

DOI: 10.11835/j.issn.2096-6717.2025.097



开放科学(资源服务)标识码 OSID:



大足石刻千手观音金箔表面微生物群落结构及优势种鉴定

蒋思维¹, 杨豪², 贺婧², 冯雪梅¹, 王伟², 赵岗¹, 郭劲松²

(1. 大足石刻研究院, 重庆 402360; 2. 重庆大学环境与生态学院, 重庆 400045)

摘要:大足石刻千手观音集石雕、彩绘、贴金于一体,是中国现存最大、最完整的千手观音摩崖造像。近年来的持续跟踪监测发现,造像表面金箔出现了变色、开裂、脱落等劣化现象,现有研究主要关注环境理化因素和材料特性对金箔腐蚀的影响,却忽略了微生物的影响。通过无菌拭子采样并结合16S rRNA和内转录间隔区(internal transcribed spacers, ITS)高通量测序技术,系统解析金箔表面微生物群落结构。结果表明,细菌群落以厚壁菌门(Firmicutes)、放线菌门(Actinobacteriota)和变形菌门(Proteobacteria)为主,以盐球菌属(*Salinisphaera*)和假诺卡氏菌属(*Pseudonocardia*)为核心优势属。而真菌群落则以子囊菌门(Ascomycota)和毛霉门(Mucoromycota)为优势门,优势属包括曲霉属(*Aspergillus*)、丝孢酵母属(*Filobasidium*)以及毛霉属(*Mucor*)。进一步采用选择性培养基进行分离培养,并结合菌斑形态观察和ITS序列比对,成功鉴定出两株优势真菌菌株:杂色曲霉属(*Aspergillus versicolor*)与易脆毛霉菌(*Mucor fragilis*)。结合微生物代谢特征研究文献,推测上述菌株可能通过物理、化学及生物电化学机制协同参与对金箔的腐蚀。

关键词:大足石刻;千手观音;真菌;群落结构;优势种

中图分类号:TU-87 文献标志码:A 文章编号:2096-6717(2026)01-0221-10

Characterization of surface microbial community structure and identification of dominant species on the Dazu Thousand-handed and Thousand-eyed Avalokitesvara

JIANG Siwei¹, YANG Hao², HE Qiang², FENG Xuemei¹, WANG Wei²,
ZHAO Gang¹, GUO Jinsong²

(1. Dazu Engraving Research Institute, Chongqing 402360, P. R. China; 2. College of Environment and Ecology, Chongqing University, Chongqing 400045, P. R. China)

Abstract: The Dazu Thousand-handed and Thousand-eyed Avalokitesvara is regarded as the largest and most

收稿日期:2025-07-21

基金项目:国家文物保护专项资金(文物保函[2011]262号);重庆市技术创新与应用发展专项(CSTB2022TIAD-KPX0095)

作者简介:蒋思维(1968-),男,研究馆员,主要从事石窟寺类文化遗产保护研究,E-mail:1240071816@qq.com.

郭劲松(通信作者),男,教授,博士生导师,E-mail:guo0768@cqu.edu.cn.

Received: 2025-07-21

Foundation items: National Special Funds for Cultural Heritage Conservation (Letter on Cultural Heritage Conservation [2011] No. 262); Special Key Project of Chongqing Technology Innovation and Application Development (No. CSTB2022TIAD-KPX0095)

Author brief: JIANG Siwei (1968-), research fellow of museum, main research interest: protection of grotto temples, E-mail: 1240071816@qq.com.

GUO Jinsong (corresponding author), professor, doctoral supervisor, E-mail: guo0768@cqu.edu.cn.

completely preserved cliff carving of its kind in China. It is a remarkable integration of rock carving, polychromy, and gold foil application, and is regarded as the largest and most completely preserved Thousand-handed Avalokitesvara cliff carving extant in China. Recent continuous monitoring has revealed evident deterioration of the gold foil surface, primarily manifested as discolouration, cracking, and loss of the foil. A plethora of studies have examined the influence of environmental physicochemical factors and material characteristics on the corrosion of gold foil, however, the influence of microorganisms has received limited attention. The present study was conducted for the purpose of systematic characterisation of the microbial communities colonizing the gold foil surface using sterile swab sampling followed by high-throughput sequencing technology of the 16S rRNA gene and the Internal Transcribed Spacer (ITS). The results showed that bacterial communities were dominated by Firmicutes, Actinobacteriota and Proteobacteria at the phylum level, with *Salinisphaera* and *Pseudonocardia* identified as the core dominant genera. Fungal communities were primarily composed of Ascomycota and Mucoromycota, exhibiting dominance of *Aspergillus*, *Filobasidium*, and *Mucor*. Two dominant fungal strains (*Aspergillus versicolor* and *Mucor fragilis*) were successfully identified through selective media isolation, combined with colonial morphology observation and ITS sequence analysis. Based on the existing literature on microbial metabolism, these strains are hypothesized to facilitate gold foil corrosion via synergistic physical, chemical, and bioelectrochemical mechanisms.

Keywords: Dazu rock carvings; Thousand-handed Avalokitesvara; fungi; community structure; dominant species

大足石刻位于重庆市大足区,其造像始于唐,盛于南宋,以佛教题材为主,融合儒道思想,代表了中国古代晚期石窟艺术的最高成就,并于1999年被列入《世界遗产名录》^[1-3]。作为核心造像,宝顶山千手观音融合了雕刻、贴金与彩绘工艺,堪称中国石窟艺术的巅峰之作,具有极高的宗教、艺术与历史价值。千手观音造像贴金不仅是艺术和宗教精神展示的需要,也是造像保护的重要措施。然而,在历经自然侵蚀与人为干扰下,金箔表面常出现变色、开裂、脱落等病害,严重影响了造像的外观形象和价值,对文物本体安全也构成威胁^[4]。

现有研究多集中于温湿度波动、酸碱物质和污染物等环境理化因子对金箔腐蚀的影响。温湿度的剧烈变化会引起材料膨胀与收缩,导致内应力积累和金属疲劳,从而形成裂纹,为腐蚀反应提供通道^[5]。酸性气体(如SO₂和H₂S等)可与金箔中所含铜元素反应,生成铜的硫化物等腐蚀产物,导致金箔表面变色^[6]。同时,香火烟气中含有的有机酸(如柠檬酸)通过络合作用破坏金属晶格结构,加速氧化和腐蚀^[7-8]。环境中的多类污染物同样也会加速金箔腐蚀。如Krapf等^[9]发现,基底材料析出的盐分(硫酸钠、氯化钙)随凝结水渗入金箔层,结晶膨胀产生的张力可撕裂金箔结构。此外,贴金工艺若存在残留或处理不当(如基底氧化层未彻底清理、底漆和黏结剂老化)及贴金工艺参数控制不当会削弱附着力,造成漆层整体脱落并引发金箔开裂^[10-11]。紫外线照射等外部因素也会加速金箔的老化和脱

