

研究报告

一件出土饱水木漆器文物中可培养细菌的鉴定及对木材的腐蚀作用

雷琼^{1,2} 章俊³ 邱祖明² 江涛^{4*} 马立安^{1*}

(1. 长江大学生命科学学院 湖北 荆州 434025)

(2. 荆州文物保护中心 湖北 荆州 434020)

(3. 广东省微生物研究所 广东 广州 510070)

(4. 长江大学动物科学学院 湖北 荆州 434025)

摘要:【背景】饱水木质文物易受到微生物侵害，目前国外围绕饱水木质文物微生物病害已开展多方面研究，并取得阶段性进展，而国内在饱水木质文物微生物学技术方面的报道比较少。【目的】研究保藏水环境中出土饱水木漆器 F446 及水中细菌的种类，以及对木材的腐蚀作用。【方法】采用 16S rRNA 基因序列分析方法及生理生化试验，对饱水木漆器 F446 及水环境中细菌进行鉴定，并选取典型菌按 5×10^8 个/瓶菌量接种马尾松心材(悬于无菌自来水中)，37 °C 培养 120 d，测试木材的损失率。【结果】从 F446 文物和水样中分离的 53 株细菌中，21 株被鉴定为芽孢杆菌属(*Bacillus*)，为优势菌属，其中蜡样芽孢杆菌(*B. cereus*) 19 株，病研所芽孢杆菌(*B. idriensis*)和苏云金芽孢杆菌(*B. thuringiensis*)各 1 株；11 株菌被鉴定为短杆菌属(*Brevibacterium*)，此外还有 4 株短波单孢菌属(*Brevundimonas*)，5 株粪产碱杆菌(*Alcaligenes faecalis*)，5 株 *Altererythrobacter*，2 株水氏黄杆菌(*Flavobacterium mizutaii*)；另外，还有解糖假苍白杆菌(*Pseudochrobactrum saccharolyticum*)、梭型芽孢杆菌(*Lysinibacillus fusiformis*)、*Leucobacter aridicollis*、*Ochrobactrum pseudogrignonense*、类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)菌株各 1 株。菌株 A5、A6 分别为类芽孢杆菌(*Paenibacillus*)和 *Altererythrobacter* 属中的疑似新种。从典型菌中选取 15 株菌回接木材进行腐蚀试验，结果显示，9 株细菌与对照组比较存在极显著差异，说明这些菌对马尾松木材有一定的腐蚀作用，但是腐蚀率非常低，最高仅 1.38%，表明这些细菌对试验木材马尾松腐蚀并不严重。【结论】F446 木漆器文物样品中优势菌属为芽孢杆菌属(*Bacillus*)，水样中优势菌属依次为短杆菌属(*Brevibacterium*)、短波单孢菌属(*Brevundimonas*)和 *Altererythrobacter*。从 F446 木漆器文物和水样中分离出的细菌对木材的降解非常缓慢，短期内腐蚀作用有限。

关键词: 饱水木漆器，细菌，16S rRNA 基因，木材腐蚀率，文物保护

Foundation item: Open Project of Scientific Research Base of Excavated Wood and Lacquerware Conservation, State Administration for Cultural Heritage

*Corresponding authors: E-mail: JIANG Tao: jiangtao@yangtzeu.edu.cn; MA Li-An: malian@yangtzeu.edu.cn

Received: May 30, 2017; Accepted: October 10, 2017; Published online (www.cnki.net): November 02, 2017

基金项目: 出土木漆器保护国家文物局重点科研基地开放课题

*通信作者: E-mail: 江涛: jiangtao@yangtzeu.edu.cn; 马立安: malian@yangtzeu.edu.cn

收稿日期: 2017-05-30; 接受日期: 2017-10-10; 网络首发日期(www.cnki.net): 2017-11-02

Identification of cultured bacteria separated from an excavated waterlogged wood and lacquer

LEI Qiong^{1,2} ZHANG Jun³ QIU Zu-Ming² JIANG Tao^{4*} MA Li-An^{1*}

(1. College of Life Science of Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434025, China)

(2. Jingzhou Conservation Center, Jingzhou, Hubei 434020, China)

(3. Guangdong Institute of Microbiology, Guangzhou, Guangdong 510070, China)

(4. College of Animal Science of Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434025, China)

