

# 木质素降解复合菌的选育及其对芦苇浆卡伯值的影响

王蕾<sup>1a,b,2</sup>, 卢庆华<sup>2</sup>, 张俊<sup>2</sup>, 石碧瑶<sup>2</sup>, 廖祥儒<sup>1a,b</sup>

(1.江南大学 a.工业生物技术教育部重点实验室;b.生物工程学院,江苏 无锡 214122;

2.内蒙古科技大学 内蒙古自治区生物质能源化利用重点实验室,内蒙古 包头 014010)

**摘要:**筛选木质素降解菌株并从中挑出产漆酶(Lac)和锰过氧化物酶(MnP)能力较强的 4 株菌株,复合培养得到 4 种复合菌 ABC,ACD,ABD 和 BCD.复合培养后 Lac 和 MnP 产酶高峰期较单一培养均有所提前,ABC,ACD 的 Lac 和 MnP 酶活力在 60~72 h 达到最大,BCD 的 Lac 和 MnP 酶活力均高于其他 3 种,而且其 MnP 有两个产酶高峰.芦苇浆经 4 种复合菌处理后,卡伯值均有所下降,经 BCD 处理后卡伯值降幅最大,达到(5.3±0.12).

**关键词:**木质素降解;漆酶;锰过氧化物酶;卡伯值

**中图分类号:**Q819

**文献标志码:**A

木质素(lignin)是普遍存在于自然界中的一种天然高分子聚合物,是世界上除纤维素外最丰富的可再生资源<sup>[1,2]</sup>.在造纸工业中,木质素残留会影响纸浆的质量,且作为主要的废弃物会造成污染,利用生物酶代替其他化学品降解木质素,不仅可以降低能耗,还会减少环境污染<sup>[3-5]</sup>.降解木质素需要多种酶协同作用<sup>[6-8]</sup>,根据降解反应中氧化电子受体不同,可将木质素降解酶分为利用 O<sub>2</sub> 的多酚氧化酶系和利用 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的过氧化物酶系,前者的典型代表为漆酶(Laccase, Lac)后者为锰过氧化物酶(Manganese peroxidases, MnP).Lac 是一种氧化还原酶,主要存在于担子菌、子囊菌和其他低等真菌中,它能够催化底物单电子氧化,同时将氧分子还原成水<sup>[9]</sup>;MnP 是一种含亚铁血红素的过氧化物酶,广泛存在于真菌中,它能够催化酚环氧化.目前 MnP 酶和 Lac 酶在漂白、制浆、脱墨、废水处理以及提高纤维板层间胶合性等方面,均有广泛的应用<sup>[10-12]</sup>.研究表明,利用复合菌株降解木质素比单一菌株效果更好<sup>[13-15]</sup>,本实验从自然界筛选木质素降解菌株,对筛选得到的菌株进行复合培养,探讨不同培养条件对复合菌生长的影响,并对不同复合菌产 Lac 和 MnP 能力,复合菌对芦苇浆卡伯值的影响进行了研究.

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 原料

土样采自东北林地;芦苇纸浆(卡伯值 29.3)为实验室制备.

#### 1.1.2 培养基

(1)筛选培养基:酵母膏 1.0 g · L<sup>-1</sup>,葡萄糖 20.0 g · L<sup>-1</sup>,琼脂 20.0 g · L<sup>-1</sup>,鞣酸 0.1 g · L<sup>-1</sup>,pH 值自然.

(2)种子培养基:马铃薯 200.0 g · L<sup>-1</sup>,蛋白胨 5.0 g · L<sup>-1</sup>,KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 3.0 g · L<sup>-1</sup>,MgSO<sub>4</sub> 1.5 g · L<sup>-1</sup>,pH 值自然.

(3)PDA 培养基:马铃薯 200.0 g · L<sup>-1</sup>,葡萄糖 20.0 g · L<sup>-1</sup>,蛋白胨 5.0 g · L<sup>-1</sup>,KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 3.0 g · L<sup>-1</sup>,

收稿日期:2019-03-19;修回日期:2020-03-20.

基金项目:国家自然科学基金(31360126);内蒙古自治区自然科学基金(2015MS0303).

作者简介:王蕾(1981-),女,内蒙古包头市人,内蒙古科技大学讲师,江南大学博士研究生,研究方向为微生物酶应用,E-mail:llei009lei@126.com.

