



夏季故宫养心殿空气中真菌的调查与分析

张国庆*, 王方, 李根, 任萌

故宫博物院文保科技部, 北京 100009

张国庆, 王方, 李根, 任萌. 夏季故宫养心殿空气中真菌的调查与分析. 微生物学报, 2022, 62(11): 4397–4413.

Zhang Guoqing, Wang Fang, Li Gen, Ren Meng. An investigation and analysis of airborne fungi in summer in the Hall of Mental Cultivation of the Forbidden City. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(11): 4397–4413.

摘要: 【目的】在无法实现洁净环境的古建筑内, 文物易遭受霉菌的破坏, 尤其是在闷热的夏季。探明空气中真菌的种类对文物、游客的安全具有重要意义。【方法】采用自然沉降法与撞击法对夏季养心殿正殿内代表性的 6 个取样位置的气生真菌进行培养并进行 ITS1 rDNA 序列分析。

【结果】利用自然沉降法测得气生真菌 22 种, 以枝孢属(*Cladosporium*)、曲霉属(*Aspergillus*)和青霉属(*Penicillium*)为优势类群, 在 2 个位置(佛堂二层与西暖阁)空气真菌污染超标; 而撞击法测得 100 余种, 腐生营养型真菌比例较高, 优势类群为链格孢属(*Alternaria*)、*Cladosporium*、木霉属(*Trichoderma*)、根霉属(*Rhizopus*)、*Aspergillus* 和 *Penicillium*, 所有 6 个位置均超标。通过对环境因子与真菌多样性的相关性分析发现, 养心殿内真菌丰度与温度、湿度及悬浮颗粒物有着密切关系。在相对湿度较低的 6 月, 温度对丰度影响较大; 高湿度时, 悬浮颗粒物与湿度对真菌丰度影响更大。丝状真菌的丰度与小粒径悬浮颗粒物、相对湿度存在显著正相关, 而空气中的酵母菌与温度相关性更高。【结论】本研究对养心殿正殿空气中真菌的种属进行了鉴定, 并分析了与环境因子的相关性, 为预防、开放展览以及修缮提供了科学依据。

关键词: 养心殿; 夏季; 气生真菌; 沉降; 悬浮; 预防性保护

基金项目: 故宫博物院养心殿研究性保护项目(KTYXD 2016-14)

Supported by the Research Fund of the Hall of Mental Cultivation Protective Conservation Project, the Palace Museum (KTYXD 2016-14)

*Corresponding author. Tel: +86-10-85007290; E-mail: zhangguoqing@dpm.org.cn

Received: 8 March 2022; Revised: 17 May 2022; Published online: 13 June 2022

An investigation and analysis of airborne fungi in summer in the Hall of Mental Cultivation of the Forbidden City

ZHANG Guoqing*, WANG Fang, LI Gen, REN Meng

Department of Conservation and Science, the Palace Museum, Beijing 100009, China

Abstract: [Objective] In the natural environment in ancient buildings, cultural relics are vulnerable to mold, especially in the sweltering summer. Therefore, it is important for protecting cultural relics and visitors there to find out the species of airborne fungi. [Methods] We employed the natural precipitation method and the impacting method to collect samples of six representative sites in the main hall of the Hall of Mental Cultivation in summer and analyzed ITS1 rDNA sequences of the airborne fungi. [Results] A total of 22 species of airborne fungi were yielded with the natural precipitation method, which were dominated by *Cladosporium*, *Aspergillus*, and *Penicillium*. At two sites (the second floor of the Buddha Hall and the West Chamber), the count of airborne fungi exceeded the standard. The impacting method measured over 100 species and a large proportion of them were saprophytes. The dominant taxa were *Alternaria*, *Cladosporium*, *Trichoderma*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, and *Penicillium*. At all the six sites, the count of fungal communities was above the standard. As for the correlation between environmental factors and fungal diversity, the abundance of fungi was in close relationship with the temperature, humidity, and suspended particulate matter in the Hall. In June when relative humidity is low, temperature had great impact on abundance. In the instance of high humidity, suspended particulate matter and humidity had greater effect on fungal abundance. The abundance of filamentous fungi was in significantly positive correlation with small suspended particulate matter and relative humidity, while the airborne yeast had a higher correlation with temperature. [Conclusion] This study identifies the species of airborne fungi in the main hall of the Hall of Mental Cultivation and analyzes the correlation with environmental factors, which lays a scientific basis for the prevention, exhibition, and preservation.

Keywords: the Hall of Mental Cultivation; summer; airborne fungi; precipitation; suspension; preventive conservation

养心殿位于紫禁城中轴线以西，始建于明嘉靖十六年(1537年)，殿名“养心”二字出自《孟子》的“养心莫善于寡欲”。随着王朝更迭，其功能也发生着变化。自清雍正元年起，养心殿取代乾清宫，成为皇帝的寝宫和日常理政场所，变成清代宫廷政治活动的中心。自故宫博物院建院以来，养心殿一直维持着清宫原状，殿内陈列文物众多，且不乏精美的书画、纺织品、木器等有机质文物。

空气中微生物孢子数量可以达到 200 000 个/m³[1]，其中包含种类繁多的真菌孢子。部分真菌孢子容易引起人类感染真菌性疾病；

部分(如霉菌)会沉降并粘附到文物表面，破坏文物结构，污染文物表面，是馆藏文物霉菌的主要来源。博物馆的真菌研究，起初更多的是针对文物本体霉菌的研究与防治[2-4]；后来也开始关注文物保存环境的空气中真菌分布的研究[5-9]。对空气中微生物的研究已有上百年的历史，现空气微生物的采集检测方法有沉降法与撞击法 2 种。自然沉降法是最早的研究方法，使用较为普遍，可获得沉降菌落的数量，可以反映真菌孢子落到文物表面的自然状态。但该方法受周围环境因素影响大，粒径小、沉降速度慢的微生物气溶胶颗粒很难采集到。撞击

法利用采样器的抽气动力, 使其不受气流影响, 可以采集各种不同粒径的颗粒物气溶胶粒子。

通常夏季的空气中真菌浓度要比冬季高^[10]。而且根据以往记录, 故宫古建筑室内夏季易出现高温高湿的情况^[11], 这都有利于霉菌的滋生。因此夏季成为霉变发生的高峰期。本研究同时采用自然沉降法与撞击法对夏季故宫养心殿正殿空气中的真菌进行调查研究, 了解殿内微生物与环境状况, 也为其他古建筑微生物环境研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

沙氏琼脂培养基(北京陆桥), 培养皿($\Phi=9$ cm), 高效空气过滤浮游菌采样器(Active Count 100H, Lighthouse), 恒温培养箱(MJX-250BIII, Taisite), 空气质量检测仪(AdvancedSensed, GrayWolf)及颗粒物检测仪(GW-3016, GrayWolf)。

1.2 采集方法

自然沉降法: 将沙氏琼脂培养基放置于待测区域平面上承接沉降菌, 东暖阁(DNG)、明间(MJ)、西暖阁(XNG)、三希堂(SXT)以及佛堂(FT)的一层(FT1)与二层(FT2)各设置 3 个采样点, 每个采样点采集时间为 5 min (图 1)。采集后的培养基, 置于 25 °C 的培养箱内, 培养 48 h 后, 记录菌落数量。采集时间为 2020 年 6 月–8 月, 每个月采集一次。

撞击法: 将沙氏琼脂培养基放置于浮游菌采样器中, 采样器气流流速为 10 L/min, 采样时间为 5 min, 采样点如图 1 所示。完成后置于 25 °C 的培养箱内, 培养 48 h 后, 记录菌落数。采集时间为 2020 年夏季 6 月–8 月, 每个月采集 1 次。

以上 2 种方法培养得到的平皿菌落数量按照公式(1)计算空气总菌落数。

$$N = \frac{50\,000 \times n}{s \times t} \quad \text{公式(1)}$$

N : 空气总菌落数; s : 平板面积, cm^2 ; t : 暴露时间, min; n : 平皿菌落数; 50 000 为系数。

1.3 菌种鉴定方法

对所得的沉降菌落依据形态进行分离纯化, 得到优势菌株, 转移至无菌康宁管中。而撞击法采集的样品计数后, 转移至无菌康宁管中。采用 CTAB 法对样本的基因组 DNA 进行提取, 之后利用琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的纯度和浓度, 取适量的样本 DNA 于离心管中, 使用无菌水稀释样本至 1 ng/ μL 。以稀释后的基因组 DNA 为模板, 使用带 barcode 的通用引物(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')扩增 ITS1 rDNA 片段。利用 New England Biolabs 公司的 Phusion[®] High-Fidelity PCR Master Mix with GC Buffer 和高效高保真酶进行 PCR。PCR 反应体系(30 μL)包括: Phusion Master Mix (2 \times) 15 μL 、上下游引物(2 $\mu\text{mol/L}$)各 1.5 μL 、基因组 DNA (1 ng/ μL) 10 μL 、灭菌双蒸水 (2 μL); 扩增反应程序: 94 °C 5 min; 94 °C 1 min, 55 °C 1 min, 72 °C 1.5 min, 35 个循环; 72 °C 10 min。使用浓度 2%的琼脂糖凝胶对 PCR 产物进行电泳检测; 根据 PCR 产物浓度进行等量混样, 充分混匀后使用 1 \times TAE 缓冲液浓度 2%的琼脂糖胶电泳纯化 PCR 产物, 剪切回收目标条带。使用 Thermo Scientific 公司 GeneJET 胶回收试剂盒回收产物。使用 ThermoFisher 公司的 Ion Plus Fragment Library Kit 48 rxns 文库试剂盒进行文库的构建, 构建好的文库经过 Qubit 定量和文库检测合格后, 在 ThermoFisher 的 Ion S5TM XL 高通量测序平台上进行测序。用 Qiime (version 1.9.1)中的 BLAST 方法与 UNITE (version 7.2)数据库进行物种注释分析, 统计各样本的群落组成。使用 MAGE-X 软件进行快速多序列比对, 分析样品

