

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

冯清平 马晓军 张晓君

(兰州大学生物系 兰州 730000)

李最雄 李 实

(敦煌研究院保护所 敦煌 736200)

摘 要 通过对敦煌莫高窟 6 个洞窟中的 51 个典型变色颜料样品的微生物检测,发现其中的细菌有 6 个属,优势菌为芽孢杆菌属和产碱菌属;霉菌有 5 个属,优势菌为青霉属。将分离得到的菌种,通过模拟试验证明,枝孢霉、黑曲霉和 2 种特殊细菌对壁画红色颜料变色和胶结材料的老化均起着重要作用。

关键词 敦煌壁画, 色变, 模拟实验

分类号 939.98

举世瞩目的敦煌莫高窟,位于甘肃省敦煌市东南 25km 的鸣沙山下。在长 1680m 的山崖上,遗存着 4~14 世纪 10 个时代的洞窟 750 余个,现存的 492 个石窟中保存着 45000m² 的壁画。这些壁画包涵了中国上千年优秀文化的丰富内容^[1],是世界上极为罕见的艺术珍品。

敦煌莫高窟是建筑、壁画和彩塑三者结合的综合性的艺术。壁画和彩塑颜料大多为无机矿物颜料。这些颜料层是壁画和彩塑的主要部分和精华所在^[1]。千余年来,壁画颜料在多种因素的作用下,使各时代壁画都有程度不同的色变,有些洞窟壁画颜料变色、褪色(简称色变)严重,原来深红、灰红、粉红等色调变成棕黑、灰黑和浅棕色^[2]。

引起敦煌莫高窟壁画颜料变色、褪色的外界因素有物理、化学和生物因素,如阳光、氧气、温湿度、工业气体、地层碱度和微生物等^[3]。

敦煌研究院保护所在研究壁画色变因素中,发现色变最严重的是红色颜料(即铅丹、朱砂和土红),而其中以铅丹的色变更为突出。在此基础上,本课题主要研究红色颜料变色、褪色因素中微生物的作用。

1 材料和方法

1.1 材料

选择敦煌莫高窟的一些底层洞窟和具有代表性洞窟,采集窟内壁画变色、褪色或发霉

*国家自然科学基金资助项目。

部位的样品。取样位置见表 1。

表1 采样位置

Table 1 Sampling place

窟 号	方 位	采样温度(℃)	采样相对湿度(RH%)	采样位置	变色、褪色程度
Cave number	Position	Sampling temperature	The relative humidity of sampling	Sampling place	Changing colour and fading
53	下层窟	17.8	43.5	北 壁	黑色斑
				南 壁	褐色及黑色斑
				西龕北壁	褐色斑
54	下层窟	19.8	34	北 壁	白色发黑
				北壁土面	褐 色 斑
				南 壁	黑色、褐色
467	下层窟	19	36	西壁北側	白 粉
				龕外北壁	
				空 气 样	白 粉
435	三层窟	20	32	北 壁	黑褐色油滴
				西 壁	棕色油滴
256	三层窟	18	33.5	东 壁	未变色
				空 气 样	
205	三层窟	12	30	中心龕北側	未褪色
				中心龕立土像	红 色
				中心龕外立像	棕色斑

1.2 培养基

1.2.1 分离培养基: 肉汤培养基 pH8.0~8.2; 6Bx 麦芽汁培养基, 自然 pH.

1.2.2 回复筛选培养基(%): 牛肉膏 0.3, 蛋白胨 1.0, NaCl 0.5, CaCO₃ 0.2, MgSO₄ 0.02, pH 8.2, 铅丹(Pb₃O₄) 0.1 或土红(Fe₂O₃) 或朱砂(HgS) 0.1.

1.3 采样及分离菌种

用消毒刀片轻轻刮取壁画上褪色、变色部位的粉块少许和霉点, 分别放入分离培养基平板和液体培养基的三角瓶内, 并将个别典型部位的样品放入生理盐水试管中。空气采样用常规沉降法。将所得试样的平板放入 25~26℃ 的保温箱中培养 48~72h。液体三角瓶进行常规稀释分离菌种。生理盐水试管进行计数分离。

1.4 回复筛选试验

1.4.1 液体试管及平板试验: 在 170 × 12mm 的试管内装筛选培养液 6ml (分别做铅丹、土红和朱砂试验), 将从壁画上分离出的细菌、霉菌、放线菌分别接入试管内, 同时用不接菌的作对照, 并接入 1 支不加颜色的液体试管进行生长观察, 25~26℃ 培养 28~30d。在 9cm 的培养皿内加筛选培养基 15ml, 制成平板, 点接分离的菌株, 25~26℃ 保温培养 20~25d。

1.4.2 模拟色板回复试验: 用 pH 8.0~8.5 的盐碱土(莫高窟附近的土) 烧制成 5 × 40 × 60mm 的小砖块, 在其表面刷上一定厚度的颜料和骨胶合剂, 分别制成模拟壁画的铅丹、土红、朱砂的红色色板, 进行消毒及点接由壁画分离出的细菌、霉菌和放线菌, 然后将色板放入