Abstract: [Background] According to relevant researches, waterlogged archaeological wood is vulnerable to degradation by microorganisms. Concerning the microbial damage of waterlogged archaeological wood, many studies have been carried out overseas, but few reported in China. [Objective] This study is aimed at analyzing the bacteria population in waterlogged archaeological wood and their degradation on wood when preserved in water. [Methods] Bacteria were identified by physiological and biochemical test and 16S rRNA gene sequence analysis. Typical bacteria strains were inoculated into wood that were used to test the wood degradation. The number of bacteria used to inoculate was 5×10^8 and the inoculated wood was cultured at 37 °C for 120 d. [Results] In total 53 strains were separated from F446 and the water sample. The dominant genus of these strains with number of 21, was *Bacillus*. Eleven of them belong to the genus of *Brevibacterium*, four are *Brevundimonas*, five are *Alcaligenes faecalis*, five are *Altererythrobacter*, two are *Flavobacterium mizutaii*, one is *Pseudochrobactrum saccharolyticum*, *Lysinibacillus fusiformis*, one *Leucobacter aridicollis*, one *Paenibacillus*, and one *Ochrobactrum pseudogrignonense*. Furthermore, strains A5 and A6 are likely new species of *Paenibacillus* and *Altererythrobacter*. Fifteen typical strains were selected to test the corrosion. Nine strains have extremely significant difference compared to the control. Some bacteria corroded wood but the corrosion rate was lower. It indicated that these bacteria could not cause severe corrosion to the wood of *Pinus massoniana*. [Conclusion] During a short period, bacterial driven wood-corrosion was not obvious when the archaeological waterlogged wood was preserved in water after excavated.

Keywords: Waterlogged wood and lacquer, Bacteria, 16S rRNA gene, Wood corrosion rate, Cultural relics conservation

木质文物作为一种载体,承载着人类古代文明的发展痕迹与记录,具有很高的历史、艺术、科技、经济价值。在南方古代墓葬中,木质文物通常长期处在潮湿或水线以下的土层里,出土时胎体往往已经糟朽,成为饱水状态。为防止其干缩变形,在修复工作开始前一般浸泡在水中。

随着文物保护事业的发展,文物保护需求的增加,包括生物学技术在内的很多自然科学领域的方法和技术逐渐被引用到文物保护中。从20世纪中叶开始,西方学者就运用生物学理论来评估各类文物的保存状况,并以评估结果为依据来完善文物保护措施^[1-3],如今文物保护微生物学作为一门独立的学科出现在学术界^[4]。国内在文物保护微生物学方面,尤其是古代壁画和木质棺槨的微生物病害方

面的研究也已取得阶段性进展和成果^[5-9]。但与欧美国家相比,我国尚无将微生物学技术应用于饱水木质文物保护方面的正式报道^[10]。

大量研究表明,木材细胞壁中主要含纤维素、半纤维素和木质素,饱水状态时细菌以木材中的上述成分为碳源而生存^[2-3,11-12],此外,微生物代谢产物中含有的某些酶也能够分解木质文物中的有机质^[13-14],因此饱水木质文物易受到微生物侵蚀。

为深入了解出土饱水木漆器的微生物侵害信息,及引起微生物病害的病原体,本课题组对江陵天星观一号楚墓中出土的饱水木漆器文物及保存水中的微生物开展调查,对F446彩绘漆几木胎和保存水进行取样,木胎样品碾磨稀释后通过平板菌落计数,发现F446彩绘漆几木胎样品中细菌数量为

1 250 CFU/g, 水样中细菌数量为 1 590 CFU/L^[15], 本研究对以上分离的细菌进行鉴定, 并选取典型菌回接至木材, 评价其对木材腐蚀性的影响, 为后续试验中抑菌杀菌剂的筛选提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 饱水木漆器样品

饱水木漆器来自湖北江陵天星观一号楚墓(F446 彩绘漆几, 胎体为木质), 于 1978 年被发掘出土后一直保存在荆州博物馆地下室水池中。水池中注入的是自来水, 取样时地下室温度为 24.2 °C, 水池中温度为 23.3 °C。

1.1.2 试验菌株

供试菌株为从饱水木漆器文物 F446 及保存该文物的水样中分离到的细菌^[15]。从 F446 木漆器文物中分离到 26 株细菌, 编号为 W1-W26, 水样中分离出 27 株细菌, 编号为 A1-A27。

1.1.3 回接木材试样

从荆州市某木材市场购得马尾松^[16] 2 根(胸高部位, 胸径 280 mm, 长 2 m)。

1.2 方 法

1.2.1 16S rRNA 基因序列的扩增及比对

利用煮沸法^[17]获得细菌 DNA 模板, 采用细菌 16S rRNA 基因引物 27F (5'-AGAGTTTGATCCTG GCTCAG-3')和 1492R (5'-ACGGCTACCTTGTTAC GACTT-3')对 53 株细菌分别进行 PCR 扩增。50 μL PCR 反应体系: 10×Taq Buffer 5 μL, 2 mmol/L dNTPs 6 μL, Taq 酶 2 U, 10 μmol/L 引物各 1 μL, 20 ng DNA 模板, ddH₂O 定容至 50 μL。PCR 扩增程序: 94 °C 4 min; 94 °C 1 min, 55 °C 1 min, 72 °C 90 s, 30 个循环; 72 °C 10 min。扩增后将 PCR 产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司武汉测序部进行测序, 序列在 EzTaxon 上比对分析, 并采用 MEGA 软件进行细菌分类地位分析。