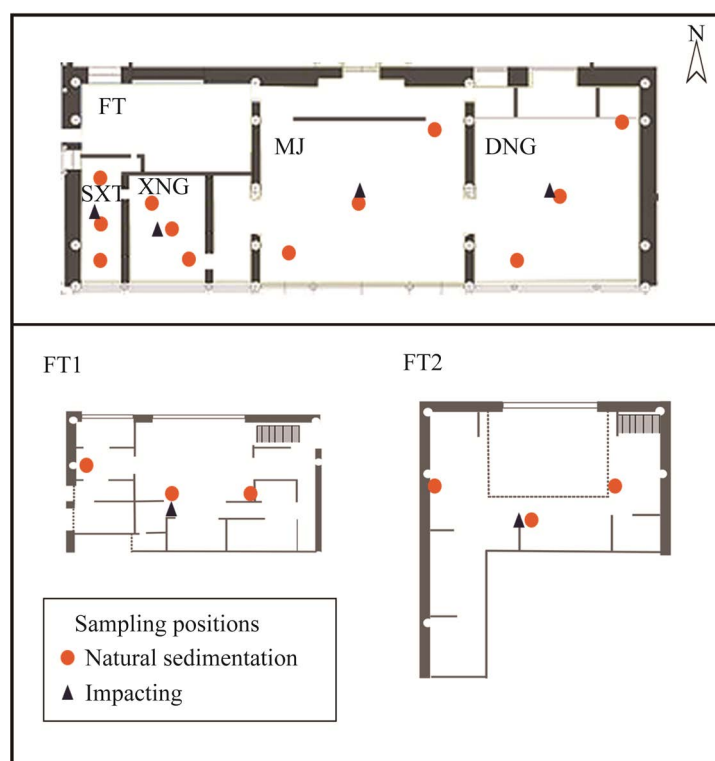


图 1 采样位置示意图

Figure 1 Schematic of sampling positions. DNG, MJ, XNG, SXT, FT (FT1, FT2) are the name of sampling positions: Dongnuange, Mingjian, Xinuange, Sanxitang, Fotang (the first and second floor), respectively. Circles and triangles represent different sampling methods.

中菌种的系统发生关系。

1.4 环境监测方法

空气中的悬浮颗粒物是指直径小于 100 μm 的悬浮颗粒，按照直径分类的大小分为 $\text{PM}_{0.5}$ 、 $\text{PM}_{1.0}$ 、 $\text{PM}_{2.5}$ 、 $\text{PM}_{5.0}$ 、 $\text{PM}_{10.0}$ 等几个级别，总颗粒物悬浮物则称为 TPM。利用 GrayWolf Advanced Sensed 空气质量检测仪记录温度、湿度，GrayWolf GW3016 颗粒物检测仪对养心殿正殿 6 个区域进行检测。温度、湿度与颗粒物检测与微生物采集同时进行，设置 3 次重复检测。

2 结果与分析

2.1 真菌数量

在《GB 9669—1996 图书馆、博物馆、美

术馆、展览馆卫生标准》中，自然沉降法的检测限以平皿中菌落数量衡量，即每皿不得超过 30 个菌落(图 2)。将其代入公式(1)可得自然沉降法检出最高标准约为 4 718 CFU/m^3 。按此标准只有 FT2 与 XNG 超过此标准，FT1 也接近此值。其中 FT2 同数量最少的 DNG 和 SXT 存在显著差异($P < 0.05$)(图 3)。

撞击法在各区域内获得的菌落数量都明显高于自然沉降法，存在极显著的差异($P < 0.01$)。各区域的菌落量均超过 GB 9669—1996 的标准值 2 600 CFU/m^3 ，其中菌落数最多的 FT2 多达 30 000 CFU/m^3 (图 3)，与其他区域都存在极其显著的差异($P < 0.001$)(图 3)。其他区域内菌落量差异不显著($P > 0.05$)。

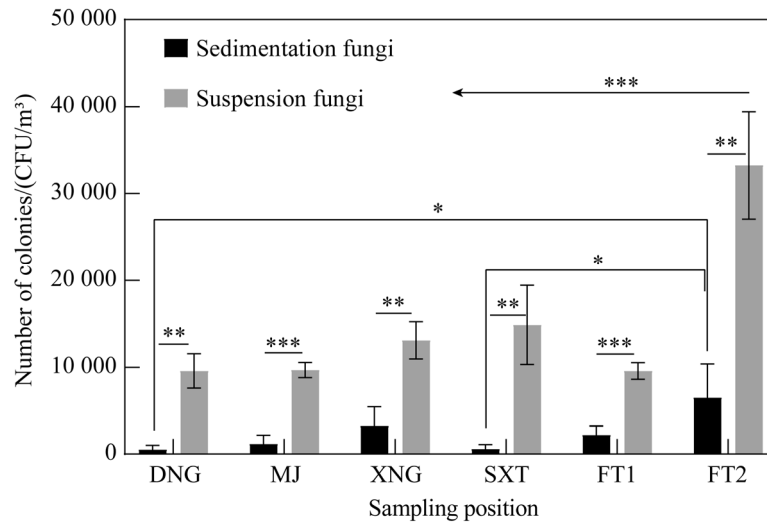


图 2 不同区域的菌落数量

Figure 2 The number of colonies in different sites. The abscissa is the name of sampling position; the ordinate is the number of the colonies; columns of different colors represent different methods. *: a significant difference $P < 0.05$; **: a significant difference $P < 0.01$; ***: a significant difference $P < 0.001$.

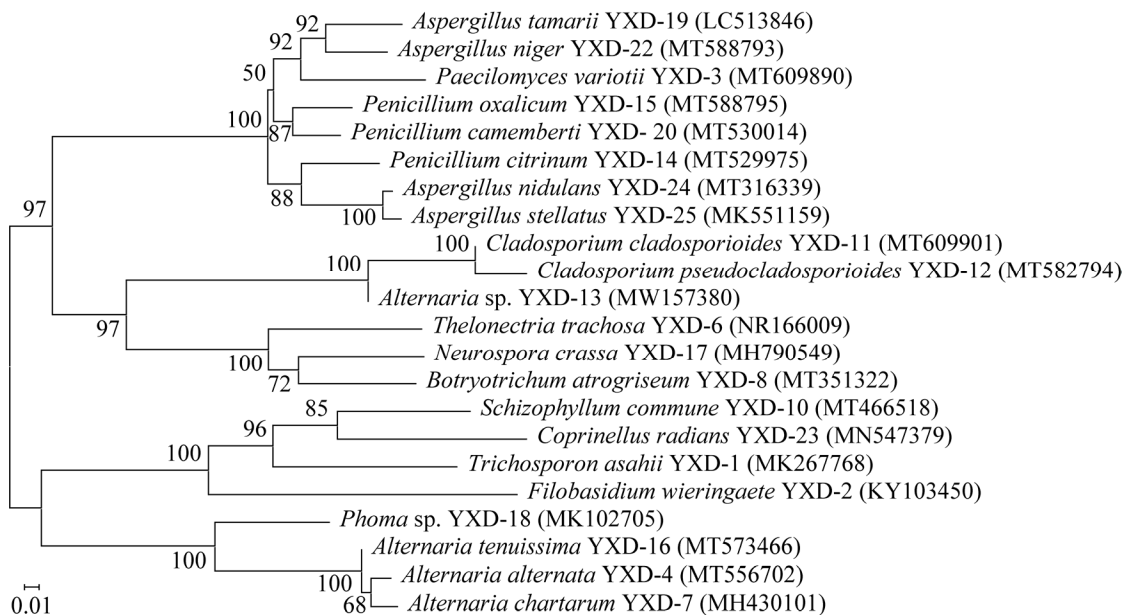


图 3 基于沉降菌种 ITS1 rDNA 基因序列构建的系统发育进化树

Figure 3 Phylogenetic tree based on ITS1 rDNA gene sequence of sedimentation fungi. The accession numbers of the sequences in GenBank were shown in parentheses, the number at nodes of tree indicates bootstrap confidence. The length of branches represents the evolutionary distance.