通信作者:廖祥儒,江南大学教授,博士生导师,研究方向为生物大分子结构与功能,E-mail:liaoxiangru@163.com.

$\text{MgSO}_4$   $1.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH 值自然.

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 木质素降解菌株的筛选

50 mL 无菌水振荡洗涤 5 g 土样 30 min, 稀释涂布于筛选培养基上, 挑选有变色圈的单菌落, 即为木质素降解菌株. 将挑选得到的单菌落接种到种子培养基上,  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  培养 48 h 后接种到 PDA 培养基中,  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  培养 72 h 后, 离心后取上清液, 分别测定 Lac 和 MnP 酶活力.

### 1.2.2 复合菌的培养

单一菌株 3 种为一组, 接种至种子培养基中, 每种接种量为 8%,  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  培养 48 h 后再次转接至种子培养基, 接种量为 15%, 培养 48 h 再次接种, 重复培养 3~5 次后得到复合菌种子培养液.

### 1.2.3 菌体生长量的测定

复合菌株接种至 PDA 培养基中, 接种量 10%,  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  培养 192 h 后,  $4000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心收集菌体, 烘干至恒重后测定菌体生长量.

### 1.2.4 漆酶(Lac)及锰过氧化物酶(MnP)活力的测定

复合菌株接种至 PDA 培养基中, 接种量 15%,  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  培养一定时间后, 测定 Lac<sup>[16]</sup> 及 MnP<sup>[17,18]</sup> 活力.

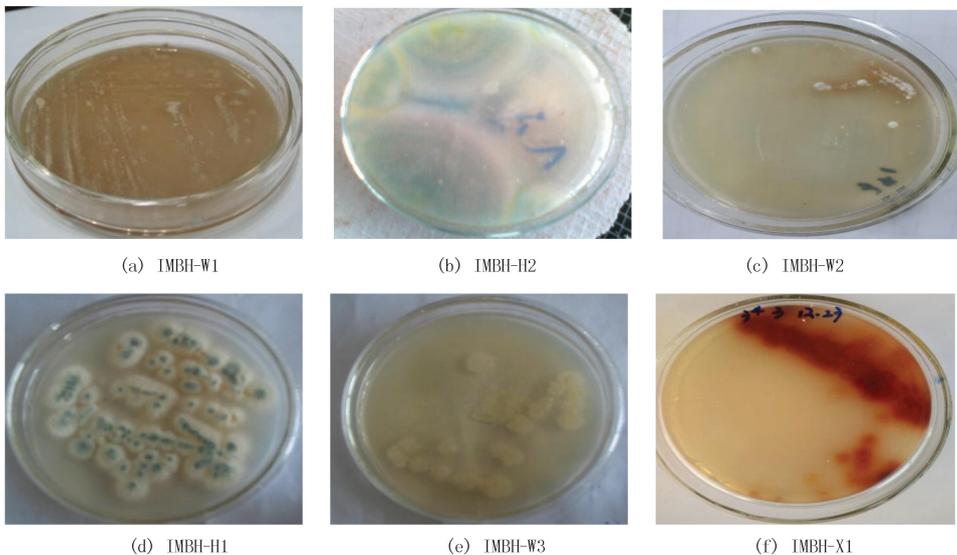
### 1.2.5 复合菌处理芦苇浆

将 2 g 芦苇杆浆用蒸馏水溶解后, 加入 15 mL 粗酶液, 搅拌混合后, 测定纸浆卡伯值(GB/T 1546-2004)和 pH 值.

## 2 结果与分析

### 2.1 木质素降解菌株的筛选

筛选后得到单菌落, 测定其变色圈直径和菌落直径, 比较变色圈直径/菌落直径比值, 得到比值较大的 7 株菌株(见图 1), 分别命名为 IMBH-W1, IMBH-W2, IMBH-W3, IMBH-H1, IMBH-H2, IMBH-H3, IMBH-X1. 经平板形态及显微形态初步鉴定, 7 株菌株均为真菌.



(a) 菌株 IMBH-W1 平板菌落形态; (b) 菌株 IMBH-H2 平板菌落形态; (c) 菌株 IMBH-W2 平板菌落形态;  
(d) 菌株 IMBH-H1 平板菌落形态; (e) 菌株 IMBH-W3 平板菌落形态; (f) 菌株 IMBH-X1 平板菌落形态.