1.2.2 细菌的生理生化鉴定

参照文献[18-19]描述的方法进行生理生化试验。

1.2.3 细菌对木材的腐蚀作用

参照天然耐腐性实验室试验方法^[20], 选取马

尾松心材, 将其切割成 2 cm×2 cm×1 cm 的小方块, 置于烘箱中 103±2 °C 烘至恒重^[21]。选取 10 g 左右的木块若干分装在规格相同的螺纹蓝盖广口圆瓶中, 1×10⁵ Pa 灭菌 30 min 后冷却备用^[22]。

根据细菌鉴定结果, 选取典型分离菌株菌液转接至马尾松木材进行腐蚀试验。为保持每瓶接种的细菌数量一致, 用无菌生理盐水洗涤并重悬菌体, 采用稀释涂布平板计数法计数, 每瓶中接菌数量约 5×10⁸ 个^[23]。每株细菌接种 6 瓶, 每瓶用无菌自来水定容至 250 mL, 对照组不接种分离菌株。接种完成后, 将所有装有木材的螺纹蓝盖广口圆瓶放入 37 °C 培养, 120 d 后测木块恒重, 参照 GB/T 13942.1-2009^[20]计算木块质量损失率, 并采用 Origin 7.5 软件进行显著性分析。

2 结果与分析

2.1 16S rRNA 基因序列分析

将 F446 木漆器胎体和水样中 53 株细菌所测得的序列通过比对后, 选取典型菌进行同源性分析(表 1), 构建系统发育树(图 1), 根据亲缘关系的远近来初步判断细菌种类。

2.2 生理生化鉴定分析

根据 F446 木质样和水样中分离到的细菌 16S rRNA 基因序列分析结果, 对这些菌株进行了生理生化试验。结果见表 2 所示。

根据系统发育分析可知, 以 W3、W4、W6、W7、W8、W21、W25、A4、A11、A24 为代表的典型菌株分别与 *B. cereus* (KY880974.1)、*B. idriensis* (LN774270.1)、*Brevibacterium* sp. (KF317832.1)、*Pseudochrobactrum saccharolyticum* (KX977558.1)、*Lysinibacillus sphaericus* (KY744661.1)、*Alcaligenes faecalis* (LC213619.1)、*B. thuringiensis* (KY606938.1) 等具有 100% 的相似性, 且在系统发育树中处于同一分支, 结合生理生化特征可判断 W3 为蜡样芽孢杆菌(*B. cereus*), W4 为病研所芽孢杆菌(*B. idriensis*), W6 为短杆菌属(*Brevibacterium* sp.), W7 为解糖假苍白杆菌(*Pseudochrobactrum saccharolyticum*), W8 为梭型芽孢杆菌(*Lysinibacillus fusiformis*), W21 为粪产

表 1 F446 木质样和水样中部分典型细菌 16S rRNA 基因序列相似性分析

Table 1 The 16S rRNA gene sequence similarity analysis of representative bacteria from F446 wood and water samples

代表菌株 Representative strains	登录号 GenBank accession No.	数量 Quantity	最相近菌株 The most similar strains	属名 Genus	相似性指数 Similarity rate (%)
W3	MF321739	18	<i>Bacillus cereus</i> (KY880974.1)	芽孢杆菌属(<i>Bacillus</i>)	100
W4	MF321740	1	<i>Bacillus idriensis</i> (LN774270.1)	芽孢杆菌属(<i>Bacillus</i>)	100
W6	MF321741	2	<i>Brevibacterium</i> sp. (KF317832.1)	短杆菌属(<i>Brevibacterium</i>)	100
W7	MF321742	1	<i>Pseudochrobactrum saccharolyticum</i> (KX977558.1)	假苍白杆菌属 (<i>Pseudochrobactrum</i>)	100
W8	MF321743	1	<i>Lysinibacillus sphaericus</i> (KY744661.1)	梭杆菌属(<i>Fusiformis</i>)	100
W21	MF321744	2	<i>Alcaligenes faecalis</i> (LC213619.1)	产碱杆菌属(<i>Alcaligenes</i>)	100
W25	MF321745	1	<i>Bacillus thuringiensis</i> (KY606938.1)	芽孢杆菌属(<i>Bacillus</i>)	100
A1	MF321729	1	<i>Bacillus cereus</i> (AE016877)	芽孢杆菌属(<i>Bacillus</i>)	99.88
A3	MF321730	1	<i>Leucobacter aridicollis</i> (AJ781047)	无色杆菌属(<i>Leucobacter</i>)	99.72
A4	MF321731	3	<i>Alcaligenes faecalis</i> subsp. <i>phenolicus</i> (AUBT01000026)	产碱杆菌属(<i>Alcaligenes</i>)	100
A5	MF321732	1	<i>Paenibacillus dendritiformis</i> (AY359885)	<i>Paenibacillus</i>	98.46
A6	MF321733	5	<i>Altererythrobacter atlanticus</i> (KC018454)	<i>Altererythrobacter</i>	97.74
A8	MF321734	9	<i>Brevibacterium epidermidis</i> (X76565)	短杆菌属(<i>Brevibacterium</i>)	99.72
A11	MF321735	1	<i>Ochrobactrum pseudogrignonense</i> (AM422371)	苍白杆菌属(<i>Ochrobactrum</i>)	100
A21	MF321736	1	<i>Brevundimonas diminuta</i> (GL883089)	短波单孢菌属(<i>Brevundimonas</i>)	99.87
A22	MF321737	2	<i>Flavobacterium mizutaii</i> (AJ438175)	黄杆菌属(<i>Flavobacterium</i>)	99.87
A24	MF321738	3	<i>Brevundimonas olei</i> (GQ250440)	短波单孢菌属(<i>Brevundimonas</i>)	100