落^[12]。已有研究为理解理化因子引起的金箔腐蚀提供了重要参考,但金箔表面微生物引起的腐蚀问题却长期被忽略。实地调查发现,千手观音造像表面常有昆虫和小动物留下的残骸和粪便,加上凝结水的存在,共同为微生物的滋生和定殖创造了有利条件^[13-14]。值得注意的是,真菌对金属材料的腐蚀能力强于细菌^[15]。因此,探明造像表面微生物群落结构,特别是真菌及其优势菌株,对深入研究金箔表面微生物腐蚀机理具有重要意义。

针对上述问题,笔者对千手观音造像金箔表面的微生物菌斑开展系统性采样,并利用高通量测序技术对菌斑中的整体微生物群落结构进行解析。在此基础上,采用稀释涂布及划线法,从菌斑中成功分离出两株纯种霉菌。通过对这两株霉菌分别进行菌斑形态观察、微观形态观察及内转录间隔区(internal transcribed spacers, ITS)序列分析,对其进行物种鉴定。

1 试验材料与方法

1.1 微生物样品采集

微生物样品采集于重庆市大足区宝顶山千手观音殿内(105°48′00″E, 29°45′36″N)。在千手观音造像膝部下方平台金箔表面存在菌斑的区域设置左、中、右3个采样点(Sample 1、Sample 2、Sample 3),具体位置如图1所示。采样过程中,使用无菌拭子在采样点位轻柔擦拭,以获取金箔表面菌斑微生物样品。将带有菌斑的拭子放入拭子管中,标注样品

编号及采样时间,再装入无菌密封袋中,置于冰盒内,带回实验室,并于 -20°C 冷冻保存备用。



图 1 大足石刻千手观音表面采样点

Fig. 1 Sampling points on the surface of Thousand-handed and Thousand-eyed Avalokitesvara at the Dazu rock carvings

1.2 真菌培养基的选用与配制

使用 3 种培养基进行真菌的分离和培养。沙氏葡萄糖琼脂培养基(Sabouraud Dextrose Agar, SDA)用于真菌的分离和纯化,其组成为葡萄糖 40.0 g、琼脂 15.0 g、蛋白胨 10.0 g、氯霉素 0.10 g,加超纯水至 1 000 mL,115 $^{\circ}\text{C}$ 高压灭菌 30 min 后备用^[16]。依据《中国真菌志》第五卷,毛霉属(*Mucor*)菌株的培养使用马铃薯葡萄糖琼脂培养基(Potato Dextrose Agar, PDA)^[17],其制备方法为:将新鲜去皮的马铃薯磨成碎块,精确称取 200 g,加 1 000 mL 超纯水煮沸 20 min,使用无菌纱布过滤,在滤液中加入琼脂 20.0 g、葡萄糖 20.0 g、氯霉素 0.10 g,并加超纯水补充体积至 1 000 mL,而后经 115 $^{\circ}\text{C}$ 高压灭菌 30 min^[16]。曲霉属(*Aspergillus*)菌株的培养使用查氏琼脂培养基(Czapek Agar, CZA),其组成为琼脂 15.0 g、蔗糖 30.0 g、硝酸钠 3.0 g、磷酸氢二钾 1.0 g 以及七水硫酸镁、七水硫酸亚铁和氯化钾各 0.50 g,加超纯水至 1 000 mL,经 120 $^{\circ}\text{C}$ 高压灭菌 20 min 后备用^[18]。

1.3 微生物高通量测序

采用高通量测序技术分析造像金箔表面微生物(包括真菌和细菌)群落结构,具体步骤为:首先,采用 Power Soil DNA Kit (Mo Bio Laboratories, USA)从采集的菌斑样品中提取总基因组 DNA,所提取的 DNA 包含真菌和细菌的遗传信息。随后,使用 ND-1000 光度仪对 DNA 浓度进行测定。样品于 -20°C 保存并送美吉生物科技有限公司(上海),对提取的 DNA 样品进行高通量测序。PCR 扩增体系使用 20 μL 的 TransGen AP221-02 (TransStart FastPfu DNA Polymerase)进行,反应参数为:预变性 95 $^{\circ}\text{C}$, 3 min;变性 95 $^{\circ}\text{C}$, 30 s;退火 30 s;延伸 72 $^{\circ}\text{C}$, 45 s;终延伸 72 $^{\circ}\text{C}$, 10 min;保温 10 $^{\circ}\text{C}$,直至终

止。细菌 16S rRNA 采用 341F/805R 测序引物 (ACTCCTACGGGAGGCAGCAG/GGACTACH VGGGTWCTAAT)进行 PCR 扩增^[19],真菌采用 ITS1F/ITS2R 引物 (CTTGGTCATTTAGAGG AAGTAA/GCTGCGTTCTTCATCGATGC)进行 PCR 扩增^[20]。3 个 DNA 样本中 Sample 1 和 Sample 2 分别都检出细菌和真菌,Sample 3 仅检出真菌,可能是由于 Sample 3 采样区域细菌生物量极低,且受 DNA 提取效率及测序检测限的综合影响所致,后续结果中仅呈现测序分析检出的结果。

对测序得到的原始结果数据进行样本拆分后,根据测序质量对双端 Reads 进行质控和过滤,同时根据双端 Reads 之间的 overlap 关系进行拼接,获得质控拼接之后的优化数据。然后使用序列降噪方法 (DADA2/Deblur 等)处理数据,获得 ASV (amplicon sequence variant)代表序列和丰度信息。基于 ASV 代表序列及丰度信息进行物种分类学、群落多样性等一系列统计学或可视化分析。

1.4 霉菌的分离、纯化及保种

在无菌操作条件下,将采集了金箔表面菌斑的拭子棉签头剪下,转移至装有 SDA 培养基的锥形瓶中,于 25 $^{\circ}\text{C}$ 、100 r/min 的恒温摇床中培养 4 d。培养结束后,取 1.0 mL 菌液,加入到 9.0 mL 无菌试管中,用无菌超纯水按 $10^{-1}\sim 10^{-5}$ 梯度进行稀释,得到 5 组不同稀释度的菌液。取各稀释度菌液 200 μL ,分别均匀涂抹于已编号的 SDA 琼脂平板,倒置于 25 $^{\circ}\text{C}$ 霉菌培养箱中培养 3 d。待菌斑生长充分后,挑选菌斑分散且色泽、形态多样的平板,采用无菌接种环在新 SDA 琼脂平板上进行划线分离,直至获得纯种霉菌。最终,将纯化得到的霉菌于 -80°C 冷冻保存,用于后续菌株鉴定。