图1 木质素降解菌株平板菌落形态

Fig.1 Colony morphology of lignin degradation strains

7 株菌株摇瓶培养后测定 Lac 及 MnP 酶活力, 结果如图 2 所示. 7 株菌株产酶能力差别较大, Lac 酶活力最高的是 IMBH-W1, 最低的是 IMBH-X1, 相差 37.5 倍; MnP 酶活力最高的是 IMBH-H1, 最低的是 IM-

BH-W2,相差 22.9 倍;Lac 酶活力最高的菌株和 MnP 酶活力最高的菌株并非同一菌株,多数菌株的 Lac 酶活力高于 MnP.由于木质素降解需要酶的协同作用,因此选择 Lac 和 MnP 酶活力均较高的 4 株菌株作为下一步复合培养的出发菌株.

## 2.2 培养条件对复合菌株生长的影响

### 2.2.1 培养方式对复合菌生长的影响

将 IMBH-W1,IMBH-H1,IMBH-W3,IMBH-H3 编号为菌株 A,B,C,D.3 种为一组进行复合培养,得到 4 种复合菌:ABC,ACD,ABD,BCD.分别对 4 种复合菌进行静置培养和摇瓶培养,比较其生长情况,结果如图 3 所示.

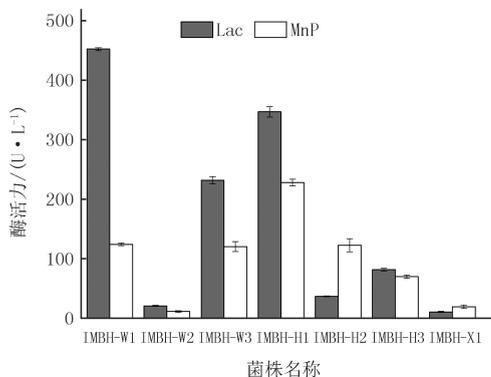


图2 不同菌株Lac和MnP酶活力

Fig.2 Enzyme activity of Laccase and manganese peroxide of different strains

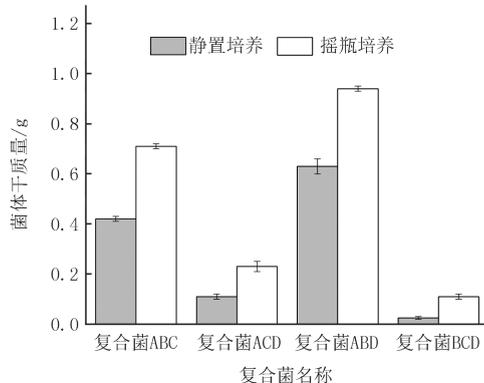


图3 不同培养方式对复合菌株生长的影响

Fig.3 Effect of compound strains growth on different culture

4 种复合菌在摇瓶培养下的生长情况均好于静置培养,主要是由于菌株为好氧微生物,摇瓶培养时溶氧要好于静置培养,更有利于菌株的生长.无论静置培养还是摇瓶培养,ABD 和 ABC 的生长情况都远远好于 ACD 和 BCD,说明这两种复合菌生长更好.

### 2.2.2 培养温度对复合菌生长的影响

在不同温度下对 4 种复合菌摇瓶培养后测定菌体生长量,结果如图 4 所示,温度在 26~35 °C 范围内 ABC 和 ABD 的生长情况好于 ACD 和 BCD; ABC 和 BCD 在 29 °C 生长情况最好,ACD 和 ABD 在 32 °C 生长情况最好.尽管 4 种复合菌具有不同的最佳生长温度,但在 29~32 °C 范围内有最大生长量,培养温度低于 26 °C 或 35 °C 时菌体生长量迅速下降,说明 4 种复合菌对培养温度的变化比较敏感.

### 2.2.3 培养基 pH 对复合菌生长的影响

在不同 pH 下对 4 种复合菌进行摇瓶培养后测定菌体生长量,结果如图 5 所示.随着培养基 pH 值升高,4 种复合菌菌体生长量均有所下降,其中 BCD 的下降程度最为明显;4 种复合菌株在 pH 3.5~4.5 范围内有最大菌体干重,说明培养基 pH 值范围 3.5~4.5 更有利于复合菌株的生长.

