

研究报告

李渡酒窖土遗址中微生物种群的鉴定与分析

付彤彤¹ 王宇¹ 葛琴雅² 李强³ 潘晓轩² 朱旭东¹ 潘皎^{1*}

(1. 南开大学生命科学学院微生物系 分子微生物学与技术教育部重点实验室 天津 300071)

(2. 中国文化遗产研究院 北京 100029)

(3. 浙江大学化学系 浙江 杭州 310027)

摘要: 【目的】对李渡酒窖土遗址的微生物病害进行防护和治理,对土遗址的微生物种群进行鉴定与分析。【方法】从土遗址现场采集具代表性的微生物病害样品3份,构建其16S rRNA基因和18S rRNA-ITS基因间隔区的克隆文库,测序后利用MEGA 3.0和GlustalW 1.8软件对测序结果进行分析,并构建系统发育树。【结果】共获得72个有效的细菌16S rRNA基因序列,归属于3个门11个属;80个有效的真菌18S rRNA-ITS基因间隔序列归属于1个门7个属。细菌的优势菌为盐单胞菌属(*Halomonas* sp.)、甲基盐单胞菌属(*Methylohalomonas* sp.)和乳杆菌属(*Lactobacillus* sp.)。真菌的优势菌为: *Cyphellophora* sp.、毕赤酵母属(*Pichia* sp.)、外瓶霉属(*Exophiala* sp.)和瓶霉属(*Phialophora* sp.)。【结论】实验分析获得的优势细菌多具有耐盐碱的特性,这与酒窖土遗址的现场环境相一致;真菌中的优势真菌主要为丝状真菌和酵母。通过对土遗址内主要微生物种群的鉴定与分析,确定出了可能对土遗址造成严重破坏作用的微生物,为后期加固材料的耐微生物降解性研究提供了依据,该研究结果对李渡酒窖土遗址的保护具有重要意义。

关键词: 李渡酒窖土遗址, 微生物种群, 加固材料, 生物降解性

Identification and analysis of the microbe in Lidu ancient earthen cellar

FU Tong-Tong¹ WANG Yu¹ GE Qin-Ya² LI Qiang³ PAN Xiao-Xuan²
ZHU Xu-Dong¹ PAN Jiao^{1*}

(1. Key Laboratory of Molecular Microbiology and Technology, Department of Microbiology, College of Life Sciences, Nankai University, Tianjin 300071, China)

(2. Chinese Academy of Cultural Heritage, Beijing 100029, China)

(3. Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310027, China)

Abstract: [Objective] In this study, the microbial community structure of Lidu ancient earthen cellar was determined to provide reference for further microbial diseases prevention and

Foundation item: The Research of Protecting Lidu Ancient Earthen Cellar Against Weathering

***Corresponding author:** Tel: 86-22-23505961; E-mail: panjiaonk@nankai.edu.cn

Received: May 20, 2016; **Accepted:** August 24, 2016; **Published online** (www.cnki.net): August 31, 2016

基金项目: 李渡烧酒作坊遗址本体防风化保护试验与防渗保护方案设计项目

***通讯作者:** Tel: 86-22-23505961; E-mail: panjiaonk@nankai.edu.cn

收稿日期: 2016-05-20; 接受日期: 2016-08-24; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2016-08-31

protection of the earthen ruins. **[Methods]** We collected 3 representative samples from Lidu ancient earthen cellar to construct clone libraries of the 16S rRNA gene and 18S rRNA-ITS intergenic region and subsequently analyzed the sequencing results in order to establish phylogenetic tree by software such as MEGA 3.0 and ClustalW 1.8. **[Results]** A total of 72 16S rRNA gene and 80 18S rRNA-ITS intergenic sequences were obtained. All 16S rRNA gene sequences were classified into 3 phylum and 11 genera and all 18S rRNA-ITS intergenic sequences were classified into 1 phyla and 7 genera. The major bacteria included *Halomonas* sp., *Methylohalomonas* sp. and *Lactobacillus* sp. The major fungi included *Cyphellophora* sp., *Pichia* sp., *Exophiala* sp. and *Phialophora* sp. **[Conclusion]** Among the microbes we identified in this earthen ruins, dominant bacteria are salt-tolerant, which mainly caused by the earthen cellar's environmental condition. Major fungus is filamentous fungi and yeast. It is important to identify the microbes which could destroy the earthen ruins, because the result provides scientific basis for the study of reinforcement material against these microorganisms and the protection of the Lidu ancient earthen cellar.

Keywords: Lidu ancient earthen cellar, Microbial population, Reinforcement material, Biodegradability

李渡烧酒遗址位于江西省进贤县李渡镇^[1],地处抚河东岸的赣抚平原腹地,是继四川成都水井坊酒窖遗址^[2]之后我国发现的又一处具有鲜明特色的古代烧酒作坊遗址。经考古证明,李渡酒窖酿造白酒的历史始于元代,其时代之早、遗迹之全、遗物之多、延续时间之长,为研究中国白酒酿造工艺的起源和发展提供了宝贵的实物资料。

土遗址按质地可分为自然土体和人工土体,主要由石英、黏土矿物质、高岭石等构成。造成土遗址病害的包括物理因素(如紫外线照射)、化学因素(如化学腐蚀氧化)和生物因素(如生物降解)等。基于土遗址不可移动的特点,文物保护工作者主要是选用适当的加固材料对其进行渗透加固及原址保护。加固材料可分为有机材料(如有机硅类、聚酯类、有机氟类等)、无机-有机复合材料和无机材料[如高模数的钾水玻璃(Potassium silicate, PS)、氢氧化钙等]。在国内,部分文物工作者已经开始意识到在加固材料的选择方面要考虑它的生物降解性^[3-4];在国外,已有部分研究人员进行了加固材料抗真菌及藻类的研究^[5-6]。