1.5 霉菌种类的鉴定

将分离纯化的霉菌接种于 SDA 培养基中,在 25 $^{\circ}\text{C}$ 霉菌培养箱内培养 7 d。培养结束后送至上海美吉生物科技有限公司,进行测序分析。测序采用真菌引物 ITS1F (CTTGGTCATTTAGAGGAA GTAA) 和 ITS2R (GCTGCGTTCTTCATCGA TGC)进行扩增。PCR 扩增体系总量为 20 μL ,包含 2.0 μL 10 \times Buffer、0.2 μL rTaq Polymerase、2.0 μL 2.5 mmol/L dNTPs、0.2 μL 牛血清蛋白、0.8 μL 5 $\mu\text{mol/L}$ ITS1F 引物、10 ng DNA 模板量、0.8 μL 5 $\mu\text{mol/L}$ ITS2R 引物,并用双蒸水补足至 20 μL 。霉菌鉴定采用分子生物学结合形态学进行^[21],具体鉴定方法为:通过比对 PCR 扩增所得的 ITS 序列与真菌 ITS 数据库 UNITE (Release 6.0, <http://unite.ut.ee/index.php>)中的序列,初步判定菌属,再结合

菌斑形态学特征与《中国真菌志》第五卷中的对比结果^[16],明确菌株的种类。

1.6 霉菌孢子形貌结构观察

选取产孢期的真菌菌丝样本,依次经 2.5% 戊二醛预固定、1% 四氧化锇后固定,再进行乙醇梯度脱水。Spurr 树脂包埋脱水后的样品。将样品切取为 60~80 nm 的超薄切片,经醋酸双氧铀和柠檬酸铅双重染色处理、透射电子显微镜进行形貌结构观察,获取产孢结构和孢子的超微形貌图像,用于分析其形态特征。

2 结果与讨论

2.1 造像金箔表面细菌群落结构分析

表 1 为造像表面细菌多样性指数,Chao 指数表明物种丰富度接近,物种库规模相当,Shannon 指数和 Simpson 指数表明 Sample 2 物种多样性更高,物种分布更均匀,优势种垄断性更弱。Coverage 均为 1,说明测序覆盖度饱和,数据可代表群落组成。

表 1 造像表面细菌多样性指数
Table 1 Index of bacterial diversity on the surface of statues

采样点	Chao	Shannon	Simpson	Coverage
Sample 1	480	3.431 091	0.111 407	1
Sample 2	475	4.332 637	0.033 155	1

造像金箔表面高通量测序能检出的两个采样点 Sample 1、Sample 2 细菌群落结构如图 2 所示,其细菌群落在门水平和属水平显示出特定的组成特征。由图 2(a)可知,细菌共鉴定出 6 个优势门,以变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteriota)、厚壁菌门(Firmicutes)、拟杆菌门(Bacteroidota)、绿弯菌门(Chloroflexi)和芽单胞菌门(Gemmatimonadota)为主。细菌共识别出 25 个优势属(图 2(b)),主要涵盖盐球菌属(*Salinisphaera*)、假诺卡氏菌属(*Pseudonocardia*)、未分类-黄杆菌目(unclassified-f-Flavobacteriaceae)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、枝芽孢杆菌属(*Virgibacillus*)、未分类-芽孢杆菌目(unclassified-o-Bacillales)、红球菌属(*Rhodococcus*)、溶杆菌属(*Lysobacter*)、放线菌属(*Actinomycetospora*)、嗜盐单胞菌属(*Halomonas*)等。由于 Sample 1 和 Sample 2 分别来自造像膝部不同的位置,造成了门、属水平丰度的差异。对于门水平,Sample 1 中的变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)相对丰度分别为 49.55%、39.65%,比 Sample 2 高 25.32% 和 38.23%。而 Sample 2 中的放线菌门(Actinobacteriota)、拟杆菌门(Bacteroidota)、绿弯菌门(Chloroflexi)相对丰度分别为 44.51%、14.67% 及 11.69%,明显高于 Sample 1。在属水平上,Sample 1 中相对丰度较高的盐球菌属(*Salinisphaera*)为 44.34%、芽孢杆菌

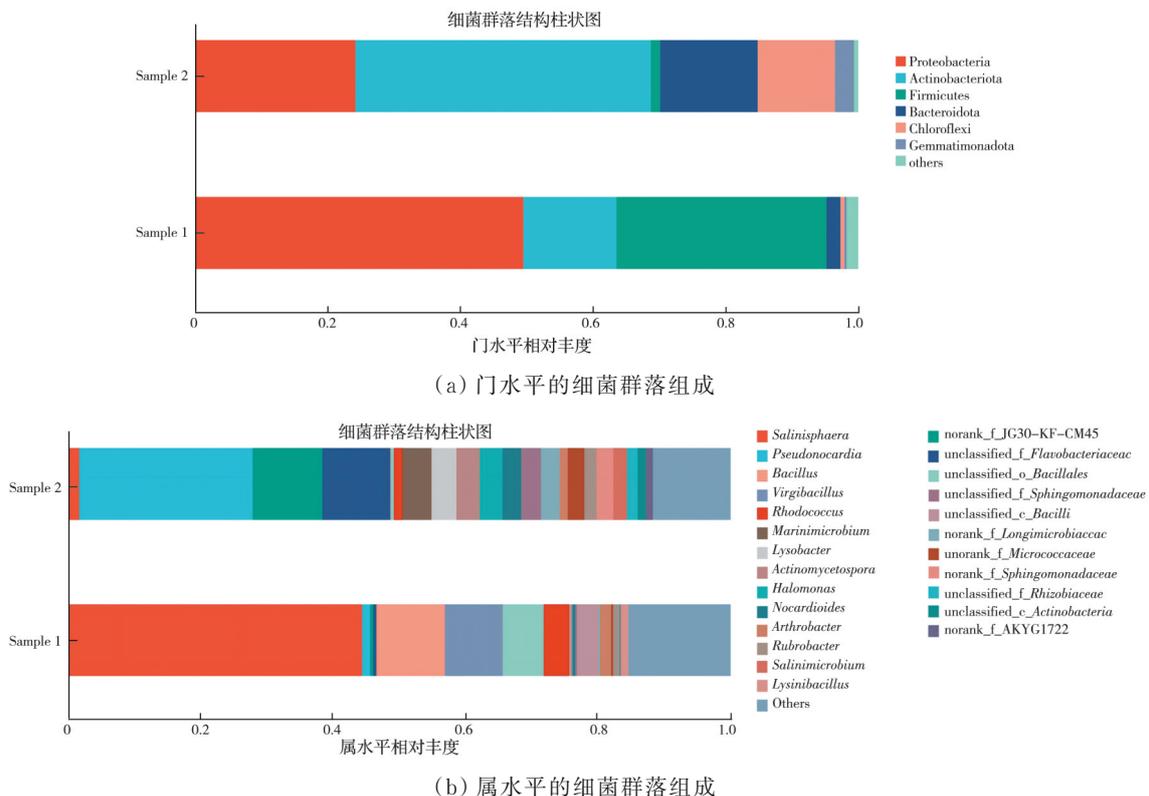


图 2 造像金箔表面细菌群落的组成

Fig. 2 Bacterial community composition on the gold foil surface of the statue

属(*Bacillus*)为 10.31%,显著高于 Sample 2,但假诺卡氏菌属(*Pseudonocardia*)为 1.19%、未分类-黄杆菌目(unclassified-f-Flavobacteriacea)为 0.52%,分别比 Sample 2 低 25% 和 9.73%。