2.2 真菌多样性

对养心殿采集的沉降真菌进行分离培养，选出优势真菌 22 株。通过 Ion S5™ XL 高通量测序平台对养心殿菌株 ITS1 rDNA 序列进行测

序，将所得序列上传至 NCBI 数据库进行比对，其匹配度达 100%，并绘制系统发育树(图 4)。分离菌株中以 *Penicillium*、*Aspergillus* 和 *Alternaria* 为主。

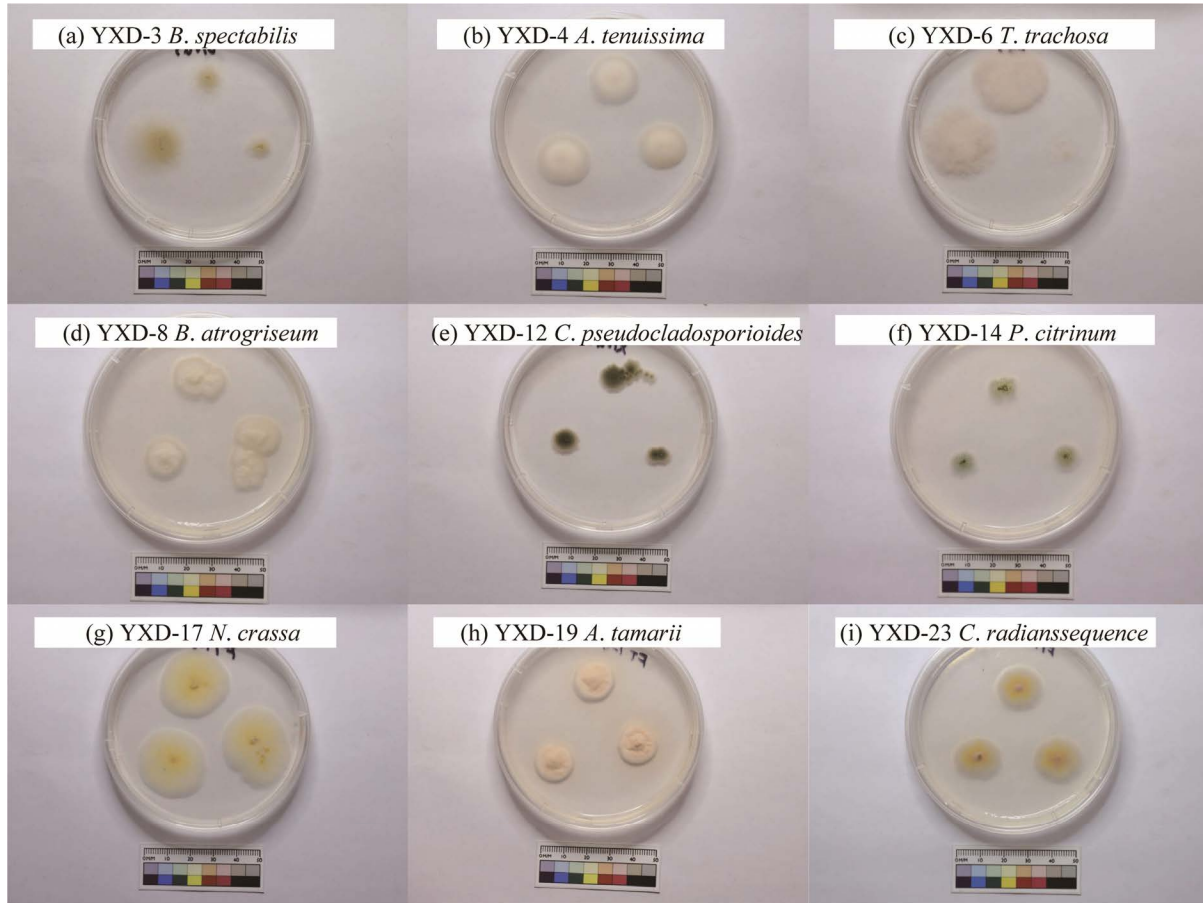


图 4 部分沉降菌菌落

Figure 4 Colonies sedimentation fungi.

撞击法获得的悬浮菌样品经 Ion S5™ XL 高通量测序后, 采用 α 多样性分析, 对养心殿内的真核微生物群落结构组成进行表征, 包括物种 Shannon 多样性指数 (H')、Simpson 多样性指数 (D)、丰富度指数 (Chao1) 和 ACE 指数。样品测序

后, 共获 97% 相似水平及以上的操作分类单元 (operational taxonomic units, OTUs) 有 659 个, 且对真菌群落覆盖率达到 99% (表 1), 说明所测结果与样本中真实菌群高度一致, 统计学上具有较高的可信度。

表 1 悬浮真菌群落多样性指数分析

Table 1 Analysis on diversity index of fungi community

Position	No.	Similarity level of 97%					
		Observed species	Shannon	Simpson	Chao1	ACE	Coverage
DNG	DNG	120	4.189	0.891	139.748	139.212	0.998
MJ	MJ	160	4.274	0.875	208.274	203.279	0.997
XNG	XNG	148	4.260	0.888	174.154	172.520	0.998
SXT	SXT	161	4.868	0.931	183.338	181.134	0.998
FT1	FT1	167	5.095	0.928	180.793	183.438	0.999
FT2	FT2	180	4.085	0.817	217.298	210.531	0.998

分析不同组样本 OTUs 组成的相互关系, 构建韦恩图(图 5)。6 组样本中共有 OTUs 数量为 140 个, 分别占 DNG、MJ、XNG、SXT、FT1、FT2 各自 OTUs 数量的 94.59%、75.27%、88.05%、73.68%、80.00%、86.96%。通过与 UNITE 数据库比对进行物种注释, 共获得 70 科, 90 属, 111 个种, 所有已鉴定菌种丰度占总量的 53.99%。相对丰度超过 0.1% 的有 24 个属, 如表 2 所示。在属水平上的优势类群为 *Alternaria*、*Rhizopus*、汉纳酵母属 (*Hannaella*) 等; 其中 *Cladosporium*、*Aspergillus*、*Penicillium*、*Trichoderma*、毛霉属 (*Mucor*) 等, 都是威胁文物安全的丝状真菌。

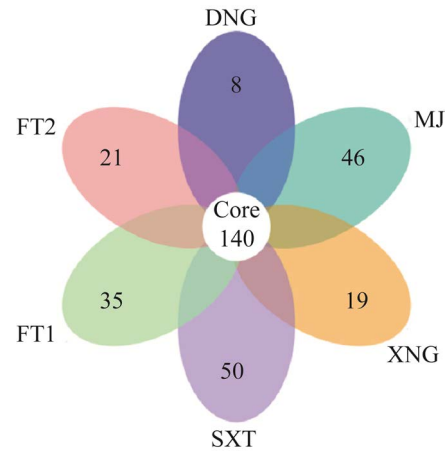


图 5 不同样本组 OTUs 分布 Venn 图
Figure 5 Venn figure of OTUs distribution of different sample groups. DNG, MJ, XNG, SXT, FT1, FT2 represent the name of sampling positions.

表 2 相对丰度>0.1%的优势真核菌属

Table 2 Dominant eukaryotic genera with relative abundance >0.1%

Genus	Relative abundance/%	Number of species
<i>Alternaria</i>	14.37	1
<i>Hannaella</i>	13.90	4
<i>Rhizopus</i>	6.42	3
<i>Cladosporium</i>	4.79	3
<i>Aspergillus</i>	3.14	13
<i>Naganishia</i>	3.01	3
<i>Penicillium</i>	2.41	8
<i>Papiliotrema</i>	2.05	5
<i>Neurospora</i>	1.80	1
<i>Rhodotorula</i>	1.31	1
<i>Filobasidium</i>	1.16	1
<i>Trichoderma</i>	0.87	2
<i>Trichosporon</i>	0.79	1
<i>Sporidiobolus</i>	0.67	1
<i>Rhodosporidiobolus</i>	0.66	2
<i>Fusarium</i>	0.60	5
<i>Aureobasidium</i>	0.56	2
<i>Schizophyllum</i>	0.49	1
<i>Mucor</i>	0.46	2
<i>Vishniacozyma</i>	0.34	1
<i>Chaetomium</i>	0.25	1
<i>Choanephora</i>	0.21	1
<i>Issatchenkia</i>	0.11	1
<i>Vanrija</i>	0.11	1

所有已鉴定菌种中, 前 35 个菌种丰度大于 0.1%, 占总量的 52%, 剩余已鉴定菌种丰度为 1.4%。优势种为交链孢霉(*Alternaria alternata*)、少根根霉(*Rhizopus arrhizus*)、微黄汉纳酵母(*Hannaella luteola*), 其中 *A. alternata* 比例最高, 达 14.36%。从图 6 可见, 不同区域内菌种的聚集程度不尽相同。优势菌 *A. alternata* 在 6 个区域内都有较高丰度, 其次都有较高聚集的是 *Cladosporium chasmanthicola*、*R. arrhizus*。青霉、曲霉在西侧区域(XNG、SXT、FT1 与 FT2) 丰度较高。DNG 内 *H. luteola*、*C. chasmanthicola* 聚集较多, MJ 中 *R. arrhizus* 具有明显优势。SXT 与 FT 虽然都是 XNG 分隔而来, 但其中的真菌丰度并不相同。XNG 中粗糙链孢霉(*Neurospora crassa*)、*H. luteola*、总状毛