课题组在前期对李渡酒窖土遗址的调研中发现,该处土遗址正遭受着较为严重的微生物病害的

侵袭,在土遗址表面生长着大面积的黑色菌斑和白色菌斑,因此对它的保护刻不容缓。本研究旨在通过鉴定和分析土遗址内微生物的群落组成,为后期加固材料的选择和其生物降解性的研究做前期准备。

1 材料与方法

1.1 样品采集

针对土遗址表面多处出现的白色和黑色菌斑(图1),现场采用无菌操作技术收集样品于灭菌的EP管中,立即置于装有冰袋的保温桶内,带回实验室用于后续的分析研究。需要用扫描电镜观察的样品,用双面碳导电胶带粘取,带回实验室观察。根据菌斑样品在整个土遗址中的分布及特点,最终选择最具代表性的LDSJ-1、LDSJ-4、LDSJ-19号3个样品构建克隆文库,进行细菌和真菌菌群的鉴定与分析。

1.2 主要试剂和仪器

土壤DNA提取试剂盒,MO BIO公司;EasyTaq DNA聚合酶,北京全式金生物技术有限公司;大肠杆菌DH5 α 感受态细胞,北京康为世纪生物科技有限公司;PMD19-T载体,TaKaRa公司。扫描电镜(S-3600N),Hitachi公司;双面碳导电胶带

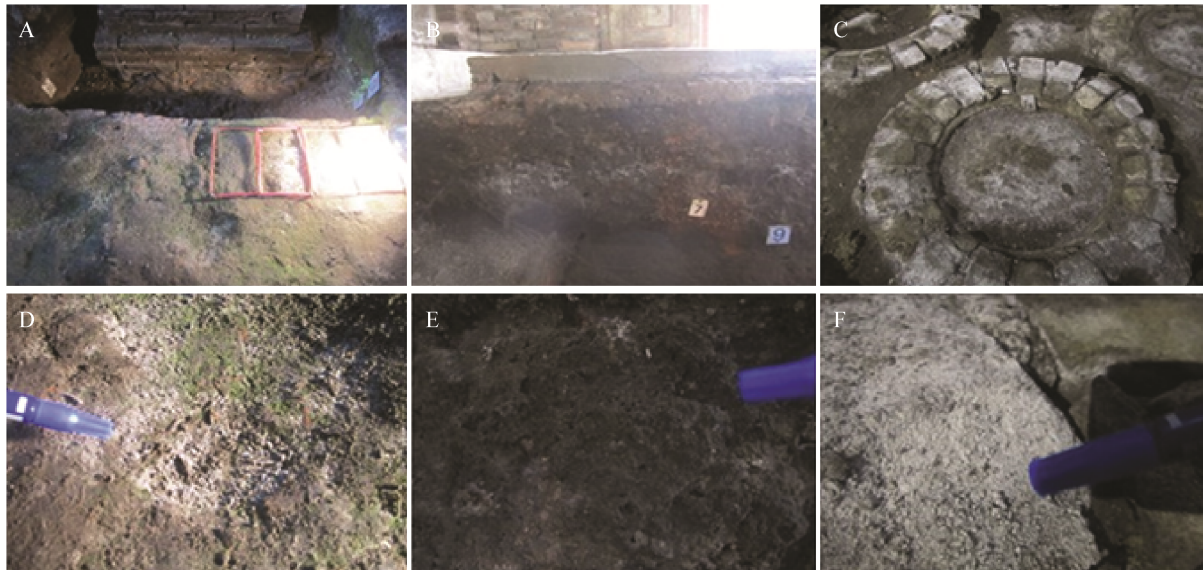


图 1 取样照片

Figure 1 Representative images

注: A、B、C 依次为 LDSJ-1、LDSJ-4、LDSJ-19 在遗址中的取样位置, D、E、F 为对应的取样照片。LDSJ-1 取样位置在 T2 区域柱子靠南地面上; LDSJ-4 取样位置在 T2 区域西侧壁上; LDSJ-19 取样位置在 F26 位置处的元代酒窖。

Note: Pictures above are the sampling sites of LDSJ-1, LDSJ-4 and LDSJ-19, the images below are sampling photos. LDSJ-1 sampling position is on the southern ground of T2 posts; LDSJ-4 sampling position is on the western wall of T2 area; LDSJ-19 sampling position is on the Yuan dynasty wine cellar in F26 area.

(JXN-05072), NEM 公司; PCR 仪(Mastercycler gradient), Eppendorf 公司; 冷冻离心机(Neofuge23), HEAL 立新仪器公司; 凝胶成像仪(ChemiDoc™ XRS) Bio-Rad 公司; pH 值测定仪(pH211C) HANNA 公司; 振荡培养箱(LRH-250-Z), 广东省医疗器械厂。

1.3 用扫描电镜检测样品

将带有样品的碳导电胶固定于载物小台上, 喷金, 拍摄照片。

1.4 总 DNA 的提取、PCR 扩增及克隆文库的构建

称取每个样品约 0.25 g, 使用 MO BIO 公司的土壤 DNA 提取试剂盒 (PowerSoil DNA Isolation Kit) 提取基因组 DNA。然后以总 DNA 为模板, 分别使用扩增细菌 16S rRNA 基因的通用引物(341f 与 907r)和扩增真菌 18S rRNA-ITS 基因间隔区域的通用引物(ITS1 和 ITS4)进行 PCR 扩