2.2 造像金箔表面真菌群落结构分析

表 2 为造像表面真菌多样性指数。由表 2 可知,3 个样品的 Coverage 均为 1,表明测序覆盖度已达饱和,数据能真实反映群落组成。Chao 指数说明 Sample 2 真菌物种库最丰富,后两个物种丰富度较低;Shannon 指数、Simpson 指数综合表明 Sample 2 真菌群落丰富且均匀,多样性最优。因物种少且优势种垄断性强,导致 Sample 1 多样性最差,Sample 3 虽物种稀缺,但分布更均匀。

表 2 造像表面真菌多样性指数

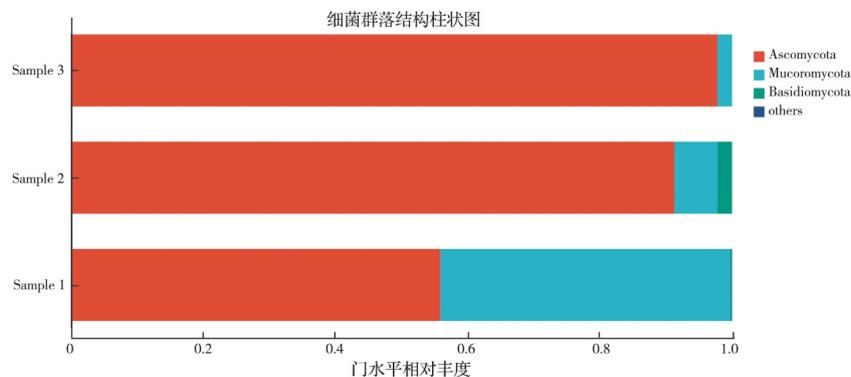
Table 2 Index of fungal diversity on the surface of statues

采样点	Chao	Shannon	Simpson	Coverage
Sample 1	52	1.053 174	0.440 861	1
Sample 2	164	2.353 777	0.347 009	1
Sample 3	45	2.060 809	0.218 583	1

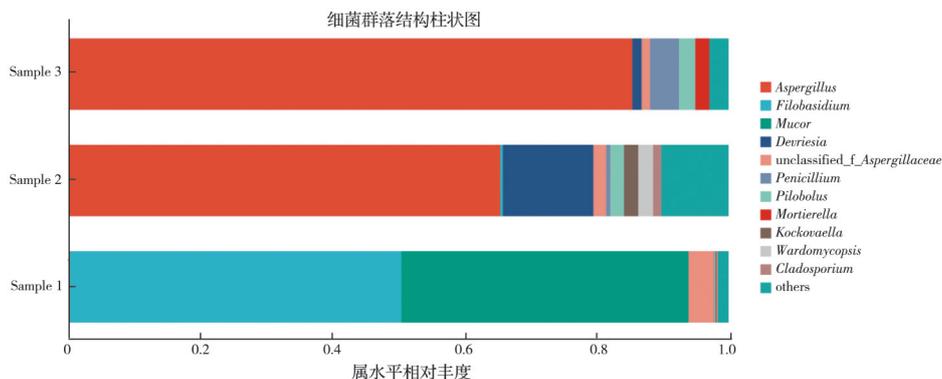
造像金箔表面真菌群落结构分析显示,门水平主要由子囊菌门(Ascomycota)、毛霉门(Mucoromycota)和担子菌门(Basidiomycota)构成(图 3(a))。

由图 3 可知,Sample 1、Sample 2、Sample 3 中子囊菌门(Ascomycota)相对丰度依次升高,分别为 55.90%、91.26%、97.79%。而毛霉门(Mucoromycota)相对丰度却逐渐降低,分别为 43.88%、2.16%和 2.21%,可能是由于不同取样点的微环境异质性所致。作为真菌最大的门类之一,子囊菌门(Ascomycota)在金属微生物腐蚀中扮演着重要角色^[21]。该类真菌能分泌多种有机酸(如草酸、柠檬酸、延胡索酸),溶解金属表面的氧化物保护层,引起局部酸解反应。同时,附着形成的生物膜会改变金属表面微环境,形成氧浓差电池,维持潮湿环境,促进电化学腐蚀^[22-23]。此外,子囊菌门(Ascomycota)真菌还能与其他微生物产生协同效应,加剧腐蚀^[24-27]。Anusha 等^[28]研究发现,囊菌通过消耗氧气为硫酸盐还原细菌(SRB)创造厌氧条件,两者共生,形成生物膜,协同增强腐蚀效率。尽管毛霉门(Mucoromycota)同样具有产酸、形成生物膜和氧浓差电池等特性,能促进金属腐蚀进程^[29],但其代谢产物单一(以草酸为主),腐蚀强度较弱。

真菌群落共包含 11 个属,主要有曲霉属(*Aspergillus*)、丝孢酵母属(*Filobasidium*)、毛霉属(*Mucor*)、德福里斯孢属(*Devriesia*)、未分类-曲霉科(unclassified-f-Aspergillaceae)、青霉属(*Penicillium*)、



(a) 门水平的真菌群落组成



(b) 属水平的真菌群落组成

图 3 造像金箔表面真菌群落的组成

Fig. 3 Fungal community composition on the gold foil surface of the statue

水玉霉属(*Pilobolus*)、小被孢霉菌属(*Mortierella*)等。其中, Sample 1 中主要菌属为丝孢酵母属(*Filobasidium*)、毛霉属(*Mucor*)相对丰度最高,分别为 50.18% 和 43.41%, 而 Sample 1 中曲霉属(*Aspergillus*)相对丰度却比 Sample 2、Sample 3 分别低 65.34%、85.3%。Sample 2 中的德福里斯孢属(*Devriesia*)相对丰度为 13.70%, 在 3 个样品中最高。曲霉属(*Aspergillus*)和毛霉属(*Mucor*)分别属于门水平丰度高的子囊菌门(Ascomycota)和毛霉门(Mucoromycota), 而丝孢酵母属(*Filobasidium*)则属于担子菌门(Basidiomycota)。已有研究表明, 曲霉属(*Aspergillus*)与毛霉属(*Mucor*)对金属的腐蚀效应存在显著差异。曲霉属(*Aspergillus*) (如棘孢曲霉菌 *Aspergillus spinospora*) 容易在金属表面形成点蚀, 通过引起 pH 值变化来加速铝合金的溶解^[30-31]。而毛霉属(*Aspergillus*)的生物膜结构疏松, 对复杂的合金材料侵蚀能力较弱。