### 2.2.4 培养时间对复合菌株生长的影响

对 4 种复合菌进行摇瓶培养,每隔 48 h 测定菌体生长量,结果如表 1 所示.在相同培养条件下,4 种复合菌到达最大生长量的时间不同.其中 ABC,ACD 和 ABD 均在 192 h 达到最大生长量,BCD 在 144 h 达到最大生长量.BCD 到达最大生长量的时间要早于其他 3 种复合菌 48 h.

表 1 培养时间对复合菌株生长的影响

Tab.1 Effect of culture time on compound strains growth

复合菌	菌体生长质量/g				
	48 h	96 h	144 h	192 h	240 h
ABC	0.23±0.01	0.37±0.01	0.54±0.005	0.69±0.01	0.66±0.005
ACD	0.025±0.005	0.07±0.001	0.098±0.002 5	0.145±0.025	0.13±0.01
ABD	0.28±0.01	0.51±0.005	0.69±0.005	0.84±0.01	0.81±0.015
BCD	0.009±0.001	0.03±0.001	0.12±0.01	0.008±0.002 5	0.06±0.005

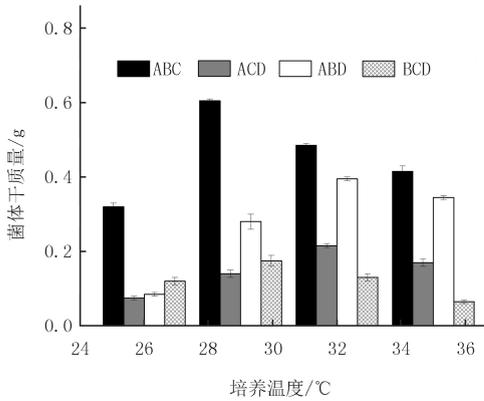


图4 培养温度对复合菌株生长的影响  
Fig.4 Effect of temperature on compound strains growth

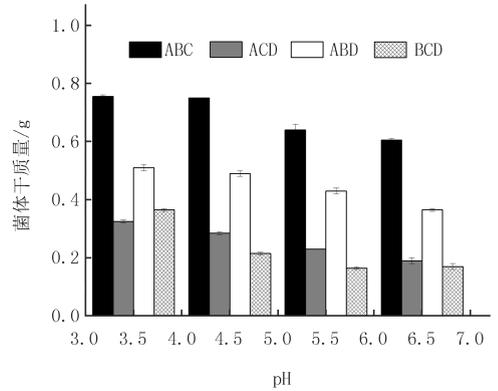
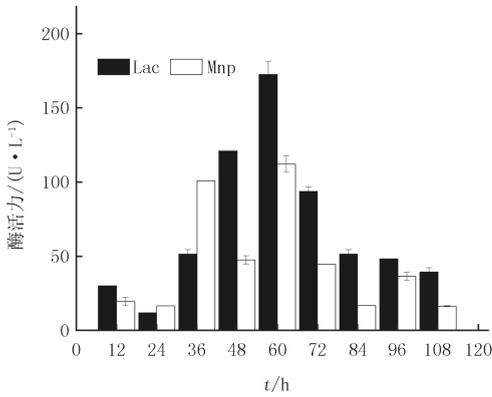


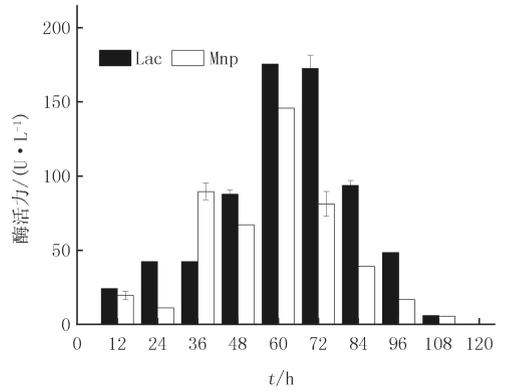
图5 培养基pH对复合菌株生长的影响  
Fig.5 Effect of culture pH on growth of compound strains

### 2.3 复合菌发酵产 Lac 和 MnP 的研究

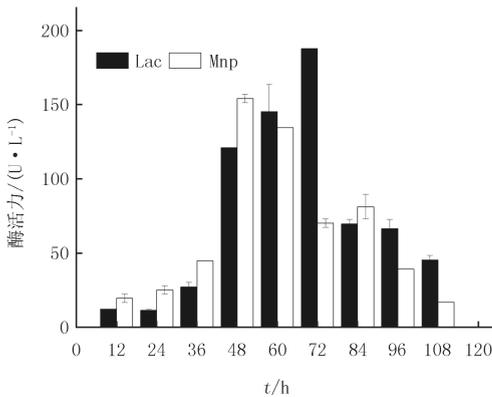
对 4 种复合菌进行摇瓶培养,每隔 12 h 测定 Lac 和 MnP 酶活力,结果如图 6 所示。