增。引物序列如下: 341f :5'-CCTACGGGAGGCAG CAG-3'; 907r :5'-CCCGTCAATTCATTTGAGTT T-3'; ITS1 : 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'; ITS4 : 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'。PCR 反应体系(50 μ L): DNA 模板 2 μ L, 10 \times Taq buffer 5 μ L, dNTPs (2.5 mmol/L) 4 μ L, 引物(10 μ mol/L) 各 2 μ L, Taq 酶(5 U/ μ L) 0.5 μ L, 加灭菌 ddH₂O 至 50 μ L。PCR 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 5 min; 95 $^{\circ}$ C 30 s, 55 $^{\circ}$ C 1 min, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 30 个循环; 72 $^{\circ}$ C 10 min。用浓度为 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物, 通过对目的条带切胶回收, 将纯化的 PCR 产物与 TaKaRa 公司的 pMD19-T 载体连接, 并转化大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞, 分别构建了 LDSJ-1、LDSJ-4 和 LDSJ-19 这 3 个样品的细菌和真菌克隆文库。通过蓝白斑筛选, 每个克隆平板随机挑取 30 个白色菌斑进行 DNA 的序列测定。

1.5 序列比对及系统进化分析

利用 BLAST 软件将测序结果与 GenBank 序列进行比对,分析得出样品中所含微生物的种群。关于种属的判定,采用以下标准(s :待测序列与数据库中序列的相似度)。细菌 16S rRNA 基因: $s \geq 97\%$ 为同种; $85\% < s < 97\%$ 为同属^[7]。真菌 ITS 基因间隔区: $s \geq 99\%$ 为同种; $95\% < s < 99\%$ 为同属^[8-9]。将 16S rRNA gene 和 18S rRNA-ITS gene 片段测序结果提交 GenBank,用 BLAST 进行相似性分析。用软件 ClustalW 1.8 进行两两比对,排除相同序列;用 ClustalX 进行排列比较;用 MEGA 3.0 软件按照邻接法聚类(选择 Bootstrap 检验值 $\geq 50\%$,1 000 次重复)进行系统进化树的构建。

2 结果与分析

2.1 样品的扫描电镜检测结果

用扫描电镜对 LDSJ-1、LDSJ-4 和 LDSJ-19 这 3 个样品进行检测,结果如图 2 所示。扫描电镜结果显示,LDSJ-1 样品中菌丝较分散并且有一定程度的皱缩;LDSJ-4 样品中有大量的菌丝和聚集在一起的孢子,并且可以看到疑似孢子囊的产孢结构;LDSJ-19 样品中可看到大量聚集在一起的菌丝体,几乎看不到孢子。

2.2 样品中微生物种群的鉴定与分析

2.2.1 样品中细菌种群的鉴定与分析:从 3 个样品的细菌 16S rRNA 基因的克隆文库中,在去除空载体和嵌合体后一共获得 72 个有效片段,LDSJ-1 号样品共获得 25 个有效序列,LDSJ-4 号样品共获得 24 个有效序列,LDSJ-19 号样品共获得 23 个有效序列,将其与 NCBI 数据库进行 BLAST 比对,细菌种群的鉴定及比例结果见表 1,3 个样品细菌种群的综合比较分析如图 3 所示,样品中检测到的细菌的系统进化分析如图 4 所示。

从细菌菌群的鉴定和分析结果可以看出,样品中的细菌主要归属于 3 个门 11 个属。其中盐单胞菌属(*Halomonas* sp.)、甲基盐单胞菌属(*Methylohalomonas* sp.)、乳杆菌属(*Lactobacillus* sp.)、*Luteibacter* sp.

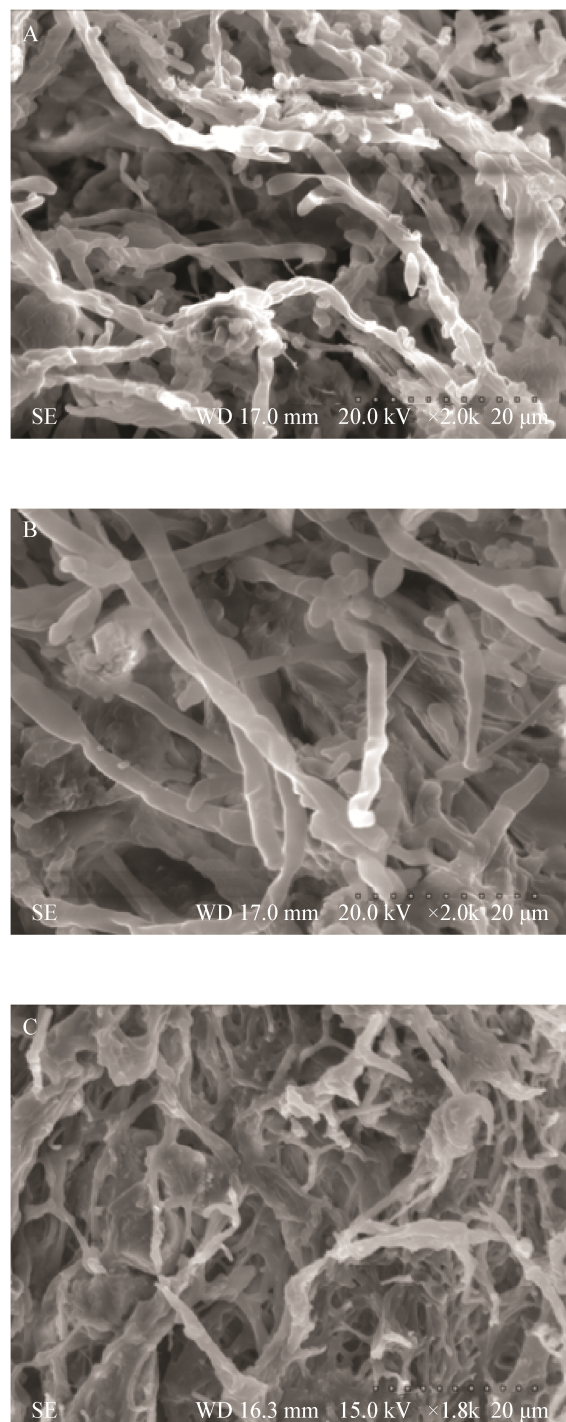


图 2 样品扫描电镜的检测结果

Figure 2 SEM photos of the samples

注:LDSJ-1 (A)、LDSJ-4 (B)和 LDSJ-19 (C)样品扫描电镜照片。

Note: Pictures above are the SEM photos of LDSJ-1 (A), LDSJ-4 (B) and LDSJ-19 (C).