霉(*Mucor racemosus*)、金黄隐球酵母(*Papiliotrema flavescens*)等具有明显优势, SXT 聚集了更多的阿氏丝孢酵母(*Trichosporon asahii*)、东方伊萨酵母(*Issatchenkia orientalis*)、鲑色锁掷酵母(*Sporidiobolus salmonicolor*)及 *Aspergillus* 和 *Penicillium*。FT 的两层间的菌种丰度大致相同, 但也有差异, FT2 内 *A. alternata*、黑曲霉(*Aspergillus niger*)、*P. favescens*、日本曲霉(*A. japonicus*)、产红青霉(*P. rubens*)等丰度更高, 而 FT1 内 *H. luteola* 与 *Cladosporium xanthochromaticum* 聚集较多。物种丰度聚类热图更加直观地展现了不同空间内霉菌的聚集情况, 便于检查不易发现的文物霉变, 有助于更有针对性、更加科学地做文物霉菌防治。

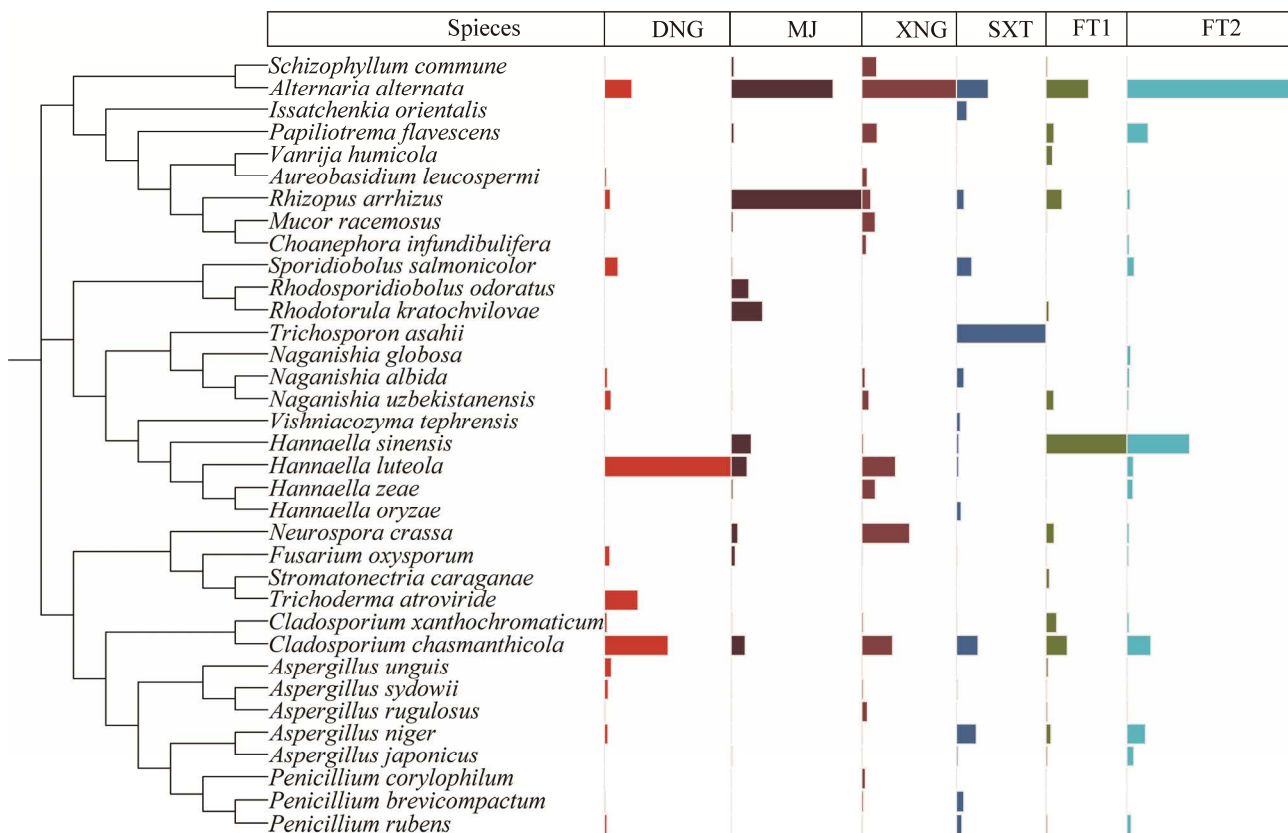


图 6 优势悬浮真菌与其在各个区域的丰度

Figure 6 Phylogenetic tree and abundance of suspended fungi with each position. The abscissa is the name of sampling position, and the ordinate is the species name. The relative abundance of different species in each position is displayed by the color block.

FunGuild 是基于已有文献的支持, 对真菌的生态功能进行归类而构建成的真菌环境功能数据库, 现已涵盖了超过 13 000 个真菌的功能注释信息^[12]。养心殿空气悬浮真菌测序所得的 659 个 OTUs 中, 共有 100 个 OTUs 为微真菌 (microfungus)。微真菌中经 FUNGuild 鉴定为腐生营养型(saprotroph)的占 92%, 除一个鉴定结果可信度(confidence ranking)为“probable”的土壤腐生菌 (soil saprotroph) 外, 都为“possible”; 有 3 个 OTUs 为鉴定结果可信度“probable”的植物病原菌(plant pathogen)。没有大型子实体的腐生微真菌对文物有着很高的破坏性。在所有 OTUs 的鉴定结果中, 具有动物致病性(animal pathogen)的有 12 个, 可信度为“probable” (66.67%)和“possible”(33.33%); 具有植物致病性的 20 个, 可信度为“probable”。

对各样本的 FunGuild 分析如图 7 所示, 在所有样品中以腐生营养型和病理营养型为主, 依然有相当大的比例尚未有功能注释信息。随

着时间推移, 室内空气中真菌的功能发生了变化, 功能更为多样, 腐生营养型比例逐渐增加。正殿的西侧区域布局复杂, XNG 与 FT、SXT 与 FT 的空气中真菌有着显著差异功能 ($P<0.05$)。

2.3 养心殿室内环境与真菌的关系

2.3.1 养心殿室内环境

从调查结果看, 正殿内各区域的温湿度大致相同, 具体数值因采集点位置不同而有些许差异。自 6 月室内 T 已超过 25 °C, 接近 30 °C。7 月, 室内 RH 处于较高水平, 8 月检测的空气 RH 接近 70%。

养心殿夏季的室内悬浮颗粒物处于较高水平($PM_{2.5}$ 与 $PM_{10.0}$ 高于 AQG 2005 的 24 h 标准值 25 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, 50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$), 而且逐月升高。8 月份多个区域的 $PM_{2.5}$ 超过了 35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 。不同区域内悬浮颗粒物分布不同, 其中 FT 的大粒径颗粒物显著多于其他区域; 8 月份 DNG 区域的大粒径颗粒物也有升高(图 8)。

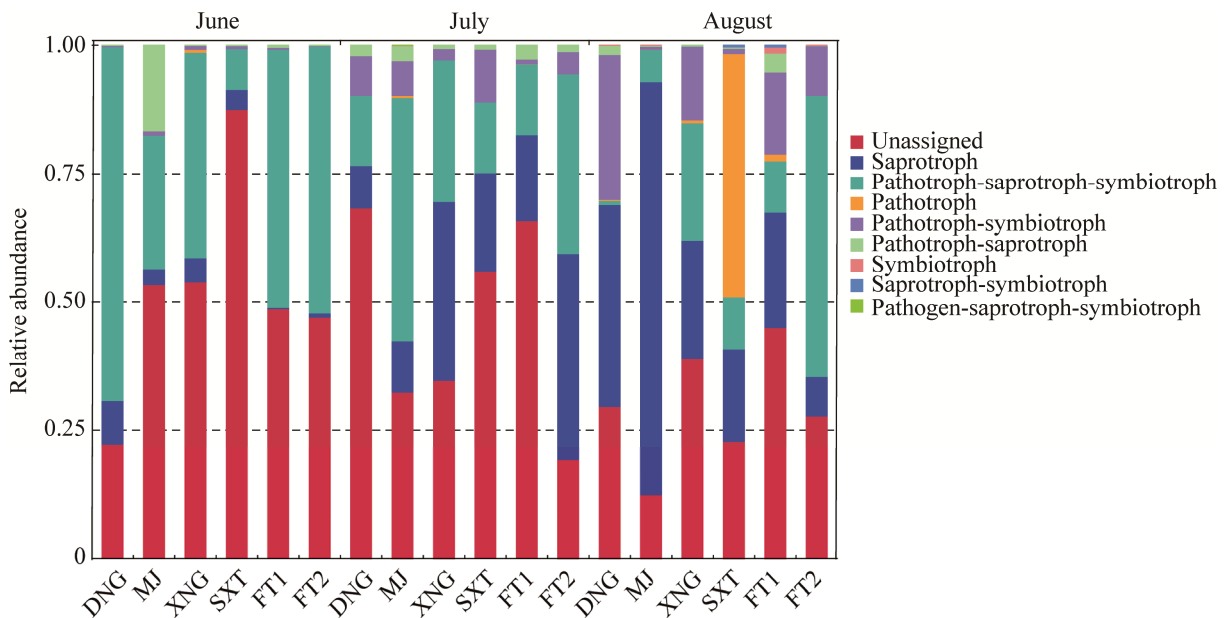


图 7 悬浮真菌的功能预测

Figure 7 Functional prediction of suspended fungi. The lower abscissa is the name of sampling position, the upper abscissa is the time of sampling, and the ordinate is the relative abundance. The function of different species is displayed by the color block. The function represented by the color is on the right side of the figure.