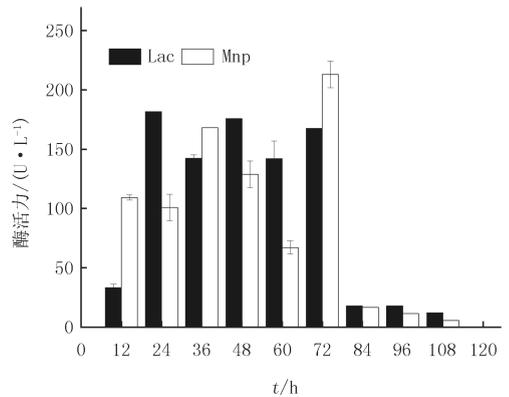
(a) 发酵时间对ABC酶活力的影响



(b) 发酵时间对ACD酶活力的影响



(c) 发酵时间对ABD酶活力的影响



(d) 发酵时间对BCD酶活力的影响

图6 发酵时间对复合菌Lac和MnP酶活力的影响

Fig.6 Effect of culture time on enzyme activity of Lac and MnP of compound strains

4 种复合菌的 Lac 酶活力随着发酵时间的增加而升高,达到最大值后随之降低.其中 ABC 在 60 h 时, Lac 酶活力达到最大,为  $172.6 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$ ; ACD 在 60 h 时, Lac 酶活力达到最大,为  $175.6 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$ ; ABD 在 72 h 时 Lac 酶活力最大,为  $187.7 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$ ; BCD 的 Lac 酶虽然在 24 h 时就达到  $181.7 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$ ,但在之后的

48 h 内变化不大,始终在  $140 \sim 180 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$  左右,4 种复合菌 Lac 酶活力差别不大,ACD 产酶高峰时间较其他复合菌持续时间长;BCD 的产酶高峰较其他 3 种复合菌提前较多。

4 种复合菌的 MnP 酶活力与 Lac 的变化趋势相似,其中 ABC 和 ACD 在 60 h 时,MnP 酶活力达到最大,分别为  $112.1 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $145.7 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$ ;ABD 在发酵 48 h 时 MnP 酶活力达到最大,为  $154.5 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$ ;BCD 在 36 h 和 72 h 出现两个产酶高峰,分别为  $168.2 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $212.9 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$ 。4 种复合菌 MnP 酶活力差别较大,BCD 不仅 MnP 酶活力高于其他 3 种复合菌,且产酶高峰较其他复合菌提前同时有两个产酶高峰,说明 BCD 产 MnP 能力较强。

从实验结果可以看出,相比于单一菌株(图 2),复合菌培养减小 Lac 和 MnP 酶活力差值,且其两种酶的产酶高峰出现时间较单一培养更靠近,这可能是由于复合菌群中的微生物彼此共生,相互依赖造成的。