2.3 造像金箔表面优势霉菌的鉴定与分析

从千手观音造像金箔表面采集的真菌样本中成功分离纯化出两株优势霉菌。A1 菌株形成边缘规整、形态近似圆形的菌斑(见图 4(a)), 而 A2 菌株呈现出蔓延的菌丝生长特征, 菌斑覆盖范围广(见图 4(b))。由于 ITS 序列存在于真菌核糖体(rDNA)中, 位于 18S、5.8S 和 28S rRNA 基因之间的非编码间隔区, 包含 ITS1 和 ITS2 区域, 常作为真

菌分子鉴定的重要指标^[32]。对 A1 和 A2 菌株的 ITS 序列进行 PCR 扩增, 凝胶电泳检测, 结果均呈现单一、清晰的条带, 均大于 250 bp(图 4(c)), 符合典型真菌 ITS 片段的特征。通过将 ITS 序列与 UNITE 真菌数据库进行比对(见图 4(d)、(e)), 初步确定 A1 菌株归属于曲霉属(*Aspergillus*), 具体种类需结合形态学特征进行进一步分析。A2 菌株则鉴定为毛霉属(*Aspergillus*)中的易脆毛霉(*Mucor fragilis*)。由图 5 所示系统进化树也可知, *Mucor fragilis* 呈独立分支, 与右侧 *Cutaneotrichosporon*、*Apiotrichum montevidense* 等亲缘疏远。

为了鉴定曲霉 A1(*unclassified_Asp*)菌株的种, 将其接种在查氏琼脂培养基上, 于 25 °C 霉菌培养箱中培养观察。培养 7 d 后, 菌斑呈白色丝绒状, 直径为 15 mm, 中央略微凹陷(图 6(a))。培养至 14 d 后, 菌斑直径增加到约 30 mm, 颜色转为淡黄褐色, 表面呈现辐射状沟纹并伴有滴液渗出, 菌斑背面为褐色, 其分泌的色素渗入下方琼脂培养基内部(见图 6(b))。对 A1 菌株的产孢结构和孢子形态进行场发射电子透射显微镜观察(图 6(c)、(d))发现, 产孢结构为双层, 梗基尺寸约 6 μm × 3 μm, 瓶梗尺寸约 6 μm × 1.5 μm。分生孢子头呈辐射状分布, 顶囊形态为略伸长的椭圆球形, 直径约 9 μm, 表面可育区域约 75%。孢子呈球形或近球形, 直径为 2~3.5 μm, 表面粗糙并有小刺。根据上述形态

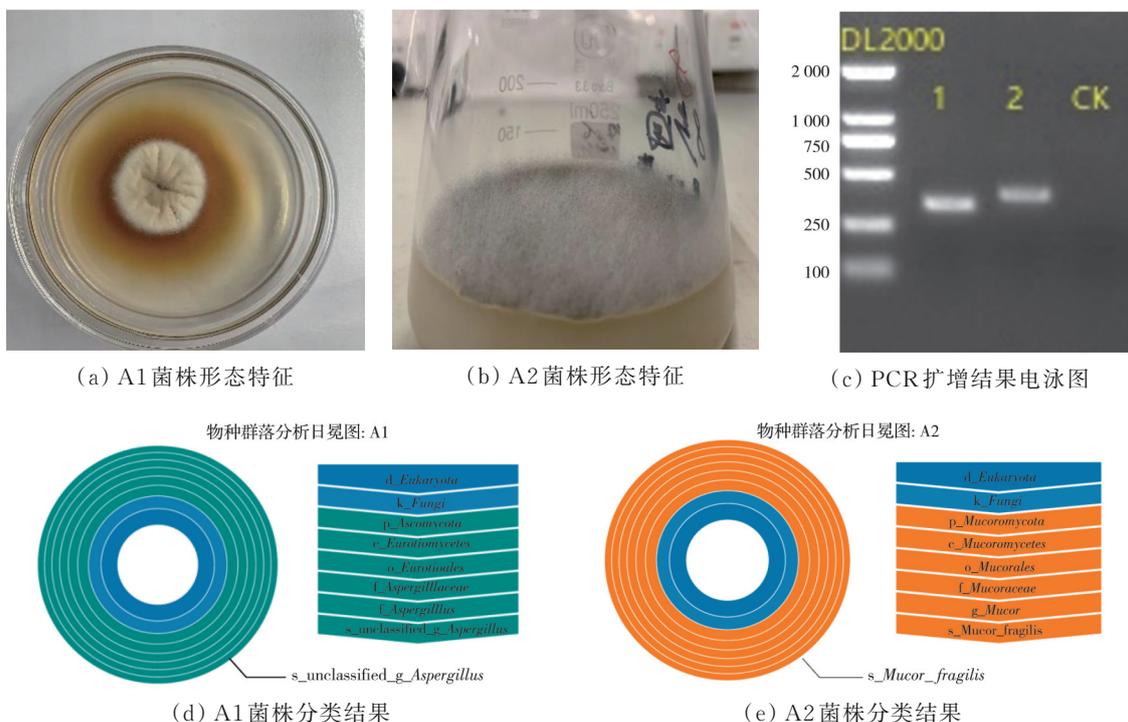


图 4 造像金箔表面分离的两株优势霉菌形态特征及分类结果

Fig. 4 Morphological characteristics and species identification results of two dominant mold strains isolated from the gold foil surface of the statue

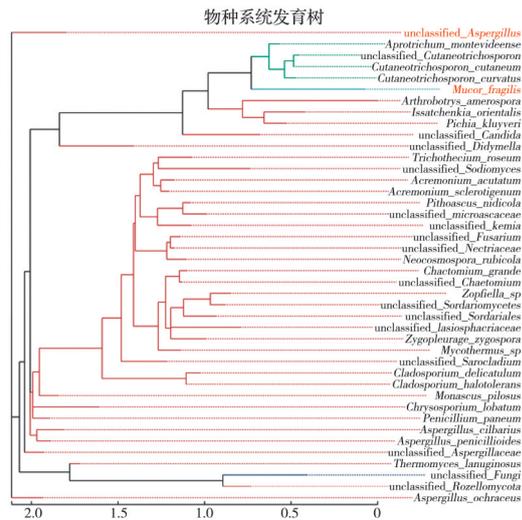


图 5 易脆毛霉和未分类的曲霉系统发育进化树

Fig. 5 Phylogenetic tree of *Mucor fragilis* and unclassified *Aspergillus*

学描述,结合发育树中未分类曲霉(*unclassified Aspergillus*)与赭曲霉(*Aspergillus ochraceus*)曲霉属物种的亲缘紧密,属于囊菌门(Ascomycota)→散囊菌目(Eurotiales)→曲霉属(*Aspergillus*)。最终将 A1 菌株鉴定为杂色曲霉菌(*Aspergillus versicolor*)。