表 1 细菌 16S rRNA 基因克隆文库检测结果						
Table 1 The test results of bacterial 16S rRNA gene clone library						
样品编号 Sample No.	总克隆数 Total number of clone	微生物种属 Microbial species	克隆数 Number of clone	相似性 Similarity (%)	比例 Ratio (%)	GenBank 登录号 GenBank No.
LDSJ-1	25	Uncultured <i>Luteibacter</i> sp.	4	97	16.00	KC535222.1
		<i>Ectothiorhodospira</i> sp.	3	91	12.00	HE575192.1
		<i>Halomonas</i> sp.	3	99	12.00	AF280796.1
		<i>Methylohalomonas</i> sp.	2	96	8.00	NR_043973.1
		<i>Janibacter</i> sp.	2	99	8.00	KC844795.1
		<i>Kocuria</i> sp.	2	99	8.00	KC751038.1
		Uncultured <i>Lactobacillus</i> sp.	2	99	8.00	JX576046.1
		<i>Thioalkalivibrio</i> sp.	2	92	8.00	CP001339.1
		Uncultured <i>Frateuria</i> sp.	2	96	8.00	FJ889352.1
		Unknown	3	—	12.00	—
LDSJ-4	24	<i>Lactobacillus</i> sp.	7	99	29.17	JX576046.1
		Uncultured <i>Halomonas</i> sp.	5	99	20.83	AF280796.1
		<i>Methylohalomonas</i> sp.	3	96	12.50	NR_043973.1
		<i>Brevibacterium</i> sp.	3	99	12.50	KF454863.1
		<i>Kocuria</i> sp.	3	99	12.50	KC751038.1
		<i>Lysobacter</i> sp.	1	94	4.17	EU374884.1
		Uncultured bacterium clone	1	97	4.17	FJ718874.1
		Unknown	1	—	4.17	—
LDSJ-19	23	<i>Halomonas</i> sp.	8	98	34.78	AF280796.1
		<i>Luteibacter</i> sp.	4	98	17.39	KC535222.1
		Uncultured bacterium clone	3	99	13.04	FJ718874.1
		<i>Lysobacter</i> sp.	3	96	13.04	EU374884.1
		<i>Methylohalomonas lacus</i>	2	95	8.70	NR_043973.1
		Uncultured <i>Frateuria</i> sp.	1	97	4.35	KM108652.1
		<i>Ectothiorhodospira</i> sp.	1	91	4.35	HE575192.1
		<i>Janibacter anophelis</i>	1	99	4.25	KC844795.1

注：—：部分物种的 16S rRNA 基因在 NCBI 中进行 BLAST 比对时无相似序列。
Note: The “—” in the table represents that no homologous gene exists to these 16S rRNA gene sequence.

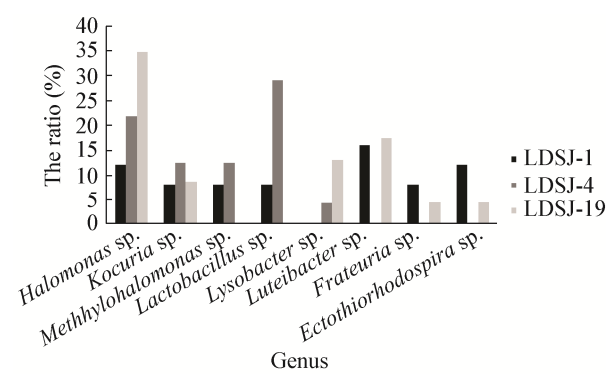


图 3 3 个样品中细菌比例的综合比较分析
Figure 3 Comprehensive analysis of bacteria ratio among three samples

短杆菌属 (*Brevibacterium* sp.) 和考克氏菌属 (*Kocuria* sp.) 在样品的细菌群落结构中占有较大比例, 为优势细菌种属。其中盐单胞菌属和甲基盐单胞菌属在 3 个样品中都有存在。

2.2.2 样品中真菌种群的鉴定与分析: 从 3 个样品真菌 18S rRNA-ITS 基因间隔区的克隆文库中一共获得 80 个有效片段, LDSJ-1 号样品共获得 26 个有效序列, LDSJ-4 号样品共获得 25 个有效序列, LDSJ-19 号样品共获得 29 个有效序列。将其与 NCBI 数据库进行 BLAST 比对, 真菌种群的鉴定及比例结果见表 2,