## 2.4 复合菌对芦苇浆卡伯值的影响

分别用 4 种复合菌粗酶液对卡伯值为 29.3, pH 8.5 的芦苇浆进行处理后,测定卡伯值和 pH,结果如图 7 所示。

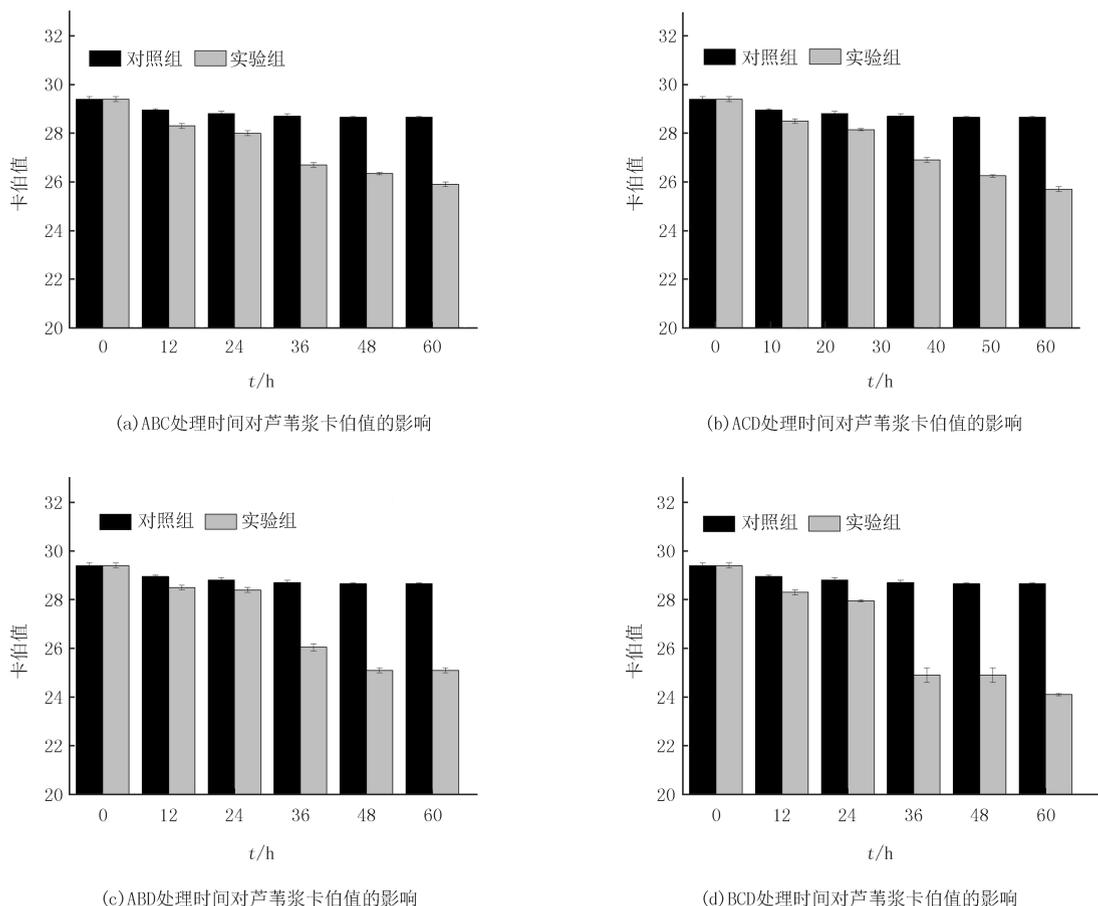


图7 处理时间对芦苇浆卡伯值的影响

Fig.7 Effect of processing time on kappa value of reed pulping

经处理后,芦苇浆的卡伯值均有所下降,并且随着处理时间的延长卡伯值降幅增加;处理时间为 24~36 h 时卡伯值下降较为明显,处理 48~60 h 后卡伯值趋于稳定;在 4 种复合菌中,经 BCD 处理后的芦苇浆卡伯值降幅最大,达到  $5.3 \pm 0.12$ 。从结果来看,复合菌 Lac 和 MnP 酶活力与降低芦苇浆卡伯值之间存在一定的关系,BCD 产两种酶的酶活力较其他 3 种复合菌更高,经其处理后的芦苇浆卡伯值降低幅度也更大,说明 Lac 和 MnP 在降低纸浆卡伯值中起到一定的作用。

处理后芦苇浆的 pH 值均在 6.2~6.8 左右,接近中性(图 8)。说明利用复合菌处理芦苇浆,处理后 pH 值接近中性,相对于化学药品更加温和,具有环境友好性。

### 3 结 论

(1)筛选得到木质素降解菌株,挑选出产 Lac 酶和 MnP 酶能力较强的 4 株菌株 IMBH-W1,IMBH-H1,IMBH-W3,IMBH-H3,并将其分别编号为菌株 A,B,C,D.3 种为一组对 4 株菌株进行复合培养,得到 4 种复合菌 ABC,ACD,ABD 和 BCD.

(2)摇瓶培养较静置培养更有利于复合菌的生长,对不同培养条件下复合菌生长情况的实验结果表明:在 29~32 ℃, pH 3.5~4.5 的条件下,4 种复合菌在 144~192 h 可获得最佳生长量.

(3)4 种复合菌 Lac 酶活力差别不大,但产酶高峰出现和持续的时间有所差别,ACD 产酶高峰时间较其他复合菌持续时间长;BCD 的产酶高峰较其他 3 种复合菌提前较多.4 种复合菌 MnP 酶活力差别较大,BCD 不仅 MnP 酶活力高于其他 3 种复合菌,且产酶高峰较其他复合菌提前,同时有两个产酶高峰.