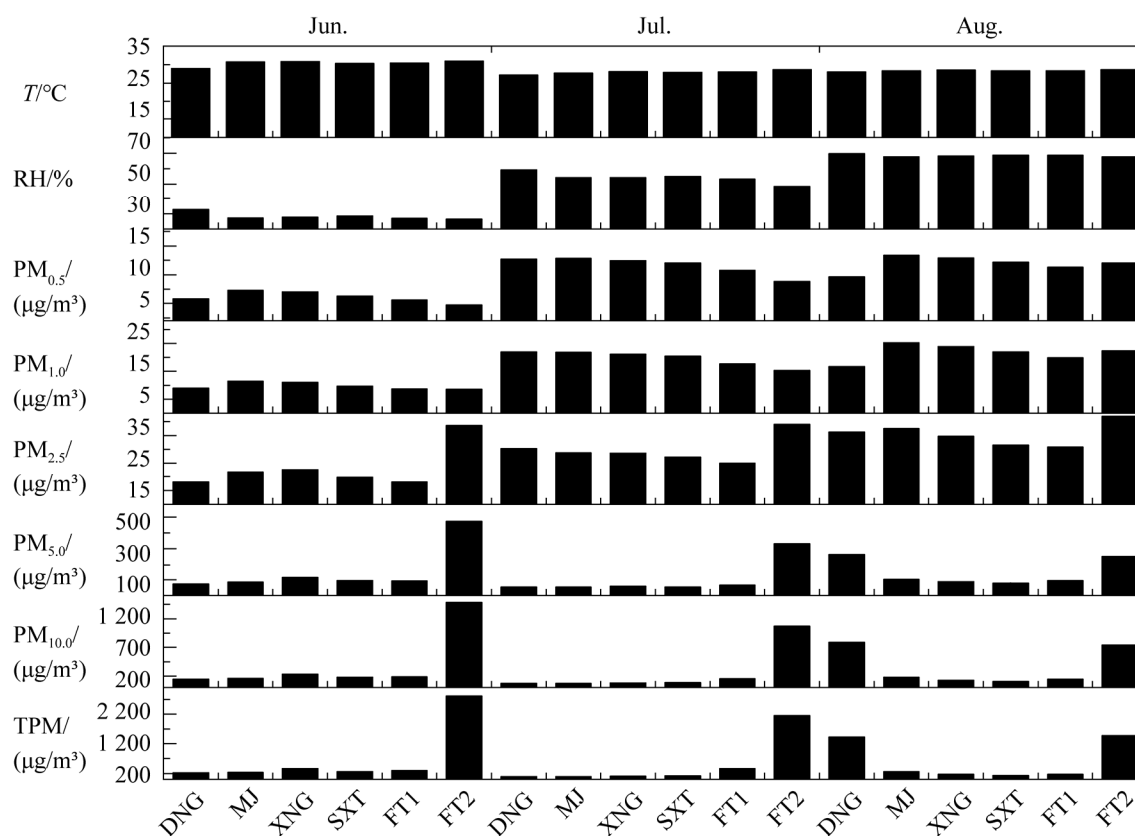


图 8 养心殿内温度、湿度与空气悬浮颗粒物

Figure 8 Temperature, relative humidity, and airborne particulate matter in the Hall of Mental Cultivation. The lower abscissa is the name of detection position, the upper abscissa is the time of sampling, and the ordinate is the environment factor. RH: relative humidity; T: temperature; $PM_{0.5}$, $PM_{1.0}$, $PM_{2.5}$, $PM_{5.0}$, $PM_{10.0}$, represent particulate matter with a particle size of 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 10 μm ; TPM represents total particulate matter; June, July, August represent the time of sampling. The value of environment factors is displayed by the block.

2.3.2 环境因子与真菌的关系

利用 Canoco (version 5)对每个区域的沉降真菌量与环境因素进行决策曲线分析法 (decision curve analysis, DCA)分析, 得到最长梯度长度为 0.6, 因此需选取冗余分析 (redundancy analysis, RDA)方法对沉降真菌量与 T、RH 以及不同粒径的悬浮物等环境因子进行分析(图 9A)。两轴的相关系数分别为 0.938 4 和 0.766 2, 物种-环境相关性较高, 环境变量解释了沉降真菌 74.2%的菌落变化。依据分析结果, 尽管自然沉降法采集的真菌菌落是因重力原因沉降的, 但是普遍与小粒径的颗粒物

$PM_{0.5}$ 、 $PM_{1.0}$ 以及 RH 呈正相关。但是 FT2 与大粒径的颗粒物呈正相关, 可能与走动带起较大的尘土沉降相关。不同采样时间所得的菌落数也同小粒径的颗粒物 $PM_{0.5}$ 、 $PM_{1.0}$ 以及 RH 呈正相关, 其中六月份相关性最大。

利用 Canoco (version 5)对悬浮真菌丰度及不同粒径的悬浮物与 T、RH 进行冗余分析。DCA 分析所得的最长梯度长度为 3.35, 因此也可以使用 RDA 进行冗余分析(图 9B)。两轴的相关系数分别为 0.991 9 和 0.978 3, 物种-环境相关性较高, 且对环境变量解释了悬浮真菌 68.5%的丰度变异, 表明结果较为可信。分析结果显示,

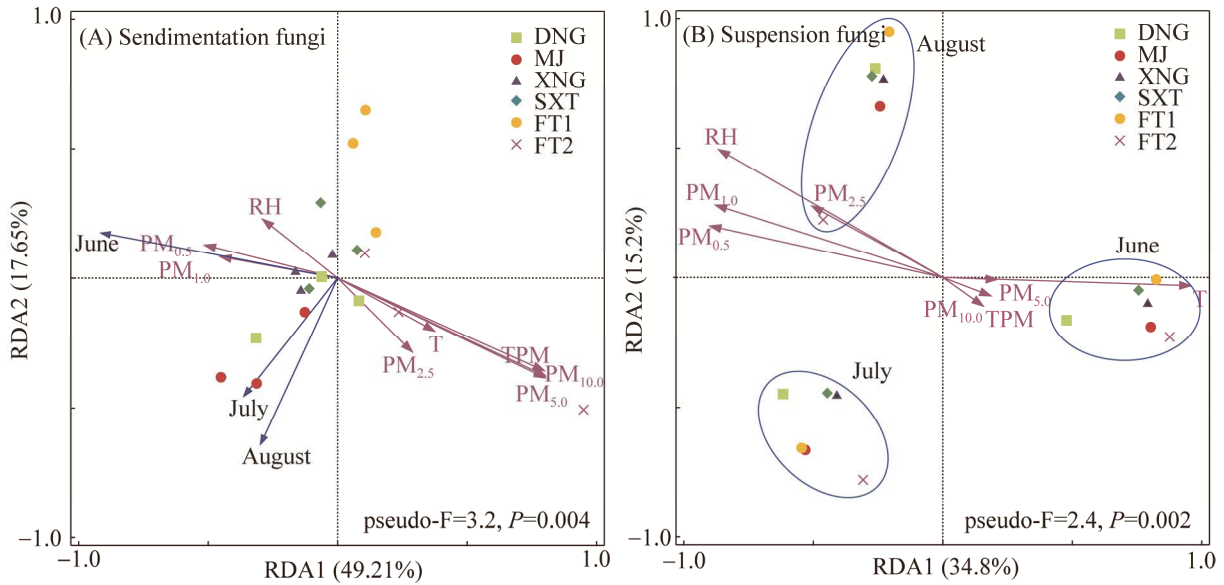


图 9 各区域真菌量与环境因子的 RDA 图

Figure 9 RDA figure between fungal abundance and environmental factors in each position RH: relative humidity; T: temperature; $PM_{0.5}$, $PM_{1.0}$, $PM_{2.5}$, $PM_{5.0}$, $PM_{10.0}$, represent particulate matter with a particle size of 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 10.0 μm ; TPM represents total particulate matter; Jun, Jul, Aug are the time of sampling. The sampling areas are shown in the legend in the upper right corner.

