

李济吾, 李 峰. 降解酸性蓝 B 的镰刀菌 (*Fusarium* sp.) HJ01 的分离和降解特性研究[J]. 环境科学学报, 2005, 25(12): 1641- 1646

LI Jiwu, LI Feng. Isolation of acid blue B degrading *Fusarium* sp. HJ01 and the studies on its degradation characteristics[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2005, 25(12): 1641- 1646

降解酸性蓝 B 的镰刀菌 (*Fusarium* sp.) HJ01 的分离和降解特性研究

李济吾*, 李 峰

浙江工商大学食品、生物与环境工程学院, 杭州 310035

收稿日期: 2005-06-07 修回日期: 2005-08-10 录用日期: 2005-08-23

摘要: 从膨润土中分离出一株对酸性蓝 B 具有降解效果的镰刀菌 (*Fusarium* sp.) HJ01, 研究了其生长特征和动力学模型模拟、降解酶的性质以及对酸性蓝 B 的脱色效果. 结果表明: 菌株生长的适宜条件为: pH 范围为 6~7, 蔗糖为碳源, NH_4Cl 为氮源. 菌体生长符合改进的 logistic law 模型. SDS-PAGE 分析 HJ01 菌株所产漆酶的相对分子量约为 66×10^3 , 在低氮条件下漆酶活性高达 $431 \sim 812 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. 菌体培养 96 h 后加入到含 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 酸性蓝 B 的培养基中, 再培养 96 h, 酸性蓝 B 的脱色率达 100%. 紫外光谱分析表明, 酸性蓝 B 的发色基团蒽醌环被漆酶破坏.

关键词: 镰刀菌; 脱色; 酸性蓝 B

文章编号: 0253-2468(2005)12-1641-06 中图分类号: X171.5, Q939.9 文献标识码: A

Isolation of acid blue B-degrading *Fusarium* sp. HJ01 and the studies on its degradation characteristics

LI Jiwu*, LI Feng

College of Food, Biotechnology & Environmental Engineering, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310035

Received 7 June 2005; received in revised form 10 August 2005; accepted 23 August 2005

Abstract: An acid blue B degrading strain (*Fusarium* sp.) HJ01 was isolated from bentonite. The growing characteristics and kinetics, the characteristics of enzymatic biodegradation of *Fusarium* sp. HJ01 were analyzed. And the effects of biomass on decolorization of acid blue B in aqueous samples were reported. The results showed that the pH range between 6 and 7 for growth of *Fusarium* sp. HJ01 was feasible, and the sucrose and NH_4Cl is also feasible for carbon source and nitrogen source respectively. The growth kinetics of *Fusarium* sp. HJ01 was fitted by the modified logistic law model. The molecular weight of laccase from *Fusarium* sp. HJ01 was approximately 66kD analyzed by SDS-PAGE, and laccase activity was up to from $431 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ to $812 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ at the condition of low nitrogen source. The *Fusarium* sp. HJ01 incubated for 96 h at 25 °C were added to the liquid medium containing acid blue B ($100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$). And when cultured continuously for another 96 h, the decolorization rate of acid blue B was up to 100%. The ultraviolet visible spectrum showed that the chromophore anthraquinone ring of acid blue B was broken down by laccase.

Keywords: *Fusarium*; decolorization; Acid blue B

大多数染料是芳香类化合物, 结构复杂且大都耐光解、耐氧化、难生物降解, 尤其是含磺酸基的蒽醌染料, 色度大, 常规废水处理技术难以去除 (Shaul *et al.*, 1991). 厌氧微生物能降解部分染料, 但难以实现其彻底的矿化 (Yesilada *et al.*, 2002), 白腐菌虽然可在好氧条件下降解染料, 却需要的时间较长 (Walker *et al.*, 2000). 镰刀菌 (*Fusarium*) 是真菌的一个重要属, 在环境中分布极为广泛. 一些研究者利用镰刀菌固定化细胞降解氰化物、土壤中的菲与芘等,