(4)芦苇浆经 4 种复合菌处理后,卡伯值均有所下降,其中经复合菌 BCD 处理后卡伯值降幅最大,达到 5.3±0.12,说明 Lac 和 MnP 在降低纸浆卡伯值中起到一定的作用.

(5)相比于从自然界中直接筛选复合菌株,将不同单菌株复合培养,通过不断地传代形成稳定的复合菌群,不仅操作更加方便,而且可以产生更多的组合形式.实验结果表明,复合菌相比于单一菌不仅减小了 Lac 和 MnP 酶活力差值,而且使得两种酶的产酶高峰出现时间更加接近.

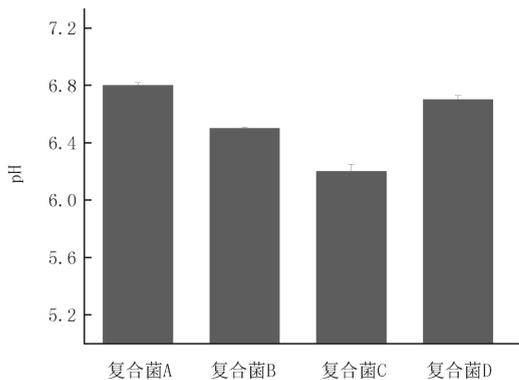


图8 不同复合菌对芦苇浆pH值的影响

Fig.8 Effect of different compound strains on pH value of reed pulping

### 参 考 文 献

- [1] LEWIS N G, YAMAMOTO E. Lignin-occurrence, biogenesis and biodegradation[J]. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 1990, 41: 455.
- [2] 张鹏飞, 李素艳, 余克非, 等. 木质素降解细菌的筛选及园林废弃物降解研究[J]. 安徽农业大学学报, 2018, 45(4): 676.  
ZHANG P F, LI S Y, YU K F, et al. Screening of lignin-degrading bacteria and study on degradation of garden waste[J]. Journal of Anhui Agricultural University, 2018, 45(4): 676.
- [3] PHILIPPOUSSIS A, ZERVAKIS G, DIAMANTOPOULOU P. Bioconversion of agricultural lignocellulosic wastes through the cultivation of the edible mushrooms *Agrocybe aegerita*, *Volvariella volvacea* and *Pleurotus* sp.[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2001, 17(2): 191.
- [4] 付春霞, 付云霞, 邱忠平, 等. 木质素生物降解的研究进展[J]. 浙江农业学报, 2014, 26(4): 1139.  
FU C X, FU Y X, QIU Z P, et al. Research progresses of lignin biodegradation[J]. Acta Agriculture Zhejiangensis, 2014, 26(4): 1139.
- [5] 刘晶, 李晨曦, 刘洪斌. 纤维素酶在造纸过程中的应用[J]. 中国造纸, 2018, 2(37): 48-53.  
LIU J, LI C X, LIU H B. The Application of Cellulase in Papermaking Process[J]. China Pulp & Paper, 2018, 2(37): 48.
- [6] MACIEL M J M, SILVA A C E, HELENA C T R. Industrial and biotechnological applications of ligninolytic enzymes of the basidiomycota: A review[J]. Electronic Journal of Biotechnology, 2010, 13(6): 1124.
- [7] 王蕾, 王万贵, 季祥, 等. 白腐菌 *Polyporus varius* 的木质素降解及其对芦苇综纤维素含量和 kappa 值的影响[J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 2011, 39(5): 114-119.  
WANG L, WANG W G, JI X, et al. Lignin degradation by the white fungus *Polyporus varius* and its effect of pretreatment conditions on holocellulose content and kappa number in *Phragmites Australis*[J]. Journal of Hennan Normal University(Natural Science), 2011, 39(5): 114-119.
- [8] 广万聪, 贾转, 李明富, 等. 木质纤维原料与纤维素酶相互作用的研究进展[J]. 中国造纸学报, 2018, 3(33): 61.  
WAN G C, JIA Z, LI M F, et al. Research Progress in Interaction Mechanism between Lignocellulosic Material and Cellulase[J]. Transac-