近似洞窟环境条件的无菌室内培养。

2 结果和讨论

2.1 敦煌莫高窟壁画变色、褪色和霉斑部位分离出的微生物类群

敦煌莫高窟壁画变色严重的是红色颜料,其他颜料褪色也比较普遍,如蓝色、绿色、黑色等^[2]。为证明这些变色、褪色原因除化学、物理因素外还有生物因素,我们对6个有代表性洞窟中的51个典型变色颜料样品作了微生物的分离和初步鉴定。结果发现,其中细菌有6个属^[4],葡萄球菌属 *Staphylococcus*、链球菌属 *Streptococcus*、产碱杆菌属 *Alcaligenes*、黄单胞菌属 *Xanthomonas*、足球菌属 *Pediococcus*、芽孢杆菌属 *Bacillus*,优势菌为芽孢杆菌属和产碱杆菌属。霉菌有5个属^[5],即青霉属 *Penicillium*、曲霉属 *Aspergillus*、枝孢霉属 *Cladosporium*、链格孢属 *Alternaria*、根霉属 *Rhizopus*,优势霉菌为青霉属。还有灰黄链霉菌 *Streptomyces griseoflavus*、黄色链霉菌 *Streptomyces chromoflavus* 和浅灰链霉菌 *Streptomyces griseolus*^[6]。

由菌株分离结果可以看出,壁画色变部位微生物的类群、种类较多,这些微生物长期繁殖、生长及其代谢产物势必会造成壁画颜料色度的改变。

为使壁画不受损伤,采样方法和数量均受限制,因此只能对个别典型样品进行含菌量分析,其结果是每克含细菌 $1 \sim 5 \times 10^5$ 个;霉菌 $1 \sim 3 \times 10^3$ 个。

敦煌壁画颜料主要为无机矿物颜料^[7],但颜料中的胶结材料为有机胶结剂,这些是微生物繁殖的物质基础。洞窟内每日早午晚以及雨天、四季温湿度的悬殊变化,是微生物生长繁殖的环境条件。在较适宜温湿度时,微生物繁殖较快,在温湿度不太适宜时,由于漫长的生长时间,也会使微生物生长繁殖,因而会引起壁画颜料的色变,这也是至今可以分离到如此多种微生物的原因。

2.2 回复筛选试验

2.2.1 液体试管及平板回复试验:莫高窟壁画中红色色调较多,而且红色色调变色也比较严重,因此回复试验以铅丹、土红和朱砂为重点。液体试管按试验方法 1.4.1 进行培养,结果细菌在铅丹中能生长的有34株,其中有2株(编号为ZA、L)可使红色铅丹变成浅棕色并呈小颗粒状。在土红中能生长的有26株,在朱砂中能生长的有19株,均未引起色变。霉菌在液体铅丹中除根霉外其他种均能生长,特别是枝孢霉和黑曲霉生长旺盛,并在15d左右可使红色变为黑色或棕黑色(图版I-1),在土红和朱砂液体管中根霉、链格孢霉和产黄青霉不生长。

平板回复筛选的方法对细菌效果较好,变色反应比较敏感,用此法筛选出4株菌(编号为:ZA、ZB、L、M)均可使细胞本身和周围红色变为褐色或黑褐色(图版I-2),其机理另见报道。霉菌中枝孢霉和黑曲霉可使红色变色较为明显。浅灰链霉菌也有使颜料变色的作用。

2.2.2 模拟色板回复试验:按1.4.2的方法进行模拟色板回复试验。试验结果可以看出,细菌在色板上绝大部分不能生长,只有L、ZA、ZB菌株有不同程度生长,这是因为色板营养简单或是培养时间太短的缘故。霉菌在红色模拟色板上生长旺盛(表2)。霉菌对基质有较强的转化能力,对营养条件要求简单,只要有一定的温湿度就可以繁殖生长,并对色板

的色度造成很大的影响,而且霉菌菌丝在生长过程中侵入颜料和色板之间(图版 I-3),这如同菌丝侵入莫高窟壁画画面与颜料之间一样,这种现象是造成颜料剥落的原因之一。从表 2 看出,霉菌在铅丹上生长比在土红、朱砂上旺盛,引起的色变也较严重。

表2 霉菌在红色模拟色板上生长情况

Table 2 The hving situation of vnould no ved simulated colourful board

菌 种 Species	铅 丹 Red lead	土 红 Red soil	朱 砂 Zinnober
展开青霉 <i>Penicillium expansum</i>	+++	++	+
桔青霉 <i>P. citrinum</i>	++++	+++	+
产黄青霉 <i>P. chrysogenum</i>	+++	++	+
白边青霉 <i>P. italicum</i>	++	++	±
拟青霉 <i>P. variti</i>	++	+	±
圆弧青霉 <i>P. cyclopium</i>	+++	++	+
产紫青霉 <i>P. purpurogenum</i>	++	+	-
黄曲霉 <i>A. flavus</i>	++++	++	+
黑曲霉 <i>A. niger</i>	++++	++	++
蜡叶枝孢霉 <i>Cladosporium herbarum</i>	+++	++	+
枝孢霉 <i>Cladosporium</i> sp.	+++	+	+
链格孢霉 <i>Alternaria tenuis</i>	++	±	-
匍枝根霉 <i>Rhizopus stolonifer</i>	+	-	-