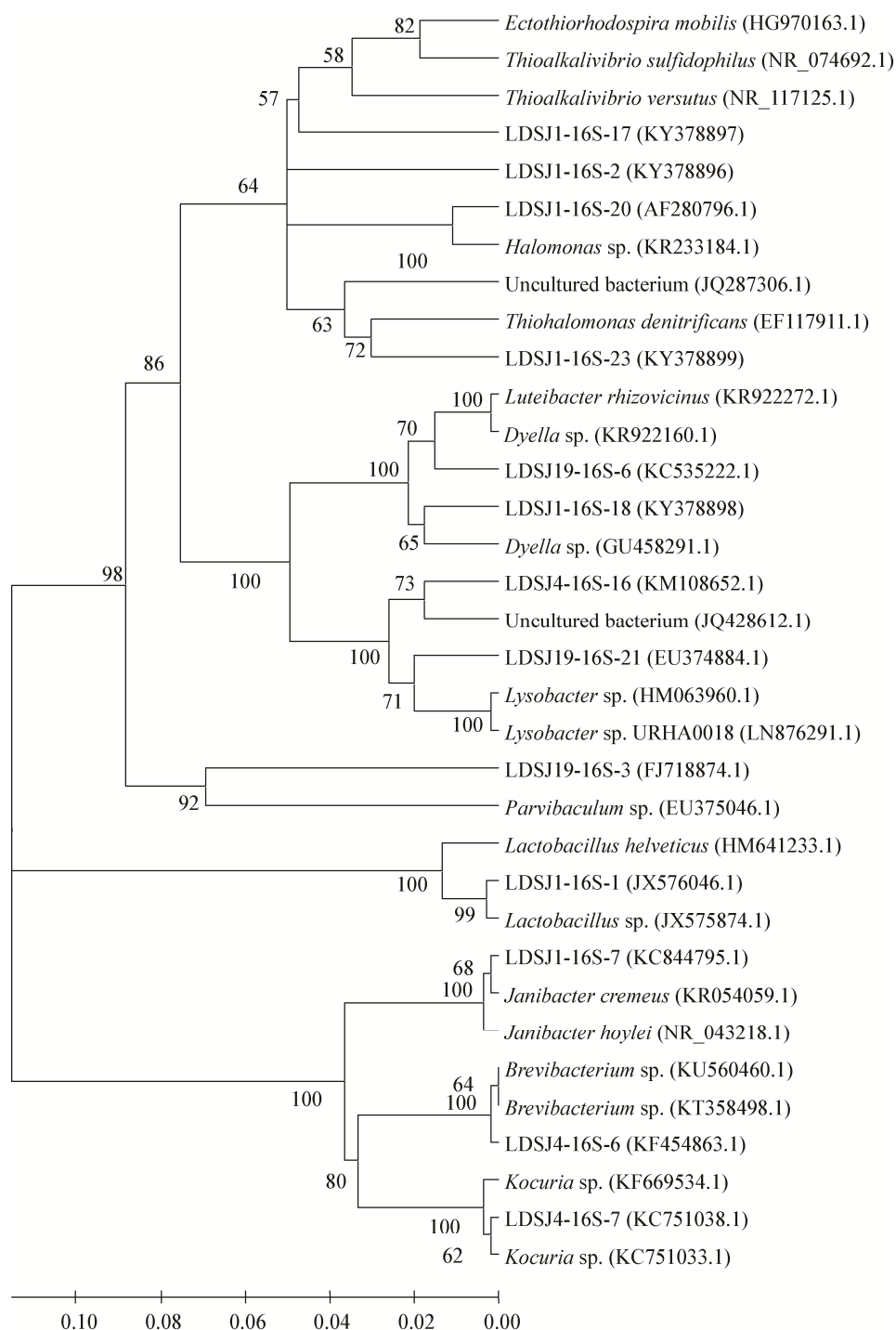


图 4 李渡酒窖土遗址样品中 16S rRNA 基因序列的系统进化树

Figure 4 Phylogenetic tree of 16S rRNA gene sequences from Lidu ancient earthen cellar samples

注：括号里的数字为 GenBank 登录号；节点上的数字为 Bootstrap 值(1 000 次重复抽样的百分比)；比例尺代表每 1 000 个核苷酸中有 0.5 个核苷酸发生替代。

Note: Numbers in parentheses are GenBank accession numbers; Bootstrap values (expressed as percentages of 1 000 replications) are given at nodes; The scale bar represents 0.5 substitutions per 1 000 nucleotide positions.

表 2 真菌 18S rRNA-ITS 基因间隔区克隆文库的检测结果
Table 2 The test results of fungal 18S rRNA-ITS clone library

样品编号 Sample No.	总克隆数 Total number of clone	微生物种属 Microbial species	克隆数 Clone number	相似性 Similarity (%)	比例 Ratio (%)	GenBank 登录号 GenBank No.
LDSJ-1	26	<i>Exophiala</i> sp.	6	99	23.08	AB488490.1
		<i>Cyphellophora</i> sp.	6	99	23.08	JQ766428.1
		<i>Issatchenkia</i> sp.	3	100	11.54	AY939808.1
		<i>Pichia</i> sp.	2	100	7.69	HE799658.1
		Uncultured eukaryote sp.	2	98	7.69	FJ176546.1
		<i>Candida</i> sp.	1	100	3.85	NR_077074.1
		Unknown	6	—	23.08	—
LDSJ-4	25	<i>Cyphellophora</i> sp.	12	99	48.00	JQ766428.1
		<i>Pichia</i> sp.	5	100	20.00	HE799658.1
		<i>Candida</i> sp.	2	100	8.00	NR_077074.1
		<i>Phialophora</i> sp.	2	99	8.00	HQ832997.1
		<i>Exophiala</i> sp.	1	100	4.00	AB488490.1
		Unknown	3	—	12.00	—
LDSJ-19	29	<i>Cyphellophora</i> sp.	16	99	55.17	JQ766428.1
		<i>Phialophora</i> sp.	8	99	27.59	HQ832997.1
		<i>Exophiala</i> sp.	2	100	6.90	AB488490.1
		<i>Simplicillium</i> sp.	1	100	3.45	AB604004.1
		Unknown	2	—	6.90	—

注：—：部分物种的 18S rRNA-ITS 序列在 NCBI 中进行 BLAST 比时无相似性序列。
Note: The “—” in the table represents that no homologous sequence exists to these 18S rRNA- ITS intergenic sequences.