取得了良好的效果 (周相林等, 1986; 王新等., 2002). Alain 等 (1997) 研究了 *Fusarium solani* 降解氰化物的酶解机理. Anthony 等 (2004; 2005) 研究了 *Fusarium solani* 胞内脂肪泡对多环芳烃蓄积行为和降解效果. 这些研究结果表明, 镰刀菌在污染治理与环境修复中具有较大的应用潜力, 但应用镰刀菌降解染料还未见文献报道. 本文从膨润土中分离得到一株高效脱色降解酸性蓝 B 的 *Fusarium* sp. HJ01, 研究了该菌株的生长条件、动力学及所产酶的性质,

作者简介: 李济吾 (1964—), 男, 教授; * 通讯作者 (责任作者)

Biography: LI Jiwu (1964—), male, professor; * Corresponding author

以及对酸性蓝 B 的脱色效果。

1 材料与方(Materials and methods)

1.1 培养基和培养条件

液体培养基: 葡萄糖 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, NH_4Cl $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, K_2HPO_4 $0.3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, ZnSO_4 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, MgSO_4 $0.15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 值调至 6.0。

PDA 固体琼脂培养基: 在上述的液体培养基中加土豆浸出液(煮沸过滤) $200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 琼脂 $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

酸性蓝 B 染料由某公司提供, 其结构式如图 1。

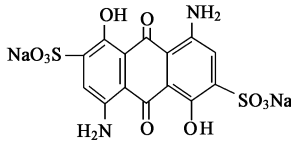


图 1 酸性蓝 B 结构式

Fig. 1 The formula of Acid Blue B

1.2 染料脱色优势菌的筛选与分离

取 10 g 膨润土, 放入含 90 mL 无菌水的三角瓶中, 摇匀, 制得质量分数为 10^{-1} 的稀释液。用无菌吸管取 1 mL 该稀释液到含 9 mL 无菌水的试管中, 摇匀, 制得 10^{-2} 浓度的稀释液, 依法制备 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 浓度的稀释液(金朝晖等, 2004), 用 3 支无菌吸管各吸 1 mL 浓度为 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 的稀释液, 分别接入含 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 酸性蓝 B 的 PDA 培养基中, 在 25°C 下培养 4~5 d。挑取菌落周围出现脱色区的菌株, 平板划线分离, 直至获得单菌落特征的菌株。

富集培养 5 次后, 在 PDA 固体琼脂平板上划线分离得到脱色降解优势菌的单菌落。

1.3 菌株的生长曲线测定及培养条件的优化

取 4°C 保存的 HJ01 孢子, 在 25°C 下活化 24 h, 用灭菌的去离子水配成孢子浓度为 10^4 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ (600 nm 处吸光度为 0.150) 的孢子悬浊液, 取 1 mL 孢子悬浊液接种到 20 mL 灭菌的液体培养基中, 在 25°C 、 $50 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 条件下培养, 间隔 48 h 取样测菌体干重(张书军等, 2004), 以培养时间为横坐标, 菌体干重为纵坐标, 作图得菌株的生长曲线。

将培养基中的葡萄糖换成等量的蔗糖和可溶性淀粉, 考察碳源对菌株生长的影响。

将培养基中的 NH_4Cl 换成等量的 NaNO_3 和 NaNO_2 , 考察氮源对菌株生长的影响。

每隔 12 h 用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaOH 或 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 HCl 调节培养液的 pH 到设定的 pH (2、4、6、7、10), 研究 pH 对菌株生长的影响。以上实验重复 3 次, 取其平均值。

采用改进的 Logistic law 模型描述菌体的生长情况(李群等, 2001), 方程为:

$$dX/dt = KX(1 - \beta X) + K_0 \int_0^t X(t) dt \quad (X(0) = X_0)$$

式中, X 为菌体干重 ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$); X_0 为初始菌体干重 ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$); K 为生长速率常数; β 为衰减速率常数; K_0 为死亡速率常数, 且为负值。经 Matlab 模拟以确定 HJ01 的生长规律是否符合该模型。