碱杆菌(*Alcaligenes faecalis*), W25 为苏云金芽孢杆菌(*B. thuringiensis*), A4 为粪产碱杆菌亚种(*Alcaligenes faecalis* subsp. *phenolicus*), A11 为 *Ochrobactrum pseudogrignonense*, A24 为 *Brevundimonas olei*。A1、A3、A8、A21、A22 与最相近菌株相似性在 99.7% 左右,且在系统发育树中在同一分支,结合生理生化特征判断 A1 为腊样芽孢杆菌(*B. cereus*), A3 为 *Leucobacter aridicollis*, A8 为表皮短杆菌(*Brevibacterium epidermidis*), A21 为缺陷短波单孢菌(*Brevundimonas diminuta*), A22 为水氏黄杆菌(*Flavobacterium mizutaii*)。A5、A6 序列与最相近菌株序列相似度小于 99%,根据生理生化反应推断其可能是类芽孢杆菌(*Paenibacillus*)和 *Altererythrobacter* 属中的潜在新种,值得进一步做鉴定。

2.3 F446 文物和水样细菌对马尾松的腐蚀结果 根据细菌鉴定结果,选取不同类型的 15 株菌进

行细菌对马尾松的腐蚀研究,结果如表 3 所示。同对照组相比较, W4 (*B. idriensis*)、W6 (*Brevibacterium epidermidis*)、W25 (*B. thuringiensis*)、A3 (*Leucobacter aridicollis*)、A6 (*Altererythrobacter atlanticus*)、A8 (*Brevibacterium epidermidis*)、A4 (*Alcaligenes faeaealis*)、A22 (*Flavobacterium mizutaii*)、A24 (*Brevundimonas*)均存在极显著差异。W6 对试验木材的质量损失率最高,为 1.38%。A22 对试验木材质量损失率 0.63%,为最低值。对照组质量损失率为 0.94%,而 A6、A22 质量损失率反而低于对照组。W21 (*Alcaligenes faecalis*)质量损失率相对于对照组差异显著,为 1.23%; W3 (*B. cereus*)、W7 (*Pseudochrobactrum saccharolyticum*)、W8 (*Lysinibacillus sphaericus*)、A5 (*Paenibacillus*)、A11 (*Ochrobactrum*)质量损失率与对照组差异不显著。以上细菌对马尾松木材造成的损失率偏低,腐蚀效果不明显。