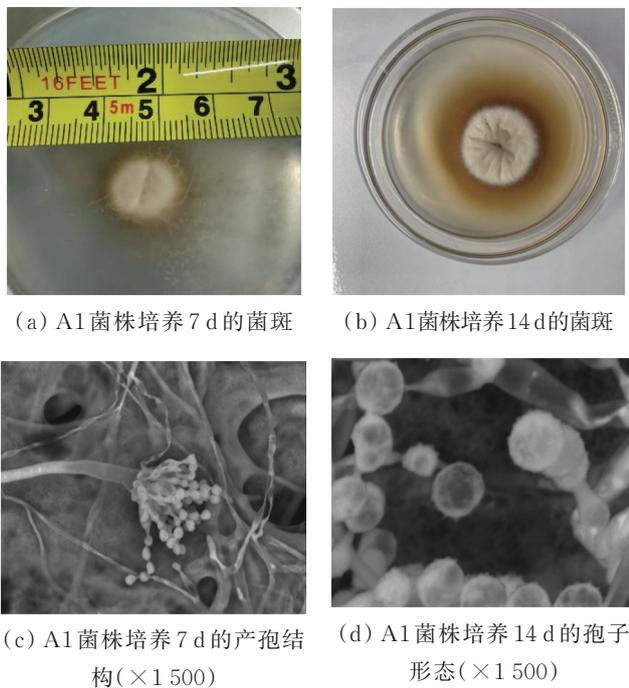


图 6 曲霉 A1 菌株在培养过程中的菌斑、产孢结构、孢子形态

Fig. 6 Colony morphology, sporulation structures and spore morphology of *Aspergillus* sp. A1 strain during the cultivation process

2.4 微生物对金箔腐蚀的初步讨论

2.4.1 优势细菌对金箔的腐蚀

盐球菌属(*Salinisphaera*)为造像表面丰度最高

的菌属,其对金箔的腐蚀可能是生物膜介导的化学与电化学协同腐蚀的结果。其代谢产生的胞外聚合物(EPS)含有羧基(-COOH)和羟基(-OH),两种基团可通过强配位能力与金箔中的合金元素(如 Cu^{2+})形成稳定络合物,直接破坏金属晶格并加速离子溶出^[33-35]。此外,菌体分泌的草酸与螯合金属离子结合,形成可溶性草酸盐复合物,促进阳极去钝化,同时,生物膜的物理屏障作用导致表面氧扩散梯度差异,诱发局部电化学腐蚀^[36-37]。最后,菌体在微裂隙内的定殖则施加了机械应力,扩大了腐蚀损伤。

假诺卡氏菌属(*Pseudonocardia*)在造像表面也属于丰度相对较高的菌属,其腐蚀可能是通过生物膜介导的界面破坏与次生代谢产物的化学损伤实现。该菌在潮湿环境中易形成致密生物膜,分泌的胞外多糖与蛋白质可吸附环境中的硫化物、氮氧化物等污染物,并通过代谢将其转化为腐蚀性物质^[38-40];在缺氧微环境下或通过硫酸盐还原产生 H_2S ,与金反应生成黑色硫化金(Au_2S),导致金箔变色、结构脆化^[39]。此外,部分菌株可降解金箔底层动物胶、树脂等黏合剂^[41],削弱金箔与基材的附着力,间接加速剥离,暴露金属基体并加剧腐蚀。

2.4.2 优势真菌对金箔的腐蚀

基于菌种鉴定结果及相关文献,杂色曲霉菌(*Aspergillus versicolor*)对金箔的腐蚀始于金箔中铜元素被优先氧化,形成亚微米级腐蚀孔洞。随后,该菌株利用金箔表面的昆虫粪便和残骸等为营养物质,进行代谢,产生 H^+ 和 SO_4^{2-} 等腐蚀性离子,在孔洞内富集,形成强酸性($\text{pH} < 3.5$)环境^[42],显著增强了 Cu^{2+} 的配位溶解。溶解过程导致孔洞扩大并相互连接,形成特征性的树枝状腐蚀裂纹。同时,菌株生长产生的机械应力在裂纹尖端引发应力集中效应,加速裂纹扩展^[43]。此外,菌株分泌的有机酸(如草酸和柠檬酸等)能破坏金箔胎体结构,且菌斑表面的羧基和氨基等功能基团对 Cu^{2+} 的特异性吸附形成浓度梯度^[44],协同加速生物电化学腐蚀。最终导致金箔表面发生不可逆的结构性损伤。

相比之下,易脆毛霉菌(*Mucor fragilis*)会定植于金箔表面的微观缺陷区域(如晶界、裂纹或污染物残留处),利用有机残留物及自身代谢产物为营养源,形成稳定的生物膜。生物膜中胞外聚合物(EPS)构成的凝胶状基质阻碍了氧气扩散,加之金箔表面形貌和菌丝分布不均,导致氧扩散速率在局部存在差异^[45]。生物膜的好氧呼吸进一步加剧了界面氧浓度的动态失衡,从而形成氧浓差电池。富氧区作为阴极发生还原反应,贫氧区作为阳极发生金

氧化溶解反应,从而引发电化学腐蚀^[46-47]。此外,代谢产生的草酸等有机酸在生物膜和金属界面富集并形成酸性环境,直接溶解金箔中的微量杂质相(如金属氧化物或硫化物)并增强阴极析氢反应,协同加速电化学腐蚀^[48],最终导致金箔表面形成非均匀的微孔洞及层状脱落等形貌。因此,杂色曲霉菌和易脆毛霉菌这两株优势真菌均可通过物理、化学和生物电化学等多途径协同作用腐蚀金箔,但二者的作用机制可能存在一定差异。

3 结论

采用高通量测序技术(16S rRNA 和 ITS 基因分析)、菌株分离纯化培养、ITS 序列比对及形态学分析,对大足石刻千手观音造像金箔表面微生物群落结构及优势菌种进行鉴定。得到以下结论:

1) 造像金箔表面细菌群落以厚壁菌门(Firmicutes)、放线菌门(Actinobacteriota)和变形菌门(Proteobacteria)等为优势门,其中盐球菌属(*Salinisphaera*)和假诺卡氏菌属(*Pseudonocardia*)等占据属级优势。

2) 造像金箔表面真菌群落主要分布在子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)和毛霉门(Mucoromycota),其中曲霉属(*Aspergillus*)、毛霉属(*Mucor*)以及丝孢酵母属(*Filobasidium*)为优势属。

3) 分离纯化获得的两株代表性优势真菌菌株杂色曲霉属(*Aspergillus versicolor*)与易脆毛霉属(*Mucor fragilis*)。

4) 通过菌斑分析并结合文献中所述该菌株的代谢特征,推测其对金箔的腐蚀作用可能是物理、化学、生物电化学多途径协同作用的结果,具体的腐蚀过程及其机制将在后续的研究中深入探讨。

