas*;  $\alpha$ -Proteobacteria 纲的菌株 B-7 属于 *Novosphingobium*;  $\gamma$ -Proteobacteria 纲的菌株

B-2 属于 *Acinetobacter*。

### 2.3 真菌的分类鉴定

以氯化苜法提取霉菌 F-1 的基因组 DNA, 以此作

为模板 PCR 扩增得到该菌的 18SrDNA 和 ITS 部分片段, 经测序获得相关序列, 将这些序列与 NCBI 的核酸数据库进行 Blast 比对, 结果如表 3 所示。

从表 3 可知: 霉菌 F-1 的 18SrDNA 和 ITS 序列

均与曲霉属(*Aspergillus*)有很高相似性(99%)。基于霉菌 ITS 序列的系统发育分析结果(图 2)表明: 霉菌 F-1 与 *Aspergillus* 的关系密切, 由此将霉菌 F-1 归为曲霉属的 1 个种。

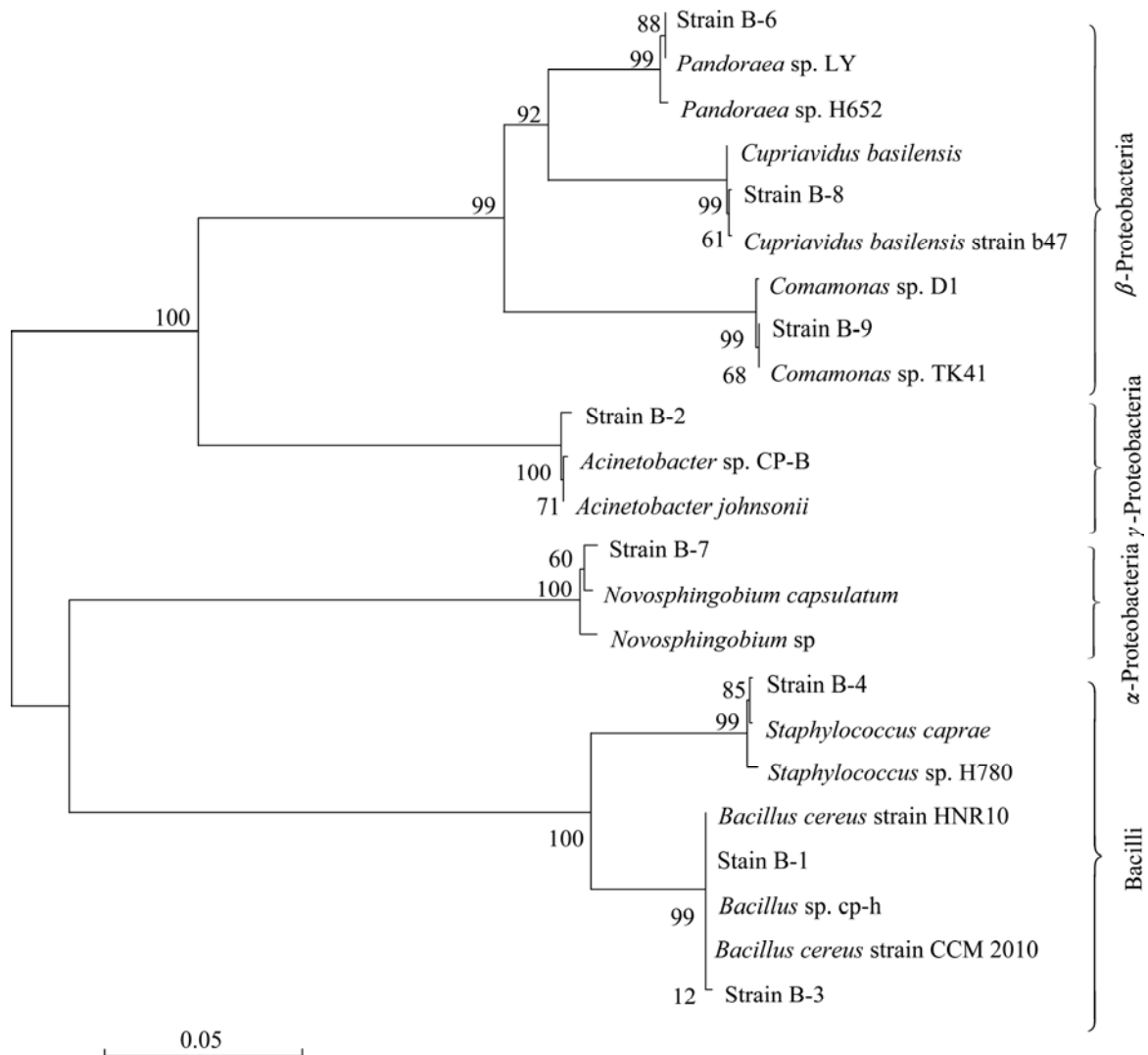


图 1 基于分离细菌 16SrDNA 序列构建的系统发育树

Fig.1 Phylogenetic analysis based on the 16SrDNA sequences of the isolated strains