1.4 菌株所产降解酶的特性分析

1.4.1 SDS-PAGE 电泳 分别以蔗糖、蔗糖和酸性蓝 B 为碳源, 菌株培养 96 h 后, 过滤收集菌体, 水洗 3 次, 用含 $0.01 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 二硫苏糖醇、 $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙二胺四乙酸的 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸盐缓冲液 (pH = 7.4) 10 mL 作为酶提取液, 在冰水浴中用研钵将菌体研磨细碎, 约 3 min, 确保释放胞内酶。该粗均浆在 4°C 、 $12000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 下离心 15 min, 上清液即酶提取物(Anthony *et al.*, 2004)。按 Kwon *et al.* (2001) 的方法以 9% 的丙烯酰胺凝胶浓度做 SDS-PAGE 电泳, 以确定该降解酶的分子量。

1.4.2 不同培养条件对菌株产酶的影响 高碳和高氮液体培养基: 蔗糖 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, NH_4Cl $1.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; 低氮培养基: NH_4Cl $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; 低碳培养基: 蔗糖 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 其它成分与 1.1 节同。在 25°C 、 $50 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 下培养, 间隔 48 h, 按 1.4.1 节从菌体中提取酶。

酶活性分析: 以 2, 2'-连氮一二(3-乙基苯并噻唑-6-磺酸)(ABTS) 做为该酶的底物, 其阳离子 ABTS-azine 的 $\epsilon_{436 \text{ nm}}$ 为 $29300 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 。1 mL 反应液含 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ABTS, $12 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 琥珀酸盐缓冲液 (pH = 4.5), 200 μL 酶提取液。在 30°C 下, 反应 30 min, 用 UV-2450 紫外分光光度计测定反应液在 436 nm 处的吸光度。定义该酶的活力单位是 s 转化 1 mol 的 ABTS 到 ABTS-azine 所用的酶量(Anthony *et al.*, 2004; Kwon *et al.*, 2001)。用考马斯亮蓝法测定反应液中蛋白质含量(陆建良, 2002)。以上实验重复 3 次, 取其平均值。

1.5 脱色效果与产物光谱分析

按 1.3 节的接种培养方法, 培养 96、120、144 h, 以获得不同的菌体生物量, 分别加到 25 mL 酸性蓝 B ($100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 培养基中, 继续培养, 间隔 12 h 取样

10 mL, 离心, 用 UV-2450 紫外分光光度计在 556 nm 处测定酸性蓝 B 的浓度, 计算脱色率。

HJ01 菌株脱色后, 离心取清液, 用 UV-2540 紫外扫描对其降解产物进行光谱分析。

2 结果(Results)

2.1 HJ01 菌株的分离与鉴定

借助形态观察确定的单菌落菌株, 经复旦大学鉴定为镰刀菌(*Fusarium* sp.), 并命名为 HJ01。该菌的形态学特征如下: 在 PDA 平板上气生菌丝棉絮状, 白色, 蔓延, 高 0.2~0.4 cm, 菌落中有一定程度的绳状趋势, 菌落背面紫红色, 老后呈近蓝色。如图 2 所示, 小型分生孢子为椭圆形、柱形或稍微弯曲, 单细胞或有 1~2 个隔, $(3\sim 10) \times (1.5\sim 3) \mu\text{m}$, 且数量多。大型分生孢子为近镰刀形、棍棒形、近柱形或稍微弯曲等, 一般有 3~5 个隔, 且数量很少, 大小为 15~27.5 μm 。