3 个样品真菌种群的综合比较分析如图 5 所示，样品中检测到的真菌的系统进化分析如图 6 所示。

从样品中真菌菌群的鉴定和分析结果可以看出，*Cyphellophora* sp.、毕赤酵母属(*Pichia* sp.)、外瓶霉属(*Exophiala* sp.)和瓶霉属(*Phialophora* sp.)在样品的真菌群落结构中占有较大的比例,为优势真菌。外瓶霉属(*Exophiala* sp.)和 *Cyphellophora* sp.在 3 个样品中都有发现，且 *Cyphellophora* sp.占据较大比例。

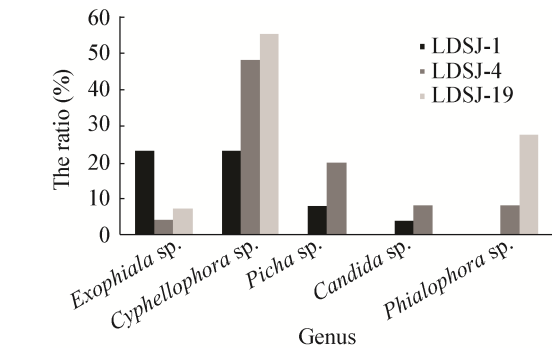


图 5 3 个样品中真菌比例的综合比较分析
Figure 5 Comprehensive analysis of fungal ratio among three samples

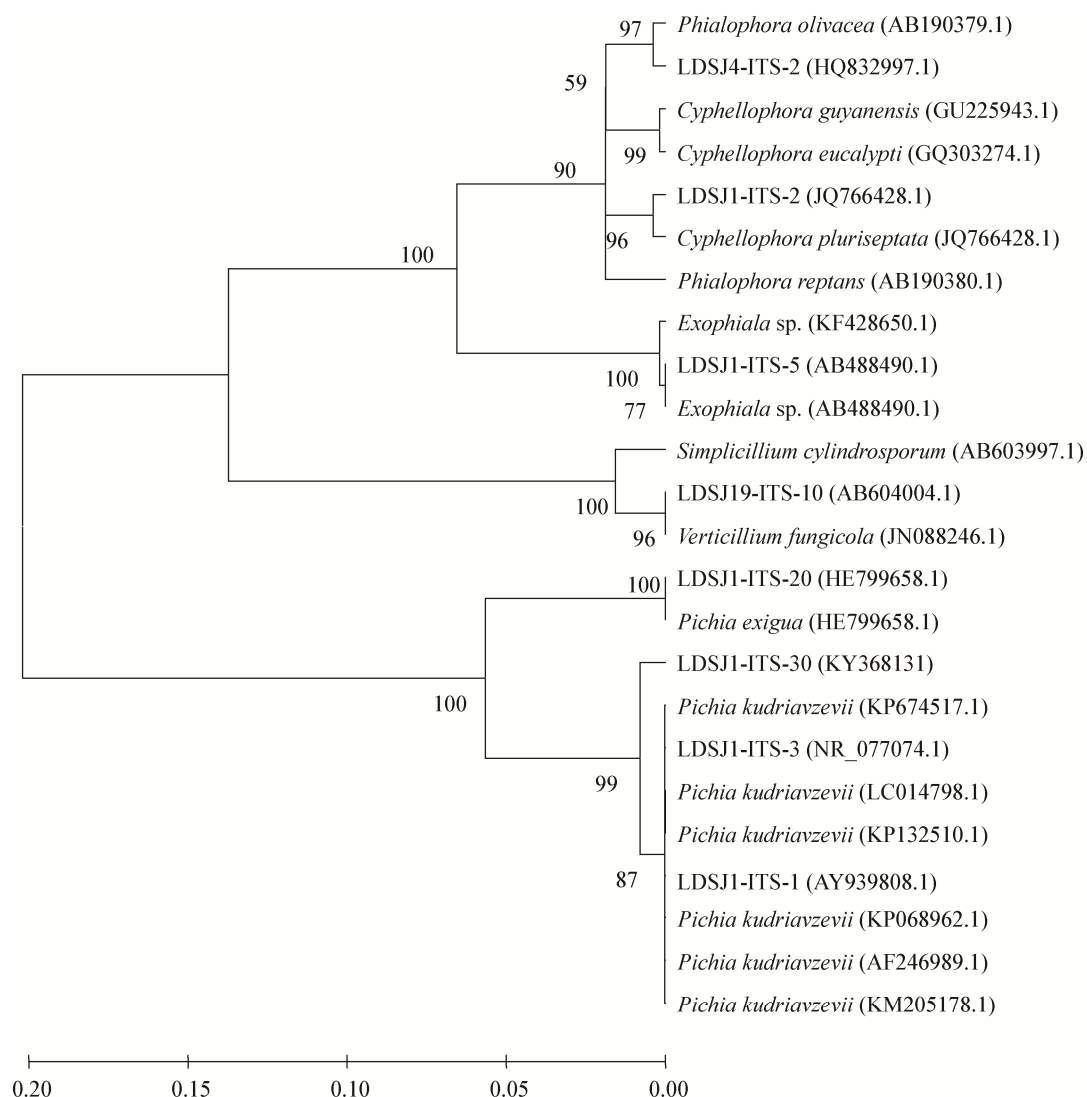


图6 李渡酒窖土遗址样品中 18S rRNA-ITS 序列的系统进化树

Figure 6 Phylogenetic tree of 18S rRNA-ITS sequences from Lidu ancient earthen cellar samples

注：括号里的数字为 GenBank 登录号；节点上的数字为 Bootstrap 值(1 000 次重复抽样的百分比)；比例尺代表每 1 000 个核苷酸中有 0.5 个核苷酸发生替代。

Note: Numbers in parentheses are GenBank accession numbers; Bootstrap values (expressed as percentages of 1 000 replications) are given at nodes; The scale bar represents 0.5 substitutions per 1 000 nucleotide positions.