表 3 霉菌 F-1 18SrDNA 及 ITS 序列比对结果

Table 3 Analysis of partial 18SrDNA and ITS of the isolated fungus

	相似性	种类	登陆号
18SrDNA	1583/1584 (99%)	<i>Aspergillus versicolor</i>	AB008411.1
	1587/1593 (99%)	<i>Aspergillus versicolor</i>	AB002064.1
	1576/1584 (99%)	<i>Aspergillus</i> sp. BAP14	EF370433.1
ITS	578/580 (99%)	<i>Aspergillus versicolor</i> isolate XSD-82	EU326209.1
	588/595 (98%)	<i>Aspergillus versicolor</i> F20	EU497952.1
	570/571 (99%)	<i>Aspergillus sydowii</i> NRRL 250	AY373868.1

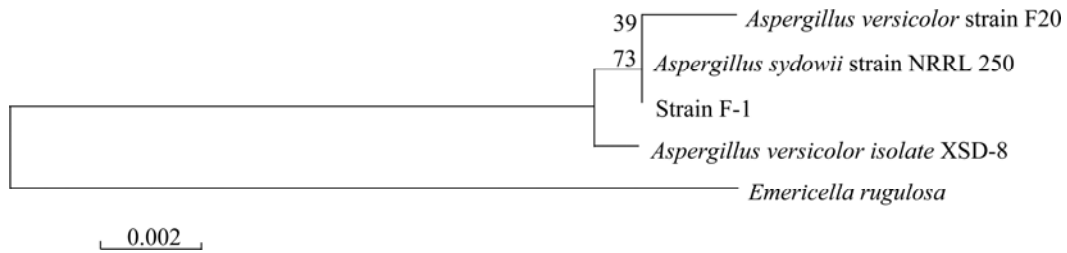


图 2 基于霉菌 F-1 ITS 序列构建的系统发育树

Fig.2 Phylogenetic tree based on the ITS sequences of the strain F-1

### 3 讨论

湖南长沙走马楼出土的竹筒的竹材经鉴定为刚竹属,竹材主要成分为木质素、纤维素和半纤维素,另外还有少量的抽提物和灰分<sup>[7]</sup>。竹材的腐蚀是真菌、细菌共同作用的结果,吴开云等<sup>[8-10]</sup>分离了大量能引起竹材霉变的霉菌,而关于细菌在竹材腐蚀中的作用研究较少。傅筱冲等<sup>[11]</sup>在土法造纸嫩毛竹自然发酵过程中分离纯化得到了 100 株细菌,60 株为芽孢杆菌,另外 40 株有微球菌、葡萄球菌、李氏杆菌、不动杆菌、肠杆菌等,并发现其中的 3 株芽孢杆菌能使嫩毛竹明显软化。李超等<sup>[12]</sup>从毛竹林地的腐朽竹伐桩分离筛选出 16 株具有较好纤维素或木质素降解能力的菌株,其中 8 株霉菌、5 株细菌和 3 株放线菌。Zeng 等<sup>[2]</sup>从走马楼出土的竹筒中分离出属于 4 个属的 10 株细菌,但这些菌株降解竹材的能力未见报道。

本研究采用牛肉膏蛋白胨、高氏一号和查氏培养基 3 种培养基分离竹筒浸泡液中的微生物,得到 8 株细菌及 1 株霉菌,属于 *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Staphylococcus*, *Pandoraea*, *Novosphingobium*, *Cupriavidus*, *Comamonas* 以及 *Aspergillus*, 呈现出丰富的生物多样性。目前,已发现来自 *Bacillus*, *Acinetobacter* 以及 *Aspergillus* 中的一些菌株具有降解木质素的能力。Chandra 等<sup>[13]</sup>从造纸废水中分离出 3 株具有较强木质素降解能力的 *Bacillus* sp., 6 d 即可使木质素降解 30%~40%; Gajanan 等<sup>[14]</sup>从一株 *Acinetobacter* sp. 中纯化得到了木质素过氧化物酶。曲霉菌(*Aspergillus* sp.)则是一种常见的木质素、纤维素降解菌。习兴梅等<sup>[15]</sup>从农林废物堆肥中分离得到一株黑曲霉,对木质素、纤维素和半纤维素的降解率分别为 16.87%、39.85%和 45.32%。Ahammed 等<sup>[16]</sup>从红树林中分离得到一株 *Aspergillus* sp., 并测定了其木质素过氧化物酶活性。木质素、纤维素和半纤维素的结构单元