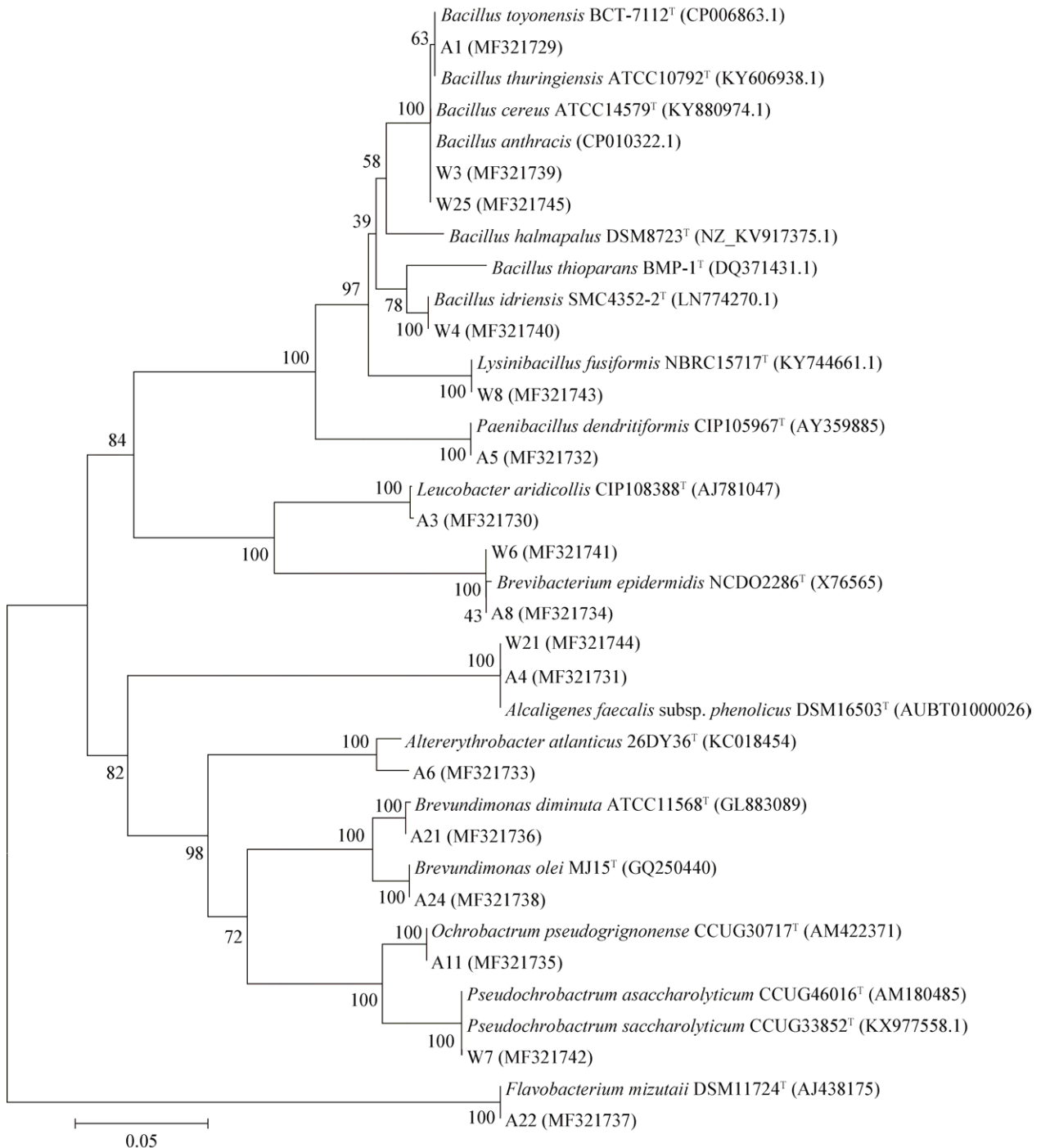


图 1 F446 木质样和水样中典型细菌 16S rRNA 基因序列邻接法分析细菌类群结构

Figure 1 Neighbor-Joining of bacterial community structure based on 16S rRNA gene sequences of the representative bacteria from F446 wood and water samples

注: 括号内为菌株的 16S rRNA 基因序列在 GenBank 中的登录号; 分支点上的数字表示基于邻接法 1 000 次重复取样数据集的 Bootstrap 支持率; 比例尺表示 100 个核苷酸中有 5 个被替换。

Note: The GenBank accession number of each sequence is shown in parentheses. Bootstrap values based on Neighbor-Joining analyses of 1 000 replications are given at nodes; The scale bar represents 0.05 substitutions per nucleotide positions.

表 2 F446 木质样和水样中典型细菌生理生化试验结果
Table 2 The physiological and biochemical results of representative bacteria of F446 wood and water samples

菌株编号 Strain No.	革兰氏染色 Gram stain	明胶液化 Gelatin liquefaction	氧化酶 Oxidase	过氧化氢酶 Catalase	葡萄糖发酵 Glucose ferment	吲哚试验 Indole test	H ₂ S 产生 H ₂ S reaction	V-P 试验 V-P test	甲基红试验 Methyl red test	硝酸盐还原 Nitrate reduction reaction	淀粉水解 Amylolysis
A1	+	-	+	+	-	+	N	-	-	+	+
A3	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-
A4	-	-	N	+	-	-	-	+	+	-	+
A5	+	+	N	+	-	+	+	-	+	+	+
A6	-	+	N	+	-	+	-	-	-	-	+
A8	+	+	N	+	-	-	-	-	-	-	+
A11	-	+	N	+	+	-	-	+	+	+	+
A21	+	+	N	+	+	-	+	-	-	-	+
A22	-	-	N	+	-	-	-	-	-	-	+
A24	+	+	N	+	+	-	-	-	-	+	+
W3	+	+	-	+	+	-	N	+	+	+	+
W4	+	+	-	+	-	-	N	-	-	-	+
W6	+	+	N	+	-	-	-	-	-	-	+
W7	-	N	+	+	+	N	N	N	N	N	N
W8	+	+	+	N	+	N	-	-	-	-	-
W21	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+

注: +: 阳性; -: 阴性; N: 未试验.