- tions of China Pulp and Paper,2018,3(33):61.
- [9] MUBARIK S,SAEED A,ATHAR M M.Characterization and mechanism of the adsorptive removal of biochar prepared from sugarcane baggase[J].Journal of Industrial and Engineering Chemistry,2016,33:115
- [10] 刘梦茹,付时雨.锰过氧化物酶应用的研究进展[J].林产化学与工业,2006,2(26):112.  
LIU M R,FU S Y.Progress of Researches on Applications of Manganese Peroxidase[J].Chemistry and Industry of Forest Products,2006,2(26):112.
- [11] Sasakit,Kajinot,Lib.New pulp biobleaching system involving manganese peroxidase immobilized in a silica support with controlled pore sizes[J].Appl Environ Microbiol,2001,67(5):2208.
- [12] 张爱萍,秦梦华,徐清华.酶对纤维改性的研究进展[J].中国造纸,2005,24(9):57-60.  
ZHANG A P,QIN M H,XU Q H.Progress in Enzymatic Modification of Pulp Fibers[J].China Pulp&Paper,2005,24(9):57-60.
- [13] 王海磊,李平,张文钰,等.白腐菌 F8 的分离及降解木质素能力研究[J].河南师范大学学报(自然科学版),2006,34(2):110-112.  
WANG H L,LI P,ZHANG W Y,et al.Study on ability of a strains of white rot fungi F8 screened from soil sample to degradate lignin[J].Journal of Hennan Normal University(Natural Science),2006,34(2):110-112.
- [14] 陈耀宁,曾光明,喻曼,等.与黄孢原毛平革菌协同降解稻草的混合菌筛选[J].中国环境科学,2007,27(2):189.  
CHEN Y M,ZENG G M,YU M,et al.Screening of compatible strains with Phanerochaete chrysosporium for biodegradation of straw[J].China Environmental Science,2007,27(2):189.
- [15] 卢庆华,邢孟兰,蔡禄.降解芦苇木素复合菌种的选育[J].中国造纸,2015,34(2):73.  
LU Q H,XING M L,CAI L.Screening of Mixed Strains for Synergistic Degradation of Reed Lignin[J].China Pulp&Paper,2015,34(2):73.
- [16] 刘文华,蔡宇杰,孙付宝,等.白腐菌 *Trametes hirsuta* SYBC-L19 液态发酵水葫芦产漆酶[J].食品与生物技术学报,2012,31(12):1252.  
LIU W H,CAI Y J,SUN F B,et al.Study of *Trametes hirsute* SYBC-L19 Liquidstate Fermentation for Laccase Production[J].Journal of Food Science and Biotechnology,2012,31(12):1252.
- [17] 李惠蓉.白腐真菌生物学和生物技术[M].北京:化学工业出版社,2005.  
LI H R.Biology and biotechnology of white rot fungi[M].BeiJing:Chemical Industry Press,2005.
- [18] 彭丹,郑刘春,李静华.固态发酵技术制备溢油吸附剂[J].河南师范大学学报(自然科学版),2018,46(4):67-73.  
PENG D,ZHENG L C,LI J H.Study on preparation of oil sorbent by solid-state fermentation[J].Journal of Hennan Normal University (Natural Science),2018,46(4):67-73.

## Screening of lignin degradation compound strains and its effect on kappa value of reed pulping

Wang Lei<sup>1a,b,2</sup>, Lu Qinghua<sup>2</sup>, Zhang Jun<sup>2</sup>, Shi Biyao<sup>2</sup>, Liao Xiangru<sup>1a,b</sup>

(1.a.Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education;

b.School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2.Inner Mongolia Key Laboratory of Biomass-Energy Conversion, Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou 014010, China)

**Abstract:** Lignin degradation strains were screend and 4 strains with high laccase-producing activity and manganese peroxidases-producing activity were selected. After compound culture, 4 kinds of compound strains ABC, ACD, ABD and BCD were obtained. The enzyme production peaks of Lac and MnP in compound culture were earlier than that in single culture. The enzyme activity of Lac and MnP produced by strain ABC and ACD reached the maximum in 60—72 h. The activity of Lac and MnP produced by strain BCD were higher than the others, and there are two enzyme production peaks of its MnP. After treatment by compound strains, the kappa number of reed pulping were decreased, among which the kappa number decreased the most after the treatment by strain BCD, reaching  $5.3 \pm 0.12$ .

**Keywords:** lignin-degrading; laccase; manganese peroxidases; kappa number

[责任编辑 王凤产 杨浦]