中含有大量的芳香基和苯环结构, *Staphylococcus*, *Pandoraea*, *Novosphingobium*, *Cupriavidus* 和 *Comamonas* 的细菌未见报道参与木质素降解,对芳烃类、苯酚类有机物的降解却有较多报道。卢涛等<sup>[17]</sup>分离得到一株能降解邻硝基酚细菌 *Staphylococcus* sp.; 蒋析文等<sup>[18]</sup>对一株 *Pandoraea* sp. 的氯苯降解机理进行了深入的研究; 崔志松等<sup>[19]</sup>从厦门近海海水中筛选到一株能够降解多环芳烃的细菌 *Novosphingobium* sp.; Sanchez 等<sup>[20]</sup>对一株 2, 4, 6-三氯苯酚降解菌 *Cupriavidus necator* JMP134 的遗传特性进行了研究。吴建峰等<sup>[21]</sup>从污水处理厂分离了一株能以对氯硝基苯为唯一碳源、氮源和能源生长的丛毛单胞菌 (*Comamonas* sp. CNB1)。因此,从三国吴筒中分离出的菌株具有降解木质素、纤维素和半纤维素的潜力,其降解木质素、纤维素和半纤维素的能力和相关机制有待进一步通过实验证明。

### 4 结论

(1) 采用细菌和真菌普通培养基,从腐蚀竹筒浸泡液中分离得到 9 株可培养菌株,其中有 8 株细菌,1 株霉菌。

(2) 分析了从被腐蚀竹筒中分离得到的 9 株菌具有降解木质素、纤维素和半纤维素的潜力。

#### 参考文献:

- [1] 胡东波, 宋少华, 肖静华, 等. 长沙走马楼出土饱水竹筒的防腐保存[J]. 文物保护与考古科学, 2003, 15(2): 14-18.  
HU Dong-bo, SONG Shao-hua, XIAO Jing-hua, et al. The antisepsis of the bamboo slips and lacquer wares in water [J]. Sciences of Conservation and Archaeology, 2003, 15(2): 14-18.
- [2] ZENG Wei-zheng, CHEN Rui, SONG Shao-hua, et al. Study on erosive microorganisms of the bamboo slips unearthed from Zoumalou, Changsha, China[J]. Journal of Microbiology, 2007,