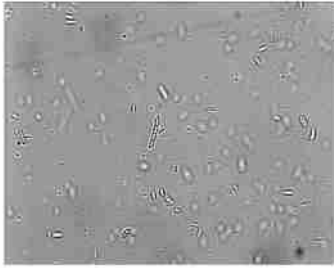


图 2 HJ01 菌株的大、小型分生孢子

Fig. 2 The big or small size conidiophores of the HJ01

2.2 HJ01 菌株的生长曲线测定及培养条件的优化

2.2.1 HJ01 菌株生长曲线及菌体生长动力学

HJ01 菌株的生长曲线及 Logistic law 模型模拟结果如图 3 所示。菌株的生长大致分为 3 个阶段: 延迟期、对数生长期和平稳期。培养至 96~120 h 的菌株处于对数生长期, 菌体生长迅速, 菌体活力大, 对数生长期内菌株生长速率(以干重计)为

$63.13 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 。而培养至 144 h 时的菌株处于对数生长后期, 虽生物量大, 但代谢活力降低。

根据 HJ01 菌株生长曲线的实验数据, 采用 Matlab 提供的 3 次样条插值、自适应递推牛顿-柯西法、三阶 Runge-Kutta 算法等数值积分、求导方法, 建立并求解线性方程组, 确定的模型参数如下: K 为 0.71, β 为 2.3, K_0 为 -0.035。

根据模型参数, 使用 3 次样条插值及数值积分计算模型数据, 与实验值比较结果如图 3 所示, 模型值与实验值拟合的精度较高。利用 Origin Pro 7.5 对实验值与模拟值进行 t 检验(显著水平 0.01), 结果无显著差异, 说明该动力学模型能反映 HJ01 菌株的生长情况。

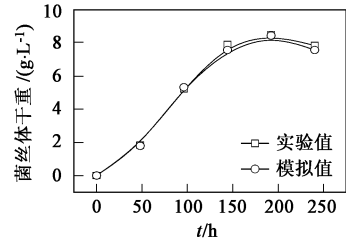


图 3 HJ01 菌株生长曲线及实验值和模拟值的比较

Fig. 3 The growing curves of HJ01 strain and comparison between experiment values and numerical simulation values

2.2.2 培养条件对 HJ01 菌株生长的影响

碳源对菌株 HJ01 生长影响如图 4a, 结果表明各碳源的菌体转化率依次是蔗糖 > 葡萄糖 > 可溶性淀粉。氮源对菌株 HJ01 生长的影响如图 4b, 结果说明氨态氮最适合菌株的生长, 硝态氮次之, 亚硝态氮最差。pH 对菌株 HJ01 生长影响如图 4c, 从图中可知 HJ01 菌株在 pH=2~10 范围内都可生长, 在 pH 值为 6~7 时菌株产量最高。pH 过低或过高菌体成絮状, 细碎, 沉降性差。pH 值为 6~7 时形成菌体团块大, 易沉降。因此, HJ01 菌株适宜的培养条件为: 蔗糖为碳源, NH_4Cl 为氮源, pH 值范围为 6~7。

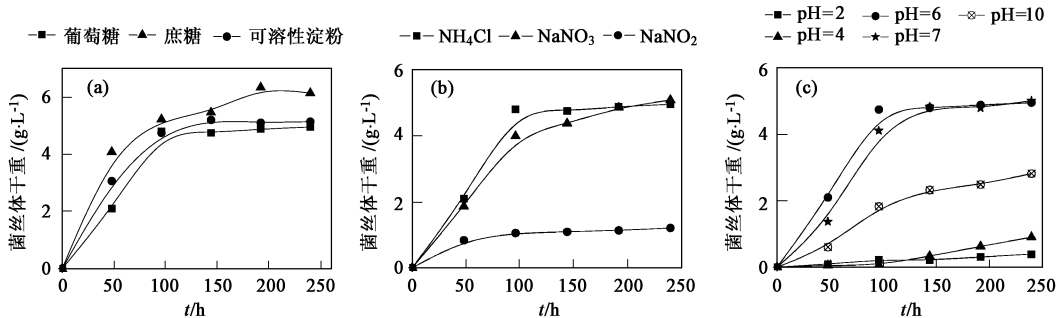


图 4 培养条件对 HJ01 菌株生长的影响(a. 碳源, b. 氮源, c. pH)