3 讨论

土遗址的保护工作近年来越来越受到重视,微生物的降解可对土遗址造成严重的破坏作用。其中一些细菌和霉菌可以产生有机酸,直接分解土壤中的有机质和无机质,破坏土壤骨架,使土遗址酥粉、剥落等;此外不同的霉菌可分泌色素,附着在文物表面,影响土遗址的观赏性^[10-12]。

李渡酒窖土遗址地势较低,低于当地的抚河地下水水位,在遗址的土层表面有少量的盐类结晶。在土遗址中检测到的不少优势细菌,如盐单胞菌属、甲基盐单胞菌属、考克氏菌属都具有耐盐碱的特性,这与酒窖遗址的现场环境是相一致的。此外,在细菌种群中含有较多的乳杆菌属,它能发酵分解糖类,且终产物 50%以上是乳酸,因此乳杆菌的

大量存在,对土遗址有着一定的破坏作用。

李渡酒窖遗址表面的优势真菌主要包括丝状真菌和酵母两大类。丝状真菌中 *Cyphellophora* sp.、外瓶霉属和瓶霉属占据较大比例。*Cyphellophora* sp.属于子囊菌门 Chaetothyriales 纲 Eurotiomycetes 科,目前包括 17 个种,在自然界分布较广,可从土壤、植物、水等环境中分离得到;*Cyphellophora* sp.具有黑色的菌落,是一种类似于黑酵母的真菌,具有简单的瓶梗、多隔且弯曲的分生孢子,形态上与瓶霉属类似^[13-14]。瓶霉属菌落大部分为褐色或黑色,质地较紧密,有时呈黑色的柏油状;菌丝棕褐色有隔,呈环状或束状分布;产孢细胞呈烧瓶状^[15]。外瓶霉属菌落呈黑或黑灰色,质地紧密,菌丝有隔,灰色或棕色,呈束状或环状^[16]。经调研发现,在酒窖土遗址的表面存在着的大面积的黑色菌斑,且与土遗址紧密结合,在土遗址表面形成一层坚硬的外壳,影响了土遗址的美观。从扫描电镜的结果分析发现,在土遗址内部的微生物中存在着大量的丝状真菌,并且可以观察到分生孢子的结构,这与土遗址的真菌分子检测的结果相一致。检测发现的酵母主要包括毕赤酵母属和假丝酵母属,而自古以来酵母在酒类发酵、生产等方面都起着重要的作用,因此这些酵母很可能就是李渡酒窖本身一直存在的土著微生物。此外,不同酵母的多种次级代谢产物,对于白酒风味的形成,也起着不可替代的作用。

目前对于土遗址的保护,文物工作者大多选择原位加固保护。在加固材料选择方面不仅要考虑到加固材料的物理和化学性质,同时也应该考虑加固材料耐生物降解性。国际上研究材料生物降解性的机构有 ASTM (American Society for Testing and Material)、CEN (European Committee for Standardization)、DIN (Deutsches Institut für Normung eV)、ISO (International Organization for Standardization)、JIS (Japanese Institute for Standardization)、OECD (Organization for Economic Cooperation and Development)等。现在应用于文物

加固材料(如聚酯类加固材料)生物降解性的标准方法有 ASTM G21-96(2002)“检测合成类物质对于真菌生物降解性抵抗能力的标准方法”和 ASTM G29-96(2002)“检测合成类物质对于藻类生物降解性抵抗能力的标准方法”。ASTM G21-96(2002)可以测定真菌对于材料的影响,通过观察材料外观的改变、导电性、机械性能等的改变来确定材料抵抗真菌降解性的能力,而 ASTM G29-96(2002)方法是用来测定材料对于藻类附着和延伸的敏感性。

本研究系统地李渡酒窖土遗址的微生物菌群进行了测定和分析,根据已有的结果,将针对性地检测几种加固材料对乳杆菌属、*Cyphellophora* sp.、外瓶霉属和瓶霉属等几种主要微生物生物降解性的抵抗能力,为该土遗址的保护提供依据。

参考文献

- [1] The Jiangxi Provincial Institute of Cultural Relics and Archaeology. The excavation of Lidu wine-brewing workshop in Jinxian County, Jiangxi Province[J]. Archeology, 2003(7): 42-49 (in Chinese)
江西省文物考古研究所. 江西进贤县李渡烧酒作坊遗址的发掘[J]. 考古, 2003(7): 42-49
- [2] Li WH. The research of Chengdu Shuijingjie wine workshop site ruins[J]. Sichuan Cultural Relics, 2001(6): 57-60 (in Chinese)
利文骅. 成都水井街酒坊遗址的研究探讨[J]. 四川文物, 2001(6): 57-60
- [3] Zhao SJ. Research on damage reasons and chemical protection of earthen ruins in Gaochang[D]. Xi'an: Master's Thesis of Xi'an University of Architecture and Technology, 2008 (in Chinese)
赵胜杰. 高昌故城土遗址病害分析及化学保护研究[D]. 西安: 西安建筑科技大学硕士学位论文, 2008
- [4] Wang XD. China's drought environment soil site protection key technology research[J]. Dunhuang Research, 2008(6): 6-12 (in Chinese)
王旭东. 中国干旱环境中土遗址保护关键技术研究新进展[J]. 敦煌研究, 2008(6): 6-12
- [5] Cappitelli F, Zanardini E, Sorlini C. The biodeterioration of synthetic resins used in conservation[J]. Macromolecular Bioscience, 2004, 4(4): 399-406
- [6] Cappitelli F, Sorlini C. Microorganisms attack synthetic polymers in items representing our cultural heritage[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2008, 74(3): 564-569
- [7] Embley TM, Stackebrandt E. The molecular phylogeny and systematics of the actinomycetes[J]. Annual Review of Microbiology, 1994, 48: 257-289
- [8] Xiong T, Xiao M, Zeng ZL, et al. Molecular identification of isolate of *Lactarius deliciosus* by ITS analysis[J]. Microbiology China, 2006, 33(4): 1-4 (in Chinese)
熊涛, 肖满, 曾哲灵, 等. 松乳菇组织分离菌株的 rDNA ITS 序列分子鉴定[J]. 微生物学通报, 2006, 33(4): 1-4
- [9] Landeweert R, Leeftang P, Kuyper TW, et al. Molecular