悬浮真菌丰度与环境的关系与采样时间有着密切关系，6 月份悬浮真菌丰度受温度影响，也与 $PM_{5.0}$ 和 $PM_{10.0}$ 大粒径颗粒物浓度呈正相关，说明这一时期大粒径孢子比例较高。7、8 月的悬浮菌的丰度与小粒径的颗粒物浓度及 RH 正相关。可能与温度、湿度升高后，小粒径的悬浮真菌孢子比例增大相关。

以 Spearman 相关系数作为量度，对空气中悬浮真菌的丰度与环境因子进行 Spearman 相关性分析，可研究环境因子与物种之间的相互变化关系^[13]。养心殿室内的丰度前 35 的悬浮真菌与环境因子的关系如图 10 所示，裂褶菌 (*Schizophyllum commune*)、*A. alternata*、尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*)、子座丛赤壳属 (*Stromatonectria caraganae*)、深绿木霉 (*Trichoderma atroviride*)、*C. xanthochromaticum*、*C. chasmanthicola*、爪甲曲霉 (*A. unguis*)、聚多曲霉 (*A. sydowii*)、褶皱曲霉 (*A. rugulosus*)、*A.*

niger、*A. japonicus*、顶青霉 (*P. corylophilum*)、短密青霉 (*P. brevicompactum*)、*P. rubens* 等丝状真菌的丰度与 RH 呈正相关，且普遍与粒径为 0.5 μm 、1.0 μm 的颗粒物密切相关。这也说明了养心殿内丝状真菌孢子粒径较小，多数小于 2.5 μm 。该部分丝状真菌丰度占总量的 31.65%。而多数酵母类真菌，包括 *P. flavescens*、香气红冬孢锁掷孢酵母 (*Rhodosporidiobolus odoratus*)、红酵母 (*Rhodotorula kratochvilovae*)、*T. asahii*、球形长西氏酵母 (*Naganishia globose*)、*Naganishia albida*、乌兹别克斯坦长西氏酵母 (*Naganishia uzbekistanensis*)、胶红酵母 (*Vishniacozyma tephrensensis*)、中国汉纳酵母 (*Hannaella sinensis*)、微黄汉纳酵母 (*Hannaella luteola*)、*Hannaella zae*、水稻汉纳酵母 (*Hannaella oryzae*) 等，与 T 呈极显著正相关，与小粒径的颗粒物极显著的负相关，而与大粒径的颗粒物具有正相关性，这部分的丰度占总量的 20.86%。

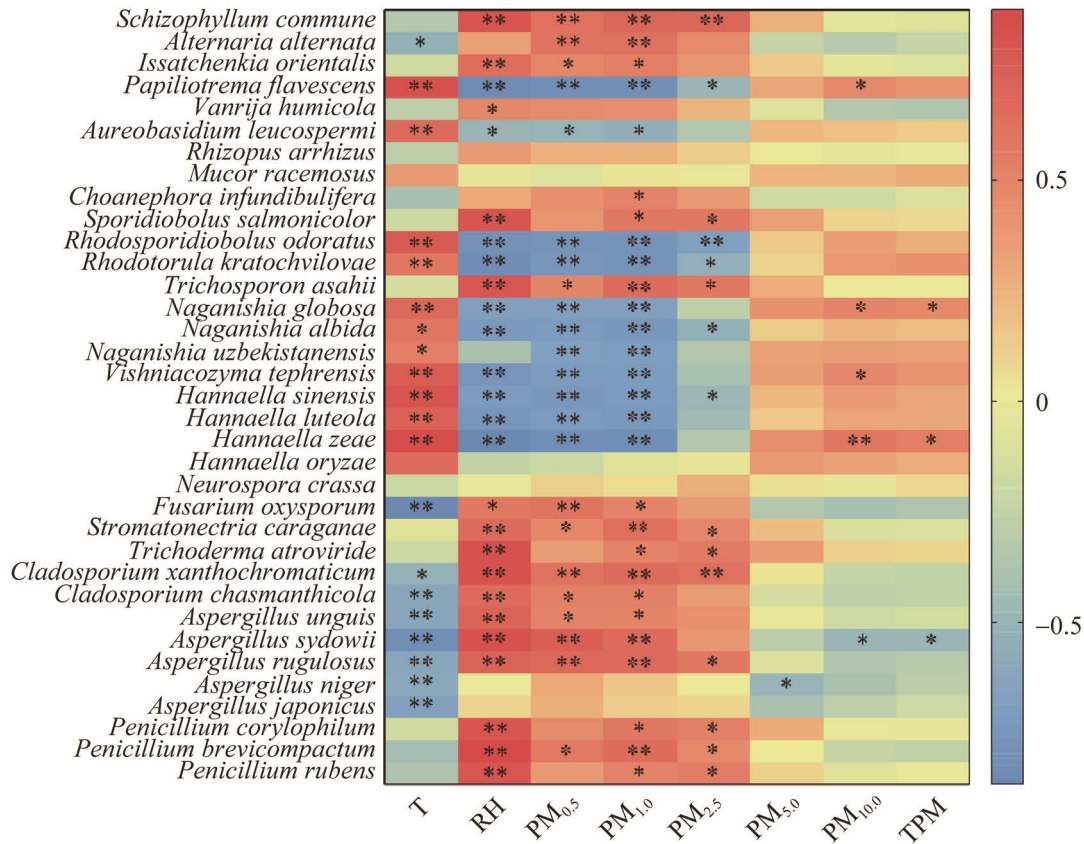


图 10 优势悬浮真菌与环境因子的关系

Figure 10 Relationship between dominant fungi and environmental factors. The abscissa is the environmental factor; the ordinate is the species name of dominant fungi. RH: relative humidity; T: temperature; PM_{0.5}, PM_{1.0}, PM_{2.5}, PM_{5.0}, PM_{10.0}, represent particulate matter with a particle size of 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 10 μm; TPM represents total particulate matter. The relationship is displayed by the color gradient of the color block, and the value is represented by the color gradient on the right side of the figure. *: a significant correlation $P < 0.05$; **: a significant correlation $P < 0.01$.

3 讨论

3.1 采样方法的选择

自然沉降法就是利用孢子在重力作用下沉降的自然过程，评估环境中的微生物数量。撞击法使用采样泵抽气，许多研究表明其采集效率更高，采集到的菌落更多，能够更高效地对微生物潜在危险进行评估。2种方法现都在博物馆展厅微生物研究中得到了应用，通常选择一种方法使用^[7,14]。但2种方法都存在一些问题，自然沉降法易受到气流影响，正如 FT2 的

沉降菌所表现出来的与 PM_{5.0} 与 PM_{10.0} 高度相关一样。而且分离纯培养时，特征相似的菌落容易混淆，比如酵母菌的菌落同细菌菌落相似，极容易出现遗漏。撞击法在微生物数量多的情况下，培养基菌落数量会与采集泵筛孔数量一致，难以体现不同区域微生物数量的多寡。若评估博物馆展厅、库房、古建筑以及遗址微生物状况，可同时应用2种方法，自然沉降法与文物的自然状态更加吻合。而撞击法因为其主动吸入的优势，更有利于对环境内的微生物种类进行调查。

3.2 真菌多样性

许多学者曾对北京室外空气的真菌分布特征进行研究, 胡利峰等对北京市多个地点采样获得空气中真菌平均浓度为 $1\ 164.8 \pm 73.2$ CFU/m³, 优势真菌为 *Cladosporium*、*Penicillium*、*Alternaria*、*Aspergillus* 和无孢菌 (nonsporing)^[15]。方治国等对夏季空气微生物进行调查, 其中优势真菌为 *Cladosporium*、*Alternaria*、nonsporing、*Penicillium* 和 *Aspergillus*, 其中 *Cladosporium* 是绝对优势菌属^[16]。顾建青等对北京城区气传真菌监测结果显示, *Alternaria*、*Cladosporium*、假格孢属 (*Nimbya*)、附球菌属 (*Epicoccum*) 及黑粉菌 (*Ustilago*) 孢子含量较多, 其中 *Alternaria* 孢子含量最高^[17]。周栀子等对北京市室内灰尘中微生物进行分析, 夏季优势类群为 *Aspergillus*、*Alternaria* 和 *Schizophyllum*^[18]。总体而言, 正殿内采集的真菌种类与已发表的北京市空气中真菌种类大致相同, 但比例上略有不同。本研究采集到的类群有 *Alternaria*、*Rhizopus*、*Cladosporium*、*Aspergillus*、*Penicillium*、木霉属 (*Trichoderma*)、镰刀菌属 (*Fusarium*)、毛霉菌 (*Mucor*)、笄霉属 (*Choanephora*)、短梗霉 (*Aureobasidium*) 等丝状真菌, 也包括 *Hannaella*、红酵母 (*Rhodotorula*)、丝孢酵母属 (*Trichosporon*)、锁掷酵母属 (*Sporidobolus*)、维希尼克氏酵母 (*Vishniacozyma*)、伊萨酵母属 (*Issatchenkia*)、范瑞吉酵母属 (*Vanrija*) 等酵母菌, 还有能够产生小型子实体的 *Schizophyllum*。其中, *A. alternata* 所占比例最高, 占绝对优势。撞击法获得了气生真菌 100 余种, 但是未鉴定种类依然占比很大, 这说明古建筑内气生真菌还需要更深入的研究。