Fig. 4 The effects of the culture conditions on HJ01 growth(a. carbon sources, b. nitrogen sources, c. pH)

2.3 HJ01 菌株降解酶的性质

2.3.1 SDS-PAGE 电泳 HJ01 菌株降解酶的 SDS-PAGE 分析结果如图 5 所示. 在泳道 2、3 中各有一条清晰的漆酶条带, 相对分子量大约 66×10^3 , 与 Anthony *et al* (2004) 的研究结果一致. 说明 HJ01 菌株无论在有无酸性蓝 B 的共代谢中均有漆酶的产生.

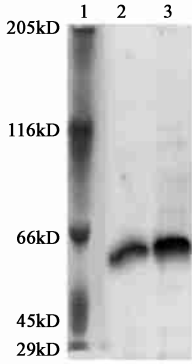


图 5 不同碳源下 HJ01 菌株的漆酶电泳结果(1. 蛋白分子量标准 2. 蔗糖为碳源 3. 蔗糖与酸性蓝 B 为碳源)

Fig. 5 SDS PAGE result of HJ01 with different carbon sources(1. The standard of protein molecular weight. 2. sucrose. 3. sucrose and Acid Blue B)

2.3.2 不同液体培养基下 HJ01 菌株的漆酶活性

不同的液体培养基对菌株 HJ01 产漆酶的影响如图 6 所示. 从图中可知, 高碳高氮(HH)条件下 HJ01 分泌的漆酶量少, 且活性低, 菌体干重在培养 144 h 后达到 $5.98 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 随时间的推移基本不变; 低碳(LC)条件下培养至 96 h, 菌体干重达到最大, 为 $2.43 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 其活性也达到 $778 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, 但之后活性降低, 菌体干重基本不变; 在低氮(LN)条件下, 培养至 48 h, 菌体干重为 $1.57 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 其活性便可达到 $431 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, 且活性相对稳定; 培养至 240 h, 菌体干重为 $5.63 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 其活性达 $812 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$.

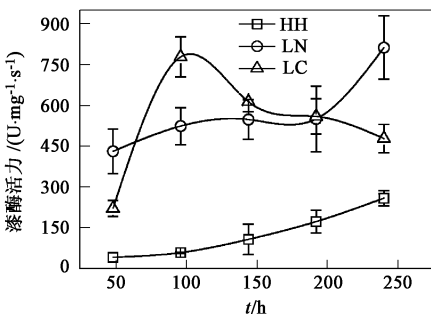


图 6 不同液体培养基下 HJ01 菌株提取的漆酶活性

Fig. 6 Laccase activities in extracts from HJ01 strain mycelium grown in different liquid media

2.4 HJ01 菌株生物量对脱色效果的影响

不同菌体生物量对脱色效果的影响如图 7 所示, 对培养至 96 h 与 120 h 的菌体在染料溶液中再培养 72 h 后其脱色率可达 90% 以上, 96 h 后脱色率达 100%; 而培养至 144 h 的菌体, 对染料的脱色率增加缓慢, 培养 96 h 后才达 74.61%. 由图 7 还可看出, 染料在 0~ 40 h 的脱色率随菌体生物量的增大而增大, 这可能与菌体的吸附有关; 40 h 以后脱色率的增加, 则主要是由于染料的降解, 降解过程中以培养至 96 h 与 120 h 的菌体脱色快, 这可能与菌体活力和漆酶的活性有关.