在一系列回复与模拟试验中,发现铅丹易被微生物作用变色,土红比较稳定,这与敦煌莫高窟壁画中铅丹变色严重,土红相对稳定的现象是一致的。

2.3 微生物对敦煌莫高窟壁画中胶结材料的影响

敦煌壁画绘制绝大多数用天然无机矿物颜料,绘制时颜料中掺加有机胶结材料,这些材料量过少,则颜料在壁画的附着力以及颜料颗粒之间的固结力会降低,使画面粉化、掉粉。这些材料量过大,则胶结材料易老化致使画面龟裂,起甲,剥离。因此,胶结材料老化对壁画的破坏作用非常严重^[8]。胶结材料老化的原因是复杂的,而微生物在其上的繁殖生长及代谢产物对胶结材料有何影响也是值得研究的。我们用骨胶作为胶结材料,在 5% 的骨胶溶液中加入铅丹 0.1%,用 Ca(OH)₂调 pH8.2,装入试管制成柱状,分别点接由壁画分离出的菌株,用未接菌的胶柱作对照,25℃培养 20~25d。试验结果表明,青霉对骨胶有不同程度的分解作用,但对骨胶分解老化作用最强的是枝孢霉、黑曲霉和 L 株细菌(图版 I-4),这些菌不仅能使胶柱液化而且可使胶本身的颜色变深变暗。

试验结果表明:微生物不仅可以老化破坏高分子有机胶结材料,而且还可加速颜料色度变暗。

参 考 文 献

[1] 樊锦诗.敦煌莫高窟的保存、维修和展望.见:敦煌研究院编.敦煌研究文集(石窟保护篇,上).兰州:甘肃民族出版社,1993.4.
[2] 唐玉民,孙儒润.壁画颜料变色原因及影响因素的研究.见:敦煌研究院编.敦煌研究文集(石窟保护篇,上).兰

州:甘肃民族出版社,1993.199~200.

- [3] 李最雄.湿度是铅丹变色的主要因素.见:李最雄编.石窟保护论文集.兰州:甘肃民族出版社,1994.141.
- [4] 中国科学院微生物研究所细菌分类组.一般细菌常用鉴定方法.北京:科学出版社,1978.
- [5] 中国科学院微生物研究所.常见与常用真菌编写组.常见与常用真菌.北京:科学出版社,1973.
- [6] 中国科学院微生物研究所放线菌分类组.链霉菌鉴定手册.北京:科学出版社,1975.
- [7] 李最雄.莫高窟壁画中的红色颜料及其色变机理探讨.见:李最雄编.石窟保护论文集.兰州:甘肃民族出版社,1994.187.
- [8] 李最雄.敦煌壁画中胶结材料老化初探.见:李最雄编.石窟保护论文集.兰州:甘肃民族出版社,1994.218~219.

STUDIES ON MICROBIAL FACTOR ON COLOR CHANGE OF DUNHUANG MURAL

I. CLASSIFICATION OF MICROBES ON COLOR-CHANGED MURAL AND PROPERTY OF SOME TYPICAL SPECIES

Feng Qingping Ma Xiaojun Zhang Xiaojun

(Biology Department of Lanzhou University, Lanzhou 730000)

Li Zuixiong Li Shi

(Protective Institute of Dunhuang Research Institute, Dunhuang 736200)

Abstract Microbial strains were isolated from 51 typical color changed samples of mural in 6 grottos of Dunhuang Mogao Gretto. After identification, it is proved that belong to 6 genera of bacteria and 5 genera of mould. *Bacillus*, *Alcaligenes* and *Penicillium* were dominant species in all of them. In the imutative experiment, it is found that *Cladosporium* sp., *A. niger* and two strains of bacteria have a great effect on the color change of red pigment of mural and aging of sizing agent.

Key words Dunhuang mural, Colour change, Imutative experiment

图 版 说 明

Explanation of plate

1. 黑曲霉(I、II)和枝孢霉(III、IV)使红色铅丹变色情况; 2. 编号L细菌在铅丹平板上菌落变为褐色;
3. 枝孢霉在模拟色板上生长情况(100×); 4. 霉菌对壁画胶结材料的分解作用(I.黑曲霉, II.枝孢霉, III.青霉).

1. Effects of *Aspergillus niger*(I, II) and *Cladosporium*(III, IV) on color change of red lead; 2. Brown colonies of bacterium (No. L) on medium containing red lead; 3. Growth of *Cladosporium* on imitated mural; 4. Decomposition of bounding reagent by molds(I. *A. niger*, II. *Cladosporium*, III. *Penicillium*).