真菌是常见吸入性变应原之一, 真菌过敏可诱发鼻炎、哮喘、肺炎以及支气管肺真菌病

等^[19]。在全世界范围内, *Alternaria*、*Cladosporium*、*Penicillium* 和 *Aspergillus* 是常见的致敏真菌^[20]。*A. alternata* 是一种常见且重要的气传致敏真菌反应原, 且研究最为充分^[21-22]。毛霉与根霉均属于毛霉目, 能够污染面包、水果等食物, 使食物霉变, 也引起毛霉病。空气中真菌不仅对人及动物具有致病、致敏性, 还会引起植物病害与文物霉变, 尤其是丝状真菌。严淑梅对全国古丝绸霉害微生物进行调查, 获得的霉菌包括 *Rhizopus*、*Mucor*、*Aspergillus*、*Penicillium*、*Cladosporium*、*Alternaria*、短梗霉 (*Aureobasidium*)、弯孢霉 (*Curvularia*)、脉孢菌 (*Neurospora*)、木霉 (*Trichoderma*) 等^[23]。天津博物馆在文物囊匣中发现毛壳菌属 (*Chaetomium*)、畸枝霉属 (*Malbranchea*)、*Aspergillus*、派伦霉属 (*Peyronellaea*) 和 *Cladosporium*^[24]。霉变的古钱币中可分离出 *A. niger*、*A. alternata*、枝状枝孢 (*C. cladosporioides*)、撕裂蜡孔菌 (*Ceriporia lacerate*)、*A. sydowii* 和瘤孢棒囊孢壳 (*Corynascus sepedonium*) 等霉菌^[25]。唐欢等在霉菌污染的馆藏纸质书画中分离的菌株以 *Aspergillus*、*Rhizopus* 和 *Trichoderma* 为主^[26]。考古遗址中也存在大量的 *Cladosporium*、*Penicillium* 和 *Alternaria*^[5,27]。霉菌对有机质文物有着很强的破坏力, 因为霉菌生长过程中可以分泌蛋白酶、纤维素酶等分解蛋白质与纤维素, 如 *Spergillus niger*、毛壳菌 (*Chaetomium cellulolyticum*)、尖刀镰孢菌 (*Fusarium oxysporum*)、脉孢菌 (*Neurospora crassai*) 能够降解纤维素, 引起软腐病^[28]。清代《牧牛图》分离得到的 *Rhizopus oryzae* 与 *Schizophyllum commune* 可分泌酯酶、类脂酯酶以及 N-乙酰-β-氨基葡萄糖苷酶等胞外酶水解造纸纤维细胞壁中脂类和多糖类物质、颜料中的胶料以及镶料

绢丝中的蛋白质^[29]。研究表明,霉菌可以产生有机酸类物质,如黑根霉(*Rhizopus nigricans*)、*Penicillium*、*Chaetomium globosum*、*Mucor*、*A. alternata*、黄曲霉(*A. flavus*)可产生甲酸、乙酸、乳酸、顺丁烯二酸、富马酸、丙二酸等十余种有机酸,加速纸张类文物的老化^[30-31]。而且霉菌产生的色素会污染文物表面,严重影响文物的艺术价值。

3.3 真菌与环境因子的关系

温度与湿度对霉菌的生长至关重要,温度制约着霉菌生长速度,湿度则是孢子萌发的关键因素。大多数霉菌繁殖的最适温度为 25–30 °C,而环境温度低于 0 °C 或高于 30 °C,及相对湿度不超过 70%时,并不适宜霉菌的生长与繁殖,也不易产生毒素^[32]。养心殿夏季温度、湿度较高,较适宜霉菌繁殖。室内空气的 RH 在 8 月达到了 70%,说明室内湿气较重,文物表面或者房屋某些角落可能具有更高的湿度,具有霉菌滋生风险。

人在呼吸的同时会将空气中漂浮的颗粒物吸入体内,而吸入的颗粒物在呼吸系统沉积与其粒径分布特征密切相关。研究表明,大于 10.0 μm 的粒子几乎全部沉积在鼻咽部位,2.0–5.0 μm 的粒子会有 10%沉积到支气管部位,若粒子的粒径小于 2.0 μm 则会主要在肺泡组织中沉积^[33]。PM_{2.5} 的颗粒粒径小,活性强,易附带有毒、有害物质(例如重金属、微生物孢子等),对人体健康有严重的不利影响。所以 PM_{2.5} 是国际衡量空气质量的重要指标。夏季的养心殿室内 0.5–2.5 μm 粒径的可吸入的颗粒物范围高,这对游客与工作人员是重要的健康隐患。

真菌的孢子会以气溶胶的形式存在于大气环境中,粒径一般为 0.002–30.000 μm ^[34],是危害人体健康以及文物安全的潜在危险因素。

于丹等对高校内空气微生物粒径分布检测结果显示,细菌和真菌集中出现在安德森六级采样器的 V级和IV级采样器,粒径范围为 1.1–3.3 μm ^[35]。张华玲等对空调病房内真菌气溶胶粒径分布的检测结果显示大致呈正态分布,真菌孢子的中值直径小于 3.19 μm ^[36]。夏季,养心殿室内悬浮霉菌的丰度与粒径为 0.5、1.0、2.5 μm 等小粒径的悬浮颗粒物有着显著的正相关性,也说明这些霉菌孢子以小粒径颗粒悬浮在空气中。也说明 7、8 月份 PM 2.5 的增长与空气中霉菌孢子的增长有关。因此,要想控制悬浮霉菌孢子在空气的数量,洁净设备需要加强对粒径为 0.5–2.5 μm 的颗粒物的过滤。此外,使用浮游菌采样器 Lighthouse Active Count 100H 还采集到了大量的酵母菌,而它们的丰度与 PM_{5.0}、PM_{10.0} 存在正相关,主要是因为酵母孢子的粒径较大所致。

4 结论

故宫博物院建院以来,养心殿并没有得到完善的修缮,为保证文物以及参观游客的安全,殿内环境亟需科学的评估。本次对微生物数量、种类、分布及环境状况的检测评估,我们得到以下结论:

(1) *Alternaria*、*Rhizopus*、*Cladosporium*、*Aspergillus*、*Penicillium*、*Neurospora* 是养心殿室内空气中优势霉菌,此外 *Hannaella*、*Naganishia*、*Papiliotrema* 等酵母菌丰度也较高,而且各区域内菌种种类与丰度分布不均,对文物与游客安全有潜在风险。

(2) 夏季,养心殿室内高温高湿的环境对霉菌生长是有利的。室内空气中的悬浮颗粒物也处于较高的水平,直接影响着悬浮菌的丰度。所以室内空气需要保持洁净,尤其是对微小颗粒物的过滤。

(3) 在文物展厅、库房及古建筑内可同时采用自然沉降法与撞击法采集空气微生物, 前者与文物自然状态相仿, 而后者可以获得更多的悬浮菌数量与种类。

本研究实现了对养心殿空气微生物的种类、数量及粒径分布的调查, 高通量测序与 FUNGuild 联用实现了对样品中霉菌的生态功能预测, 有助于掌握空气中真菌的危险性, 对日后的文物预防性保护具有一定的参考价值。

致谢

本文的完成非常感谢故宫博物院工程管理处张典老师给予场地准入的支持, 也诚挚地感谢故宫博物院文保科技部王春蕾、谷岸老师的指导。

参考文献

- [1] 邢来君, 李明春. 普通真菌学. 北京: 高等教育出版社, 1999.
- [2] Tayler S, May E. A comparison of methods for the measurement of microbial activity on stone. *Studies in Conservation*, 1995, 40(3): 163–170.
- [3] 郑晓霞, 张诺, 胡南. 纸质文物上的“寄居者”. 南京工业大学学报: 自然科学版, 2018, 40(1): 101–105. Zheng XX, Zhang N, Hu N. “Dweller” on paper cultural relics. *Journal of Nanjing Tech University: Natural Science Edition*, 2018, 40(1): 101–105. (in Chinese)
- [4] 申艾君, 王明道, 刘康, 张亚坤, 陈红歌. 馆藏竹木漆器类文物污染霉菌类群的鉴定与分析. 河南科学, 2011, 29(8): 923–926. Shen AJ, Wang MD, Liu K, Zhang YK, Chen HG. Identification and analysis of contaminated mold species from the bamboo, wood and lacquer collected in Henan museum. *Henan Science*, 2011, 29(8): 923–926. (in Chinese)
- [5] 俄军, 武发思, 汪万福, 陈庚龄, 赵林毅, 贺东鹏, 徐瑞红. 魏晋五号壁画墓保存环境中空气微生物监测研究. 敦煌研究, 2013(6): 109–116. E J, Wu FS, Wang WF, Chen GL, Zhao LY, He DP, Xu RH. Monitoring and research on microbes in the environment of the wall paintings in No. 5 of the Wei and Jin tombs. *Dunhuang Research*, 2013(6): 109–116. (in Chinese)
- [6] 唐欢, 范文奇, 周理坤, 王春. 重庆中国三峡博物馆临时展厅内空气微生物调查检测. 中国微生态学杂志, 2014, 26(4): 420–424. Tang H, Fan WQ, Zhou LK, Wang C. Airborne microbial content in the temporary exhibition halls of China Three Gorges Museum. *Chinese Journal of Microecology*, 2014, 26(4): 420–424. (in Chinese)
- [7] 段育龙, 武发思, 汪万福, 贺东鹏, 卢秀善. 天梯山石窟壁画保存环境中空气细菌的季节性变化. 微生物学通报, 2019, 46(3): 468–480. Duan YL, Wu FS, Wang WF, He DP, Lu XS. Seasonal variation of airborne bacteria of the Tiantishan Grottoes and Western Xia Museum, Wuwei. *Microbiology China*, 2019, 46(3): 468–480. (in Chinese)
- [8] 唐欢, 范文奇, 王春, 张丽龙. 重庆中国三峡博物馆小环境空气微生物种属与数量的动态研究. 文物保护与考古科学, 2017, 29(1): 35–43. Tang H, Fan WQ, Wang C, Zhang LL. A dynamic study on the species and quantity of microorganisms in the micro-environment, Chongqing China Three Gorges Museum. *Sciences of Conservation and Archaeology*, 2017, 29(1): 35–43. (in Chinese)
- [9] Lazaridis M, Katsivela E, Kopanakis I, Raisi L, Mihalopoulos N, Panagiaris G. Characterization of airborne particulate matter and microbes inside cultural heritage collections. *Journal of Cultural Heritage*, 2018, 30: 136–146.
- [10] Pastuszka JS, Paw UTK, Lis DO, Wlazło A, Ulfig K. Bacterial and fungal aerosol in indoor environment in Upper Silesia, Poland. *Atmospheric Environment*, 2000, 34(22): 3833–3842.
- [11] Zhang G, Gu A, Wei L. Regularity in distribution, and control, of pests in the hall of mental cultivation, the Forbidden City, Beijing, China. *Heritage Science*, 2021, 9(111): 1–16.
- [12] Nguyen NH, Song Z, Bates ST, Branco S, Tedersoo L, Menke J, Menkea J, Schilling JS. FUNGuild: an open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. *Fungal Ecology*, 2016, 20: 241–248.
- [13] Kr C. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Australian Journal of Ecology*, 1993, 18(1): 117–143.
- [14] 雷琼, 肖璇, 马立安, 章俊, 詹亚斌, 方芳, 邱祖明. 荆州博物馆文物展陈环境空气中真菌数量及其群落特征. 文物保护与考古科学, 2019, 31(2): 68–76. Lei Q, Xiao X, Ma LA, Zhang J, Zhan YB, Fang F, Qiu