Note: +: Positive; -: Negative; N: Untested.

表 3 细菌对试验木材的平均损失率

Table 3 The average loss rate of wood samples attacked by bacteria

菌株 Strains	菌株编号 Strain No.	质量损失率 Mass loss rate (%)
蜡样芽孢杆菌 <i>Bacillus cereus</i>	W3	1.09±0.11
病研所芽孢杆菌 <i>Bacillus idriensis</i>	W4	1.25±0.18**
表皮短杆菌 <i>Brevibacterium epidermidis</i>	W6	1.38±0.14**
解糖假苍白杆菌 <i>Pseudochrobactrum saccharolyticum</i>	W7	1.04±0.12
梭型芽孢杆菌 <i>Lysinibacillus sphaericus</i>	W8	0.90±0.11
粪产碱杆菌 <i>Alcaligenes faecalis</i>	W21	1.23±0.19*
苏云金芽孢杆菌 <i>Bacillus thuringiensis</i>	W25	1.29±0.22**
<i>Leucobacter aridicollis</i>	A3	1.37±0.21**
<i>Altererythrobacter</i>	A6	0.66±0.10**
表皮短杆菌 <i>Brevibacterium epidermidis</i>	A8	1.32±0.11**
粪产碱杆菌亚种 <i>Alcaligenes faecalis</i> subsp. <i>phenolicus</i>	A4	1.31±0.08**
水氏黄杆菌 <i>Flavobacterium mizutaii</i>	A22	0.63±0.13**
类芽孢杆菌 <i>Paenibacillus</i>	A5	1.01±0.09
短波单孢菌属 <i>Brevundimonas</i>	A24	1.32±0.12**
苍白杆菌属 <i>Ochrobactrum</i>	A11	1.09±0.18
阴性对照 Negative control	CK	0.94±0.14

注: *: 差异显著; **: 差异极显著.

Note: *: Significant; **: Very significant.

3 讨论与结论

微生物损害属于木漆器病害中的一种,属于活动性和可诱发性的病害,文物保护修复工程中对这种病害应当提早预防和尽快去除。本研究对引起文物微生物病害的病原体进行分析,以了解木漆器微生物种类和数量,为后续保护修复过程提供参照。对进一步调整和完善原定的文物保护措施,改进所采取的保护技术,具有重要的指导意义。

本课题组从一件饱水保存的出土木漆器文物和水环境中分离筛选出细菌 53 株,根据细菌的生理生化性质及 16S rRNA 基因序列进行分析,发现所有分离菌株分属于 11 个属。从 F446 木质样中分离到的细菌菌株分属于 5 个属,优势菌为芽孢杆菌,各属及菌株数量分别为:芽孢杆菌 20 株,短杆菌 2 株,产碱杆菌 2 株,假苍白杆菌和梭杆菌各 1 株。从水样中分离到的细菌有 9 属,优势菌为短杆菌,依次为:短杆菌属,菌株数量为 9; *Altererythrobacter*, 菌株数量为 5;短波单孢菌属,

菌株数量为 4;产碱杆菌属,菌株数量为 3;黄杆菌属,菌株数量为 2;芽孢杆菌属、无色杆菌属、类芽孢杆菌、苍白杆菌各 1 株。水样中细菌种类比 F446 木质样中丰富,说明水环境比木质样适合更多种类细菌的生长。木质样中优势菌芽孢杆菌的数量远远超过其它细菌,但在水样中的数量极少,可初步推断芽孢杆菌更趋向于在出土饱水木漆器内部生长。汤显春等^[5]对曾侯乙墓穴内微生物种群及其分布进行了研究,认为潮湿的木椁穴内很适合芽孢杆菌的生长繁殖。从木椁内分离到得 16 株细菌,大部分为芽孢杆菌属,此外还有较少的微杆菌属和少量黄色杆菌属。Tiano^[24]也发现与文物腐蚀有关的细菌中,最常见的细菌就有芽孢杆菌和黄杆菌等。Landy 等^[25]分析了来自不同地区、不同年代的 108 份饱水木质文物样品细菌群落结构,同样发现有芽孢杆菌、黄杆菌和短波单孢菌等细菌的存在,表明芽孢杆菌和黄杆菌在饱水木质文物中分布比较广泛。本研究发现在木质样和水样中均

分离到芽孢杆菌属和短波单孢菌属细菌,因此可以说芽孢杆菌、黄杆菌和短波单孢菌在饱水木质文物中具有世界性分布的特点。另外与上述国内外研究结果不同的是,本试验在水样中分离到大量短杆菌、*Altererythrobacter* 以及产碱杆菌等,可能与水样中存放的木质文物树种、出土地点和馆藏环境等因素有关。