参考文献

[1] 刘长久, 胡文和, 李永翘. 大足石刻研究[M]. 成都: 四川省社会科学院出版社, 1985.
LIU C J, HU W H, LI Y Q. Dazu stone carving research [M]. Chengdu: Sichuan Academy of Social Sciences Press, 1985. (in Chinese)

[2] 黎方银. 大足石刻志[M]. 重庆: 重庆出版社, 2022.
LI F Y. The annals of the Dazu rock carvings [M]. Chongqing: Chongqing Press, 2022. (in Chinese)

[3] 刘健, 刘晓. 三教融合对大足石刻石窟造像的影响[J]. 雕塑, 2013(1): 52-54.
LIU J, LIU X. The influence of three regions' fusion to the grotto of Dazu stone carving [J]. Sculpture, 2013(1): 52-54. (in Chinese)

[4] 唐文彦. 大足石刻千手观音造像病害形成及其保存环境监测与测评[D]. 重庆: 重庆大学, 2023.
TANG W Y. Disease occurrence of Thousand-hand Bodhisattva and conservation environment monitor and evaluation [D]. Chongqing: Chongqing University, 2023. (in Chinese)

[5] 王金林, 梁小东, 唐冬梅, 等. 浅析金属材料热处理变形及开裂问题[J]. 机械工业标准化与质量, 2024(6): 42-45.
WANG J L, LIANG X D, TANG D M, et al. Analysis of deformation and cracking problems in heat treatment of metal materials [J]. Machinery Industry Standardization & Quality, 2024(6): 42-45. (in Chinese)

[6] 田兴玲, 李志林, 马清林, 等. 重庆大足千手观音金箔表面变色原因探讨[J]. 稀有金属材料与工程, 2010, 39(增刊1): 311-315.
TIAN X L, LI Z L, MA Q L, et al. Discussion on the surface darkening of gold foil from Thousand Hand Buddhism in Dazu county of Chongqing city [J]. Rare Metal Materials and Engineering, 2010, 39(Sup 1): 311-315.

[7] SUN X Y, ZHOU W G, YE Q Q, et al. A green magnesium oxychloride cement based adhesive synergistically reinforced by citric acid and polyvinyl alcohol fibers for wood [J]. Construction and Building Materials, 2024, 426: 136041.

[8] 倪智勇. 有机酸与金属络合作用的试验研究(国家自然科学基金项目 D0304) [R]. 北京: 国家自然科学基金委员会, 2024.
NI Z Y. Experimental study on the complexation of organic acids with metals (National Natural Science Foundation of China Project D0304) [R]. Beijing: National Natural Science Foundation of China, 2024. (in Chinese)

[9] KRAPF A, GEBHART D D, GAMMER C, et al. Creep-dominated fatigue of freestanding gold thin films studied by bulge testing [J]. Materials Science and Engineering: A, 2023, 887: 145759.

[10] 徐琪歆, 李元涛, 左洪彬. 千手观音造像髹漆贴金层修复方法研究[J]. 中国文物科学研究, 2013(3): 24-32.
XU Q X, LI Y T, ZUO H B. A study on restoration methods of the lacquer and gliding skin of the Thousand-Hand Bodhisattva of Dazu carvings [J]. China Cultural Heritage Scientific Research, 2013(3): 24-32. (in Chinese)

[11] 张新兰, 许文, 梁晓凡, 等. 高温高湿下导电胶黏剂老化失效机理研究[J]. 宇航材料工艺, 2025, 55(1): 108-113.
ZHANG X L, XU W, LIANG X F, et al. Study on the aging failure mechanism of isotropic conductive adhesive under high temperature and humidity [J]. Aerospace Materials & Technology, 2025, 55(1): 108-113. (in Chinese)

- Chinese)
- [12] TIAN X L, MA Q L, ZHENG M T, et al. Gold leaf corrosion in moisture acid atmosphere at ambient temperature [J]. *Rare Metal Materials and Engineering*, 2014, 43(11): 2637-2642.
- [13] 王伟. 两株真菌对千手观音造像金箔腐蚀的研究[D]. 重庆: 重庆大学, 2021.
WANG W. Study on the corrosion of the gold foil of one Thousand Hand Buddha statue by two fungi [D]. Chongqing: Chongqing University, 2021. (in Chinese)
- [14] 范月婷. 易脆毛霉菌对千手观音造像金箔腐蚀的研究[D]. 重庆: 重庆大学, 2022.
FAN Y T. Study on the corrosion of the gold foil of one Thousand Hand Buddha statue by *Mucor Fragile* [D]. Chongqing: Chongqing University, 2022. (in Chinese)
- [15] ROSELLI S N, DEYÁ C, BELLOTTI N. Fungal deterioration of anti-corrosive coatings [J]. *Paint & Coating Industry*, 2020, 36(11): 50-58.
- [16] ZIMBRO M J, POWER D A, MILLER S M, et al. Difco & BBL Manual: Manual of microbiological culture media [Z]. Sparks, MD: BD Diagnostics-Diagnostic Systems, 2009.
- [17] 齐祖同. 中国真菌志-第五卷-曲霉属及其相关有性型[M]. 北京: 科学出版社, 1997.
QI Z T. Flora fungorum sinicorum, Volume 5, *Aspergillus* and its related sexual types [M]. Beijing: Science Press, 1997. (in Chinese)
- [18] CZAPEK F. Untersuchungen über die Stickstoffgewinnung und Eiweißbildung der Pflanzen (Studies on nitrogen acquisition and protein formation in plants) [J]. *Beiträge zur Chemischen Physiologie und Pathologie*, 1901, 1(12): 538-560.
- [19] XU N, TAN G C, WANG H Y, et al. Effect of biochar additions to soil on nitrogen leaching, microbial biomass and bacterial community structure [J]. *European Journal of Soil Biology*, 2016, 74: 1-8.
- [20] ADAMS R I, MILETTO M, TAYLOR J W, et al. Dispersal in microbes: fungi in indoor air are dominated by outdoor air and show dispersal limitation at short distances [J]. *The ISME Journal*, 2013, 7(7): 1262-1273.
- [21] VIDELA H A, HERRERA L K. Understanding microbial inhibition of corrosion. A comprehensive overview [J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2009, 63(7): 896-900.
- [22] 李姣, 景永强. 金属材料的微生物腐蚀机理及防护措施[J]. *冶金管理*, 2022(21): 36-38.
LI J, JING Y Q. Microbial corrosion mechanism and protective measures of metal materials [J]. *China Steel Focus*, 2022(21): 36-38. (in Chinese)
- [23] LIU H X, ZHANG W Q, ZHAO Z L, et al. Broken passive film and subsequent pitting corrosion behavior of 2205 duplex stainless steel induced by marine fungus *Aspergillus terreus* in artificial seawater [J]. *Corrosion Science*, 2023, 218: 111147.
- [24] LIAO W P, LIU H X, JIN Z Y, et al. Synergistic inhibition effect of ultraviolet irradiation and benzalkonium chloride on the corrosion of 316L stainless steel caused by *Aspergillus terreus* [J]. *Bioelectrochemistry*, 2023, 153: 108485.
- [25] FAN Q, FU L, LIN L, et al. Corrosion behavior of 7075-T6 aluminum alloy in the presence of *Aspergillus Niger* [J]. *International Journal of Electrochemical Science*, 2021, 16(9): 210921.
- [26] HE J Q, TAN Y, LIU H X, et al. Extracellular polymeric substances secreted by marine fungus *Aspergillus terreus*: Full characterization and detailed effects on aluminum alloy corrosion [J]. *Corrosion Science*, 2022, 209: 110703.
- [27] ZHANG T S, WANG J L, ZHANG G A, et al. The corrosion promoting mechanism of *Aspergillus niger* on 5083 aluminum alloy and inhibition performance of miconazole nitrate [J]. *Corrosion Science*, 2020, 176: 108930.
- [28] ANUSHA Y G, MULKY L. Biofilms and beyond: A comprehensive review of the impact of *Sulphate Reducing Bacteria* on steel corrosion [J]. *Biofouling*, 2023, 39 (9/10): 897-915.
- [29] 张雨轩, 陈翠颖, 刘宏伟, 等. 铝合金霉菌腐蚀研究进展[J]. *中国腐蚀与防护学报*, 2021, 41(1): 13-21.
ZHANG Y X, CHEN C Y, LIU H W, et al. Research progress on mildew induced corrosion of Al-alloy [J]. *Journal of Chinese Society for Corrosion and Protection*, 2021, 41(1): 13-21. (in Chinese)
- [30] DAI X Y, WANG H, JU L K, et al. Corrosion of aluminum alloy 2024 caused by *Aspergillus niger* [J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2016, 115: 1-10.
- [31] 宋晓稳, 白苗苗, 陈娜娜, 等. 海南滨海大气环境中棘孢曲霉对铝合金腐蚀行为影响[J]. *中国腐蚀与防护学报*, 2025, 45(3): 631-642.
SONG X W, BAI M M, CHEN N N, et al. Effect of *Aspergillus Aculeatus* on corrosion behavior of 5A02 Al-alloy in coastal atmospheric environment of Hainan Island [J]. *Journal of Chinese Society for Corrosion and Protection*, 2025, 45(3): 631-642. (in Chinese)
- [32] 姚婷, 丁凤兰, 王珂, 等. 5株枣果实采后病原真菌分离鉴定及rDNA ITS区序列分析[J]. *食品科学技术学报*, 2022, 40(5): 62-70.
YAO T, DING F L, WANG K, et al. Morphological characterization and rDNA ITS sequence analysis of five pathogenic fungi isolated from infected jujube fruit [J].