- ZM. Concentration and phylogenetic analyses of airborne fungi in the cultural relic exhibition environment of Jingzhou Museum. *Sciences of Conservation and Archaeology*, 2019, 31(2): 68–76. (in Chinese)
- [15] 胡利锋, 方治国, 欧阳志云, 廖晓兰, 林学强, 王效科. 北京市室外空气真菌分布特征. *环境科学*, 2005, 26(5): 22–27.
Hu LF, Fang ZG, Ouyang ZY, Liao XL, Lin XQ, Wang XK. Ecological distributions of airborne fungi in outdoor environments in Beijing, China. *Environmental Science*, 2005, 26(5): 22–27. (in Chinese)
- [16] 方治国, 欧阳志云, 胡利锋, 王效科, 林学强. 北京市夏季空气微生物群落结构和生态分布. *生态学报*, 2005, 25(1): 83–88.
Fang ZG, Ouyang ZY, Hu LF, Wang XK, Lin XQ. Community structure and ecological distribution of airborne microbes in summer in Beijing. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(1): 83–88. (in Chinese)
- [17] 顾建青, 何海娟, 王良录, 乔秉善, 尹佳. 2010年北京城区气传真菌监测. *中华临床免疫和变态反应杂志*, 2018, 12(4): 379–383.
Gu JQ, He HJ, Wang LL, Qiao BS, Yin J. Airborne fungi monitoring in urban area of Beijing in 2010. *Chinese Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2018, 12(4): 379–383. (in Chinese)
- [18] 周梹子, 李晓敏, 丁龙君. 夏秋季节北京市居家室内微生物多样性的变化特征. *环境科学学报*, 2020, 40(12): 4499–4507.
Zhou ZZ, Li XM, Ding LJ. Characteristics of microbial diversity in indoor air of Beijing city in summer and autumn. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2020, 40(12): 4499–4507. (in Chinese)
- [19] 叶世泰, 乔秉善, 路英杰. *中国致敏空气真菌学*. 北京: 人民卫生出版社, 1992.
- [20] Twaroch TE, Curin M, Valenta R, Swoboda I. Mold allergens in respiratory allergy: from structure to therapy. *Allergy, Asthma & Immunology Research*, 2015, 7(3): 205–220.
- [21] Hattab Z, Ben Lasfar N, Abid M, Bellazreg F, Fathallah A, Hachfi W, Letaief A. *Alternaria alternata* infection causing rhinosinusitis and orbital involvement in an immunocompetent patient. *New Microbes and New Infections*, 2019, 32: 100561.
- [22] Gabriel MF, Postigo I, Tomaz CT, Martinez J. *Alternaria alternata* allergens: markers of exposure, phylogeny and risk of fungi-induced respiratory allergy. *Environment International*, 2016, 89–90: 71–80.
- [23] 严淑梅. 古代丝织品霉菌的微生物类群调查及其与保存现状的关系//*文物保护与修复纪实——第八届全国考古与文物保护(化学)学术会议论文集*, 广州: 岭南美术出版社, 2004: 262–271.
Yan SM. Investigation of microflora of ancient silk fungus and its relationship with preservation status//*Historical Relics Conservation and Restoration - the 8th National Conference on Archaeology and Cultural Relics Conservation (Chemistry)*, Guangzhou: *Lingnan Art Publishing House*, 2004: 262–271. (in Chinese)
- [24] 张艳红, 刘自军, 刘根亮, 李彬, 潘皎, 马清林. 天津博物馆文物库房部分文物与囊匣中霉菌的分离与鉴定. *文物保护与考古科学*, 2019, 31(2): 61–67.
Zhang YH, Liu ZJ, Liu GL, Li B, Pan J, Ma QL. Isolation and identification of fungi from some cultural relics and packaging boxes in Tianjin Museum storerooms. *Sciences of Conservation and Archaeology*, 2019, 31(2): 61–67. (in Chinese)
- [25] 姚娜, 闫丽, 吴若菲, 李婷, 王纪刚, 周文华. 早期霉变纸币霉菌分离与鉴定研究. *中国钱币*, 2015(6): 44–48, 9.
Yao N, Yan L, Wu RF, Li T, Wang JG, Zhou WH. Isolation and identification of mildewed banknote mold in early stage. *China Numismatics*, 2015(6): 44–48, 9. (in Chinese)
- [26] 唐欢, 王春, 范文奇, 周理坤, 马冠华. 馆藏纸质书画文物上霉菌的分离与鉴定. *文物保护与考古科学*, 2015, 27(2): 40–46.
Tang H, Wang C, Fan WQ, Zhou LK, Ma GH. Isolation and identification of molds from ancient Chinese calligraphy and paintings in museums. *Sciences of Conservation and Archaeology*, 2015, 27(2): 40–46. (in Chinese)
- [27] 马文霞. 不同墓室砖壁画病害与环境空气中真菌多样性的研究. 兰州大学硕士学位论文, 2017.
- [28] Kuhad RC, Singh A, Eriksson KE. Microorganisms and enzymes involved in the degradation of plant fiber cell walls. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 1997, 57: 45–125.
- [29] 张诺, 徐森. 馆藏清代《牧牛图》轴的微生物病害研究. *文物保护与考古科学*, 2020, 32(1): 77–83.
Zhang N, Xu S. Research on microbial diseases of Mu Niu Tu of the Qing dynasty. *Sciences of Conservation and Archaeology*, 2020, 32(1): 77–83. (in Chinese)
- [30] 李蔓. 对纸质文物霉菌危害的防治. *中国文物科学研究*, 2011(4): 34–37.
Li M. Prevention and control of mold damage to paper

- cultural relics. *China Cultural Heritage Scientific Research*, 2011(4): 34–37. (in Chinese)
- [31] 张美芳, 郭莉珠, 阎政, 韩秀琴. 纸质档案中霉菌代谢物有机酸的分析研究. *中国档案*, 2002(12): 27–28. Zhang MF, Guo LZ, Yan Z, Han XQ. Analysis of organic acids of mold metabolites in paper archives. *China Archives*, 2002(12): 27–28. (in Chinese)
- [32] 马淑琴. 文物霉害和虫害的防治. 北京: 科学出版社, 2013.
- [33] 杜茜, 温占波, 李劲松. 病毒气溶胶飞沫在室内环境中传播扩散机制的研究进展. *军事医学*, 2011, 35(8): 631–633, 638. Du Q, Wen ZB, Li JS. Mechanism of viral aerosol and its droplet transmission and distribution in the indoor environment: a research progress. *Military Medical Sciences*, 2011, 35(8): 631–633, 638. (in Chinese)
- [34] 陈镗, 万东, 褚可成, 许淑青, 张宁. 空气微生物污染的监测及研究进展. *中国环境监测*, 2014, 30(4): 171–178. Chen E, Wan D, Chu KC, Xu SQ, Zhang N. The monitoring and research of airborne microbe pollution. *Environmental Monitoring in China*, 2014, 30(4): 171–178. (in Chinese)
- [35] 于丹, 蔡志斌, 李冉, 王丽娜. 冬季高校室内空气微生物体积浓度和粒径分布特征. *中国学校卫生*, 2019, 40(11): 1706–1708. Yu D, Cai ZB, Li R, Wang LN. Microbial concentration and particle size distribution characteristics of indoor air in colleges and universities in winter. *Chinese Journal of School Health*, 2019, 40(11): 1706–1708. (in Chinese)
- [36] 张华玲, 冯鹤华, 方子梁, 王本栋, 李丹. 空调病房真菌气溶胶浓度及粒径分布特征. *环境科学*, 2015, 36(4): 1234–1240. Zhang HL, Feng HH, Fang ZL, Wang BD, Li D. Airborne fungal aerosol concentration and distribution characteristics in air conditioned wards. *Environmental Science*, 2015, 36(4): 1234–1240. (in Chinese)