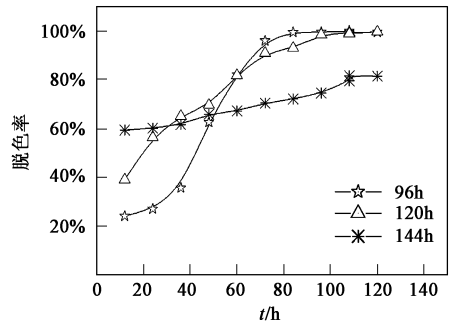


图 7 HJ01 菌株生物量对脱色效果的影响

Fig. 7 The effects of HJ01 biomass on removal

2.5 染料脱色降解的光谱分析

酸性蓝 B 降解产物的紫外可见光谱如图 8 所示, 其中位于可见光区 $\lambda = 556 \text{ nm}$ 处和位于紫外光区处的吸收带是酸性蓝 B 的特征吸收峰. 从图中可看出, 随培养时间的增加, 酸性蓝 B 在可见光区的最大特征吸收峰逐渐减弱, 至 5d 后完全消失, 而位于紫外光区 220~ 350 nm 处的吸收峰也近乎消失, 位于 190~ 220 nm 处, 吸光度值并没有增加, 说明酸性蓝 B 的发色基团蒽醌环已经被破坏, 共轭体系被打破, 这主要与漆酶活性有关.

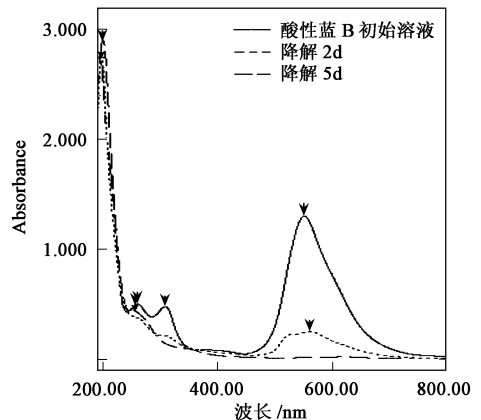


图 8 酸性蓝 B 降解的紫外可见光谱

Fig. 8 Ultraviolet-visible spectrum of Acid Blue B degradation

3 讨论(Discussion)

3.1 培养条件对 HJ01 菌株生物量及其漆酶活性的影响

从实验结果看, 碳源浓度影响菌体生物量的大小, 氮源浓度影响漆酶的产生量和活性的高低. 如在低碳条件下形成的生物量小, 初始酶活性较大. 这可能是由于氮源浓度相对较低, 菌体处于对数生长期所致. 随着时间的推移酶活性下降, 这可能与菌体过早进入平稳期, 漆酶产生量下降所致. 在高碳高氮条件下, 菌体干重虽大, 但漆酶活性一直较低, 高氮浓度可能抑制了漆酶的产生和活性的提高. 在低氮条件下, 漆酶活性稳定, 菌体生物量大, 如培养 96 h, 菌体生物量达到了 $5\sim 6\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (以干重计), 液体培养基中可能形成了低氮条件诱导了漆酶的增加和活性的提高, 这与 Kwon 等(2001)的研究结果一致. 侯红漫等(2003)也认为, 在低氮条件下有利于漆酶产生量的增加和活性的提高.

3.2 Logistic law 模型与其他生长模型比较

Logistic law 模型能较为精确地描述 HJ01 菌株生长的整个过程, 为深入研究该菌株的生长规律、培养条件的优化和控制提供一种理论预测模型, 为染料废水降解动力学提供了理论支持. 传统的菌体生长动力学模型如 Monod 模型或其修改型, 仅能较好地描述菌体的对数生长期, 但对延迟期、稳定期及衰退期则不太理想(傅旭庆等, 1996). Verlhurst 提出的逻辑定律虽能较好地描述菌体生长的动态过程, 但未能反映菌体生长的死亡期. 而 Volterra 改进的 Logistic law 模型, 能较好地描述了菌体生长的整个过程(李群等, 2001).