- identification of ectomycorrhizal mycelium in soil horizons[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(1): 327-333
- [10] Huang SP, Li YH, Xiao YP, et al. Studies on the prevention and control of biological damage in Tang Hanguang Entrance remains[J]. Sciences of Conservation and Archaeology, 2010, 22(2): 6-11 (in Chinese)
黄四平, 李玉虎, 肖娅萍, 等. 生物病害对唐皇城含光门土遗址的危害及防治措施研究[J]. 文物保护与考古科学, 2010, 22(2): 6-11
- [11] Liu MQ, Chen XY, Guo JH, et al. Soil biota on soil organic carbon stabilization[J]. Advances in Earth Science, 2007, 22(2): 152-158 (in Chinese)
刘满强, 陈小云, 郭菊花, 等. 土壤生物对土壤有机碳稳定性的影响[J]. 地球科学进展, 2007, 22(2): 152-158
- [12] Tisdall JM, Oades JM. Organic matter and water-stable aggregates in soils[J]. Journal of Soil Science, 1982, 33(2): 141-163
- [13] Hugo M, Pedro Crous. *Cyphellophora catalaunica* Madrid, Gené, Guarro & Crous, sp. nov.[J]. Fungal Planet Description Sheets, 2013, 31: 273
- [14] DeVries GA, Elders MCC, Luykx MHF. Description of *Cyphellophora pluriseptata* sp. nov.[J]. Antonie van Leeuwenhoek, 1986, 52(2): 141-143
- [15] Son YM, Kang HK, Na SY, et al. Chromoblastomycosis caused by *Phialophora richardsiae*[J]. Annals of Dermatology, 2010, 22(3): 362-366
- [16] Sudduth EJ, Cumbley III AJ, Farrar WE. Phaeohyphomycosis due to *Exophiala* species: clinical spectrum of disease in humans[J]. Clinical Infectious Diseases, 1992, 15(4): 639-644

~~~~~  
(上接 p.48)

## 征 稿 简 则

### 3.3 摘要写作注意事项

3.3.1 英文摘要: 1) 建议使用第一人称, 以此可区分研究结果是引用文献还是作者得出的; 2) 建议用主动语态, 被动语态表达拖拉模糊, 尽量不用, 这样可以避免长句, 以求简单清晰; 3) 建议使用过去时态, 要求语法正确, 句子通顺; 4) 英文摘要的内容应与中文摘要一致, 但可比中文摘要更详尽, 写完后务必请英文较好且专业知识强的专家审阅定稿后再返回编辑部。5) 摘要中不要使用缩写语, 除非是人人皆知的, 如: DNA, ATP 等; 6) 在英文摘要中, 不要使用中文字体标点符号。

3.3.2 关键词: 应明确、具体, 一些模糊、笼统的词语最好不用, 如基因、表达……

## 4 特别说明

### 4.1 关于测序类论文

凡涉及测定 DNA、RNA 或蛋白质序列的论文, 请先通过国际基因库 EMBL (欧洲) 或 GenBank (美国) 或 DDBJ (日本), 申请得到国际基因库登录号 (Accession No.) 后再投来。

### 4.2 关于版权

4.2.1 本刊只接受未公开发表的文章, 请勿一稿两投。

4.2.2 凡在本刊通过审稿、同意刊出的文章, 所有形式的 (即各种文字、各种介质的) 版权均属本刊编辑部所有。作者如有异议, 敬请事先声明。

4.2.3 对录用的稿件编辑部有权进行文字加工, 但如涉及内容的大量改动, 将请作者过目同意。

4.2.4 文责自负。作者必须保证论文的真实性, 因抄袭剽窃、弄虚作假等行为引发的一切后果, 由作者自负。

### 4.3 审稿程序及提前发表

4.3.1 来稿刊登与否由编委会最后审定。对不录用的稿件, 一般在收稿 2 个月之内通过 E-mail 说明原因, 作者登陆我刊系统也可查看。稿件经过初审、终审通过后, 作者根据编辑部返回的退修意见进行修改补充, 然后以投稿时的用户名和密码登陆我刊系统上传修改稿, 待编辑部复审后将给作者发稿件录用通知单, 稿件按照投稿先后排队发表。

4.3.2 对投稿的个人和单位一视同仁。坚持文稿质量为唯一标准, 对稿件采取择优先登的原则。

## 5 发表费及稿费

论文一经录用, 将在发表前根据版面收取一定的发表费并酌付稿酬、赠送样刊。

## 6 联系方式

地址: 北京市朝阳区北辰西路 1 号院 3 号中国科学院微生物研究所《微生物学通报》编辑部(100101)

Tel: 010-64807511; E-mail: tongbao@im.ac.cn; 网址: <http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>