据研究,木材在温度 20–30 °C、pH 4.5–7.0、呈饱水状态时,有利于微生物的生长繁殖^[26]。根据食品保质期加速试验可知,提高保藏温度可加速食品腐败变质过程^[27]。本试验选择 37 °C 培养细菌,可使木材的腐蚀速率加快。在细菌回接试验中木材的损失率低,可能与以下几个因素有关:(1) 腐蚀的时间。F446 文物样品来自江陵天星观 1 号楚墓,该墓中的木漆器文物于 1978 年发掘后保存在荆州博物馆地下室,一直处于饱水状态,微生物对木漆器文物的降解经历了一个漫长的过程,而本试验中木材在细菌水溶液中培养的时间是 120 d,与木材自然腐蚀的时间相比很短暂。(2) 检测损失率的方法。质量损失率作为一种宏观的检测指标,在质量损失比较小的情况下难以精确地表示木材损失率。(3) 细菌对木材的降解作用。本试验中分离出的细菌对木材的降解作用比较微弱,可能单一菌种短时间内对木材降解作用较小,以菌群的形式则会对木材产生较大腐蚀。

REFERENCES

- [1] Clausen CA. Bacterial associations with decaying wood: a review[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 1996, 37(1/2): 101-107
- [2] Boutelje JB, Kiessling H. On water-stored oak timber and its decay by fungi and bacteria[J]. *Archiv für Mikrobiologie*, 1964, 49(3): 305-314
- [3] Harmsen L, Nissen TV. Timber decay caused by bacteria[J]. *Nature*, 1965, 206(4981): 319
- [4] Mitchell R, McNamara CJ. Cultural heritage microbiology[J]. *Tijdschrift Voor Filosofie*, 2010, 35(35): 917-920
- [5] Tang XC, Xia KX, Liu HZ, et al. Isolation and identification of microorganism from coffin of Zeng Houyi tomb[J]. *Journal of Microbiology*, 2003, 23(6): 7-10 (in Chinese)
汤显春, 夏克祥, 刘海舟, 等. 曾侯乙墓穴木椁微生物的分离与鉴定[J]. *微生物学杂志*, 2003, 23(6): 7-10
- [6] Feng QP, Ma XJ, Zhang XJ, et al. Studies on microbial factor on color change of Dunhuang mural I. classification of microbes on color-changed mural and property of some typical species[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 1998, 38(1): 52-56 (in Chinese)
冯清平, 马晓军, 张晓君, 等. 敦煌壁画色变中微生物因素的研究 I. 色变壁画的微生物类群及优势菌的检测[J]. *微生物学报*, 1998, 38(1): 52-56
- [7] Feng QP, Zhang XJ, Ma QL, et al. Studies on microbiological factor in colour change of Mogao graffito's mural II: effect of microorganism on the pigment of imitative mural[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 1998, 38(2): 131-136 (in Chinese)
冯清平, 张晓君, 马清林, 等. 敦煌壁画色变中微生物因素的研究 II. 微生物对模拟石窟壁画颜料的影响[J]. *微生物学报*, 1998, 38(2): 131-136
- [8] Feng QP, Zhang XJ, Ma XJ, et al. Studies on microbial factor on color change of Dunhuang mural III: Effect of *Cladosporium* sp. on color-change of red lead in the surface of mural[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 1998, 38(5): 365-370 (in Chinese)
冯清平, 张晓君, 马晓军, 等. 敦煌壁画色变中微生物因素的研究 III. 枝孢霉在石窟壁画铅丹变色中的作用[J]. *微生物学报*, 1998, 38(5): 365-370
- [9] Ge QY, Li ZM, Sun YZ, et al. Application of molecular biological techniques in identifying pathogenic microbes on mural paintings[J]. *Sciences of Conservation and Archaeology*, 2012, 24(2): 14-21 (in Chinese)
葛琴雅, 李哲敏, 孙延忠, 等. 壁画菌害主要种群之分子生物学技术检测[J]. *文物保护与考古科学*, 2012, 24(2): 14-21
- [10] Xu RL. Research on bacteria causing damage in water-saturated archaeological wood and their identification[J]. *Sciences of Conservation and Archaeology*, 2013, 25(3): 104-110 (in Chinese)
徐润林. 饱水木质文物的细菌病害及其诊断技术的进展[J]. *文物保护与考古科学*, 2013, 25(3): 104-110
- [11] Harmsen L, Nissen TV. Der bakterienangriff auf holz[J]. *Holz als Roh-und Werkstoff*, 1965, 23(10): 389-393
- [12] Boutelje JB, Bravery AF. Observations on the bacterial attack of piles supporting a Stockholm building[J]. *Journal of the Institute of Wood Science*, 1968(20): 47-57
- [13] Jordan BA. Site characteristics impacting the survival of historic waterlogged wood: a review[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2001, 47(1): 47-54
- [14] Chen JC, Huang X, Chen XL, et al. Corrosion type and conservation of archaeological waterlogged wood[J]. *Materials Review*, 2015, 29(11): 96-101,128 (in Chinese)
陈家昌, 黄霞, 陈晓琳, 等. 出土饱水木质文物的腐蚀病害类型与保护研究进展[J]. *材料导报*, 2015, 29(11): 96-101,128
- [15] Fan XD, Lei Q, Qiu ZM, et al. Investigation of microbial species and quantity of waterlogged wood and lacquer excavated from ancient Chu Tomb No. 1 at Tianxingguan in Jingzhou[J]. *Journal of Yangtze University (Natural Science Edition)*, 2015, 12(15): 51-53 (in Chinese)
范晓丹, 雷琼, 邱祖明, 等. 江陵天星观一号楚墓出土饱水木漆器微生物种类及数量调查[J]. *长江大学学报: 自然科学*