3.3 HJ01 菌株所产漆酶与酸性蓝 B 降解之间的关系

漆酶(E. C. 1. 10. 3. 2) 是含铜离子的多酚氧化酶, 可以催化氧化酚类化合物, 脱去羟基上的电子或质子, 形成自由基, 导致酚类化合物的裂解(Ana R *et al.*, 2000). Etienne V *et al.* (2004) 也认为是漆酶催化作用下形成的自由基, 导致了芳香类物质的降解. 染料芳香环上取代基对其降解性也有着重要的影响(杜晓明等, 1991), 如 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 等官能团的存在使得染料的生物降解性增强; 而 $-\text{SO}_3^-$ 、 $-\text{NO}_2$ 等官能团的存在使得染料的生物降解性变差. 如果染料分子结构上 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 的数目越多, 染料越容易被降解; 而 $-\text{SO}_3^-$ 数目越多时, 染料越难被降

解. 酸性蓝 B 的分子结构带有等量的 $-\text{NH}_2$ 和 $-\text{SO}_3^-$, 并有 2 个 $-\text{OH}$ 可以抵消 $-\text{SO}_3^-$ 的抑制作用, 同时酸性蓝 B 分子结构呈现镜像对映体, 空间阻碍小, 这有利于在漆酶的催化作用下形成羟基自由基, 使染料易于生物降解.

4 结论(Conclusions)

1) 从膨润土中分离出一株酸性蓝 B 高效降解真菌属镰刀菌(*Fusarium sp.*). 该菌株在 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 下生长良好, 适宜的 pH 值为 6~7, 适宜的碳源为蔗糖, 适宜的氮源为 NH_4Cl . SDS-PAGE 分析 HJ01 菌株所产漆酶的相对分子量约 66×10^3 , 在低氮条件下漆酶活性高达 $431\sim 812\text{ U}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$. 菌体培养 96 h 后, 加入到含 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 酸性蓝 B 的液体培养基中继续培养 96 h 后, 酸性蓝 B 的脱色率达 100%.

2) HJ01 菌株的生长符合 Volterra 改进的 Logistic law 动力学模型参数方程.

3) 酸性蓝 B 降解的紫外可见光谱分析表明, 经镰刀菌 HJ01 菌株脱色后染料分子的吸收峰消失, 发色基团蒽醌环被漆酶破坏, 共轭体系被打破.

参考文献(References):

- Alain D, Therese C, PORTAL J M, *et al.* 1997. Cyanide Degradation under Alkaline Conditions by a Strain of *Fusarium solani* Isolated from Contaminated Soils [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 7: 2729—2734
- Anthony V, Anissa L H S, Ray N, *et al.* 2005. Polycyclic aromatic hydrocarbons storage by *Fusarium solani* in intracellular lipid vesicles [J]. *Environmental Pollution*, 133: 283—291
- Anthony V, Anissa L H S, Gary R, *et al.* 2004. Degradation of benzo[a]pyrene by microsporidic fungi and extracellular oxidative enzymes [J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 53: 65—70
- Ana R, Rosario L, Gerardo A C, *et al.* 2000. Phenol oxidase (laccase) activity in strains of the *hyphomycete Chalara paradoxa* isolated from olive mill wastewater disposal ponds [J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 26(7):484—490
- Du X M, Liu H T. 1991. Relationship between the molecular structure of azo dyes and their biodegradability [J]. *Environmental Chemistry*, 10(6): 12—18 (in Chinese)
- Etienne V, Catherine R, Patrice W, *et al.* 2004. Preliminary evidence of the role of hydrogen peroxide in the degradation of benzo[a]pyrene by a nonwhite rot fungus *Fusarium solani* [J]. *Environmental Pollution*, 129(1): 1—4
- Fu X Q, Lü D W, Wang S X. 1996. Kinetics of Biodegradation of Chlorinated Aromatic Hydrocarbons [J]. *Journal of Chemical Engineering of Chinese Universities*, 10(4): 384—388 (in Chinese)
- Hou H M, Jiang J J. 2003. Laccase production by white rot fungi *Pleurotus*