- Journal of Food Science and Technology, 2022, 40(5): 62-70. (in Chinese)
- [33] 武宇辉, 杨悦锁, 赵传起, 等. 水土环境中微生物胞外聚合物对污染物迁移和归宿影响的研究进展[J]. 化工学报, 2018, 69(8): 3303-3317.
- WU Y H, YANG Y S, ZHAO C Q, et al. A review on effects of extracellular polymeric substances on contaminants fate & transport in soil and water environment [J]. CIESC Journal, 2018, 69(8): 3303-3317. (in Chinese)
- [34] GAN L Z, HUANG X, HE Z C, et al. Exopolysaccharide production by salt-tolerant bacteria: Recent advances, current challenges, and future prospects [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 264: 130731.
- [35] POORSARGOL M, RAZMARA Z, AMIRI M M. The role of hydroxyl and carboxyl functional groups in adsorption of copper by carbon nanotube and hybrid graphene-carbon nanotube: Insights from molecular dynamic simulation [J]. Adsorption, 2020, 26(3): 397-405.
- [36] WANG Y S, LIU L, FU Q, et al. Effect of *Bacillus subtilis* on corrosion behavior of 10MnNiCrCu steel in marine environment [J]. Scientific Reports, 2020, 10: 5744.
- [37] SUN Z M, GUO N, WANG X Y, et al. Adhesion and corrosion effects of biofilms on steel surface mediated by hydrophilic exopolysaccharide colanic acid [J]. Corrosion Science, 2024, 229: 111876.
- [38] RIAHI H S, HEIDARIEH P, FATAHI-BAFGHI M. Genus *Pseudonocardia*: What we know about its biological properties, abilities and current application in biotechnology [J]. Journal of Applied Microbiology, 2022, 132(2): 890-906.
- [39] REICHERT K, LIPSKI A, PRADELLA S, et al. *Pseudonocardia asaccharolytica* sp. nov. and *Pseudonocardia sulfidoxydans* sp. nov., two new dimethyl disulfide-degrading actinomycetes and emended description of the genus *Pseudonocardia* [J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1998, 48: 441-449.
- [40] ISAKA K, MASUDA T, OMAE S, et al. Effect of nitrogen, phosphorus, and sulfur on the start-up of a biological 1, 4-dioxane removal process using *Pseudonocardia* sp. D17 [J]. Biochemical Engineering Journal, 2021, 176: 108179.
- [41] ZHANG Y, ZOU M, LODHI A F, et al. Microbial degradation and community structure analysis of hydroxyl-terminated polybutadiene (HTPB) [J]. AMB Express, 2021, 11(1): 180.
- [42] 李华强. 三种来源杂色曲霉次生代谢产物研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2018.
- LI H Q. Study on the second metabolites of three *aspergillus versicolor* [D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2018. (in Chinese)
- [43] BAI Z H, LI X M, FENG Y L, et al. Atmospheric corrosion of copper by an acid-producing *aspergillus versicolor* in the presence of chloride [J]. Journal of Materials Engineering and Performance, 2023, 32(15): 6677-6685.
- [44] SIMONESCU C M, FERDES M. Fungal biomass for Cu(II) uptake from aqueous systems [J]. Polish Journal of Environmental Studies, 2012, 21(6): 1831-1839.
- [45] 汤秋华. 金属材料的微生物腐蚀与防护研究进展[J]. 世界有色金属, 2018(16): 239-240.
- TANG Q H. Research Progress on microbial corrosion and protection of metallic materials [J]. World Nonferrous Metals, 2018(16): 239-240. (in Chinese)
- [46] PLANÝ M, PINZARI F, ŠOLTYS K, et al. Fungal-induced atmospheric iron corrosion in an indoor environment [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2021, 159: 105204.
- [47] SHARIAT A H, MOGHIMI H, GIYAHCHI M, et al. Comprehensive evaluation of fungal-induced corrosion in aluminum alloys by *Amorphotheca resinae* [J]. Scientific Reports, 2024, 14: 19096.
- [48] VICTORIA S N, SHARMA A, MANIVANNAN R. Metal corrosion induced by microbial activity: Mechanism and control options [J]. Journal of the Indian Chemical Society, 2021, 98(6): 100083.

(编辑 王秀玲)