- 版, 2015, 12(15): 51-53
- [16] Zhou M, Liu XY, Fu Y. A study on the standard method for testing natural decay resistance of wood in laboratory[J]. China Wood Industry, 1991, 5(2): 29-32,53 (in Chinese)
周明, 刘秀英, 富岩. 木材天然耐腐性室内试验标准方法的研究[J]. 木材工业, 1991, 5(2): 29-32,53
- [17] Feng GD, Chen MB, Yang SZ, et al. A comparative study on bacteria DNA extraction methods used for PCR amplification[J]. Journal of South China Agricultural University, 2013, 34(3): 439-442 (in Chinese)
冯广达, 陈美标, 羊宋贞, 等. 用于 PCR 扩增的细菌 DNA 提取方法比较[J]. 华南农业大学学报, 2013, 34(3): 439-442
- [18] Zhao B, He SJ. Experiment of Microbiology[M]. Beijing: Science Press, 2002: 210-234 (in Chinese)
赵斌, 何绍江. 微生物学实验[M]. 北京: 科学出版社, 2002: 210-234
- [19] Dong XZ, Cai MY. In Manual for the Systematic Identification of General Bacteria[M]. Beijing: Science Press, 2001: 267-295 (in Chinese)
东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 267-295
- [20] The Chinese Academy of Forestry Science Research Institute of Wood Industry, Forestry Science Research Institute of Guangdong Province. GB/T 13942.1-2009 Durability of wood-part 1: Method for laboratory test of natural decay resistance[S]. Beijing: China Standard Press, 2009 (in Chinese)
中国林业科学研究院木材工业研究所, 广东省林业科学研究院. GB/T 13942.1-2009 木材耐久性能 第 1 部分: 天然耐腐性实验室试验方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009
- [21] The Chinese Academy of Forestry Science Research Institute of Wood Industry, Northeast Forestry University. GB/T 1931-2009 method for determination of the moisture content of wood[S]. Beijing: China Standard Press, 2009 (in Chinese)
中国林业科学研究院木材工业研究所, 东北林业大学. GB/T 1931-2009 木材含水率测定方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009
- [22] Ma XX, Yang Z, Jiang ML, et al. Revision of laboratory test method of wood natural decay resistance for national standard[J]. China Wood Industry, 2009, 23(3): 34-36 (in Chinese)
马星霞, 杨忠, 蒋明亮, 等. 《木材天然耐腐性实验室试验方法》的修订研究[J]. 木材工业, 2009, 23(3): 34-36
- [23] Tang XC, Xia KX, Liu HZ, et al. Study on danger and control of microorganism degradation to coffin wood in Zeng Houyi Tomb[J]. Journal of Microbiology, 2003, 23(6): 20-22 (in Chinese)
汤显春, 夏克祥, 刘海舟, 等. 曾侯乙墓穴木椁微生物降解对木材危害及防治措施研究[J]. 微生物学杂志, 2003, 23(6): 20-22
- [24] Tiano P. Biodegradation of cultural heritage: decay mechanisms and control methods[R]. Lisbon: University of Lisbon, 2001
- [25] Landy ET, Mitchell JI, Hotchkiss S, et al. Bacterial diversity associated with archaeological waterlogged wood: ribosomal RNA clone libraries and denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE)[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2008, 61(1): 106-116
- [26] Blanchette RA. A review of microbial deterioration found in archaeological wood from different environments[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2000, 46(3): 189-204
- [27] Deng LQ. Sterile rice grains to facilitate process optimization and shelf-life testing[J]. Cereals & Oils, 2014, 27(5): 58-60 (in Chinese)
邓莉琼. 无菌杂粮方便米饭工艺优化及保质期测试[J]. 粮食与油脂, 2014, 27(5): 58-60