- ostreatus* and its optimal inducing condition [J]. Journal of Dalian Institute of Light Industry, 22(1):28—31 (in Chinese)
- Jin Z H, Chai Y T, Li T L, *et al.* 2004. Decolorization Conditions for Reactive Brilliant Blue KN-R by Three Fungi [J]. Environmental Science, 25(2): 81—84 (in Chinese)
- Kwon S I, Anderson A J. 2001. Laccase isozymes: production by an opportunistic pathogen, a *Fusarium proliferatum* isolate from wheat [J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 59:235—242
- Li Q, Zhao H, Zhang Y L, *et al.* 2001. Kinetics of Removal Chlorophenol by *Phanerochaete chrysosporium* [J]. Urban Environment & Urban Ecology, 14(2): 7—9 (in Chinese)
- Lu J L, Liang Y R, Zhang L Y. 2002. Modification of coomassie brilliant blue method and application to protein assay of tea liquor [J]. Journal of Tea, 28(2): 89—93 (in Chinese)
- Shaul G M, Holdsworth T J, Dostal K A, *et al.* 1991. Fate of water soluble azo dyes in the activated sludge process [J]. Chemosphere, 22(1): 107—119
- Walker G M, Weatherley L R. 2000. Biodegradation and biosorption of acid anthraquinone dye [J]. Environ Pollut, 108(2): 219—223
- Wang X, Li P J, Gong Z Q, *et al.* 2002. The degradation of phenanthrene and pyrene in soil with the lotus root form to immobilize *Fusarium* sp. [J]. China Environmental Science, 22(1):44—47 (in Chinese)
- Yesilada O, Cing S, Asna D. 2002. Decolourisation of the textile dye Astrazon Red FBL by *Fusaria troglodytes* pellets [J]. Bioresource Technology, 81(2): 155—157
- Zhang S J, Yang M, Liu H B, *et al.* 2004. Decolorization of Reactive Blue KN-R by *Penicillium oxalicum* BX1 Adsorption [J]. Environmental Science, 25(1): 87—90 (in Chinese)
- Zhou X L, Zhang G Z, Cai Z C, *et al.* 1986. Studies on cyanide degradation by immobilized cells of *Fusarium* sp. No. 12 [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 6(3): 368—372 (in Chinese)

中文参考文献:

- 杜晓明, 刘厚田. 1991. 偶氮染料分子结构特性与其生物降解性的关系 [J]. 环境化学, 10(6): 12—17
- 傅旭庆, 吕德伟, 汪树雄. 1996. 生物降解氯代脂肪烃的动力学 [J]. 高校化学工程学报, 10(4): 384—388
- 侯红漫, 蒋娇娇. 2003. 白腐菌 *pleurotus ostreatus* 漆酶的生产及其最佳诱导条件 [J]. 大连轻工业学院学报, 22(1): 28—31
- 金朝晖, 柴英涛, 李铁龙, 等. 2004. 3 株真菌对活性艳蓝 KN-R 的脱色条件 [J]. 环境科学, 25(2): 81—84
- 李 群, 赵 华, 张业录, 等. 2001. 白腐菌去除氯代酚动力学研究 [J]. 城市环境与城市生态, 14(2): 7—9
- 陆建良, 梁月荣, 张凌云. 2002. 考马斯亮蓝法在茶汤可溶性蛋白含量分析中的应用和改良 [J]. 茶叶, 28(2): 89—93
- 王 新, 李培军, 巩宗强, 等. 2002. 莲藕状固定化真菌(镰刀菌)对土壤中菲芘的降解 [J]. 中国环境科学, 22(1): 44—47
- 张书军, 杨 敏, 辛宝平, 等. 2004. 应用青霉菌 BX1 活菌体吸附水中活性艳蓝 KN-R [J]. 环境科学, 25(1): 87—90
- 周相林, 张国忠, 蔡则诚, 等. 1986. 镰刀菌 12 号固定化细胞降解氰的研究 [J]. 环境科学学报, 6(3): 368—372