- 27(5): 50-56.
- [3] Martin F P, Collen M C. Bias in template to product ratios in multitemplate PCR[J]. Appl Environ Microbiol, 1998, 64(2): 3724-3730.
- [4] 朱衡, 瞿峰, 朱立煌. 利用氯化苄提取适于分子生物学分析的真菌 DNA[J]. 真菌学报, 1994, 13(1): 34-40.  
ZHU Heng, QU Feng, ZHU Li-huang. Isolation of genomic DNAs from fungi using benzyl chloride[J]. Acta Mycologica Sinica, 1994, 13(1): 34-40.
- [5] 章初同, 徐龙. 木霉属 *Trichoderma* 组和 *Pachybasium* 组的分子系统学研究[J]. 菌物系统, 2002, 21(4): 538-546.  
ZHANG Chu-tong, XU Long. Molecular phylogenetic analysis of section *Trichoderma* and *Pachybasium* in the genus *Trichoderma*[J]. Mycosystema, 2002, 21(4): 538-546.
- [6] 戴欣, 王保军, 黄燕, 等. 普通和稀释培养基研究太湖沉积物可培养细菌的多样性[J]. 微生物学报, 2005, 45(2): 161-165.  
DAI Xin, WANG Bao-jun, HUANG Yan, et al. Bacterial diversity in the sediments of Taihu lake by using traditional nutrient medium and dilution nutrient medium[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2005, 45(2): 161-165.
- [7] 江泽慧, 于文吉, 余养伦. 竹材化学成分分析和表面性能表征[J]. 东北林业大学学报, 2006, 34(4): 1-6.  
JIANG Ze-hui, YU Wen-ji, YU Yang-lun. Analysis of chemical components of bamboo wood and characteristic of surface performance[J]. Journal of Northeast Forestry University, 2006, 34(4): 1-6.
- [8] 吴开云, 翁月霞. 竹材霉腐类型及其与环境条件的关系[J]. 林业科学研究, 2000, 13(1): 63-70.  
WU Kai-yun, WENG Yue-xia. Bamboo mildew-rotting and its relation with environmental condition[J]. Forestry Research, 2000, 13(1): 63-70.
- [9] 李河, 周国英, 周德明. 用于提取可纺性竹原纤维菌株的选育[J]. 中南林学院学报, 2006, 26(1): 48-52.  
LI He, ZHOU Guo-ying, ZHOU De-ming. Extract ion of bamboo fiber through screening of fungus[J]. Journal of Central South Forestry University, 2006, 26(1): 48-52.
- [10] 王文久, 辉朝茂, 陈玉惠, 等. 竹材霉腐与霉腐真菌[J]. 竹子研究汇刊, 2000, 13(1): 40-43.  
WANG Wen-jiu, HUI Chao-mao, CHEN Yu-hui, et al. Mildew and rot of bamboo wood and mold fungi[J]. Journal of Bamboo Research, 2000, 13(1): 40-43.
- [11] 傅筱冲, 廖延雄, 曹晖, 等. 土法造纸木素降解之探索III: 嫩毛竹自然发酵过程中的细菌分离鉴定与嫩竹软化菌的筛选[J]. 江西科学, 1998, 16(1): 12-20.  
FU Xiao-chong, LIAO Yan-xiong, CAO Hui, et al. Studies on lignin degradation by local native method of paper-pulp production[J]. Jiangxi Science, 1998, 16(1): 12-20.
- [12] 李超, 李潞滨, 杨凯, 等. 竹伐桩促腐微生物的分离筛选[J]. 林业科学研究, 2008, 21(2): 253-257.  
LI Chao, LI Lu-bin, YANG Kai, et al. Isolating and screening of microorganisms for decomposing bamboo stump[J]. Forestry Research, 2008, 21(2): 253-257.
- [13] Chandra R, Raj A, Purohit H J, et al. Characterisation and optimisation of three potential aerobic bacterial strains for kraft lignin degradation from pulp paper waste[J]. Chemosphere, 2007, 67(4): 839-846.
- [14] Gajanan S, Ghodake, Satish D K, et al. Purification and partial characterization of lignin peroxidase from *Acinetobacter calcoaceticus* NCIM 2890 and its application in decolorization of textile dyes[J]. Appl Biochem Biotechnol, 2009, 152(1): 6-14.
- [15] 习兴梅, 曾光明, 郁红艳, 等. 黑曲霉 *Aspergillus niger* 木质纤维素降解能力及产酶研究[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(4): 1506-1511.  
XI Xing-mei, ZENG Guang-ming, YU Hong-yan, et al. Lignocelluloses degrading ability of *Aspergillus niger* and the enzyme production [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2007, 26(4): 1506-1511.
- [16] Ahammed S, Prema P. Influence of media nutrients on synthesis of lignin peroxidase from *Aspergillus* sp[J]. Appl Biochem Biotechnol, 2002, 102/103(1/6): 327-336.
- [17] 卢涛, 雷蕾, 张杰, 等. 降解邻硝基酚葡萄糖球菌的分离与特性研究[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2000, 37: 187-190.  
LU Tao, LEI Lei, ZHANG Jie, et al. Isolation of a bacteria strain which can biodegrade o-Nitrophenol[J]. Journal of Sichuan University: Natural Science, 2000, 37: 187-190.
- [18] 蒋析文. *Pandoraea* sp. MCB032 氯苯降解机理的研究[D]. 北京: 中国科学院研究生院武汉病毒研究所, 2007: 7-11.  
JIANG Xi-wen. Studies on degradation pathway of chlorobenzene in *Pandoraea* sp. MCB032[D]. Beijing: Master Dissertation Chinese Academy of Sciences, Wuhan Institute of Virology, 2007: 7-11.
- [19] 崔志松, 邵宗泽. 一株海洋新鞘氨醇杆菌 *phe-8(Novosphingobium* sp)的 PAHs 降解基因和降解特性[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2006, 45(S1): 257-261.  
CUI Zhi-song, SHAO Zong-ze. Characterization of a PAHs degrading marine strain *Novosphingobium* sp. Phe-8 and its degradative genes[J]. Journal of Xiamen University: Natural Science, 2006, 45(S1): 257-261.
- [20] Sanchez M A, González B. Genetic characterization of 2,4,6-Trichlorophenol degradation in *Cupriavidus necator* JMP134 [J]. Appl Environ Microbiol, 2007, 73(9): 2769-2776.
- [21] 吴建峰, 沈锡辉, 周宇光, 等. 一株降解对氯硝基苯的 *Comamonas* sp.CNB1 的分离鉴定及其降解特性[J]. 微生物学报, 2004, 44(1): 8-12.  
WU Jian-feng, SHEN Xi-hui, ZHOU Yu-guang, et al. Characterization of p-chloronitrobenzene-degrading *Comamonas* sp. CNB1 and its Degradation of p-chloronitrobenzene[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2004, 44(1): 8-12.

(编辑 刘华森)