

## 石质文物微生物检测技术的研究进展

于淼, 朱旭东, 潘皎\*

南开大学生命科学学院微生物系, 天津 300071

**摘要:** 本论文针对国内外最新的石质文物微生物的检测技术进行了论述, 主要包括核酸分析鉴定方法、细胞膜分析法、次级代谢产物分析法和传统培养法等。并综合比较各种方法的优势和不足, 对石质文物的生物保护提出展望。石质文物微生物的无损或微损快速检测技术的建立, 对于进一步清理石质文物的微生物污染, 有效防治微生物对石质文物的腐蚀, 保护我国宝贵的文化遗产具有重要的意义。

**关键词:** 石质文物, 微生物检测, 生物保护

中图分类号: Q93-3 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209 (2011)11-1447-07

在我国的历史文化遗产中, 石质文物历史悠久、分布范围广泛、具有重要的历史价值。我国著名的四大石窟均被列入世界文化遗产名录, 包括: 敦煌-莫高窟、大同-云冈石窟、洛阳-龙门石窟和天水-麦积山石窟。因石窟长期暴露在自然界中, 受到多重因素的腐蚀与损坏。除去物理、化学因素对文物的影响, 生物尤其是微生物的腐蚀也是造成文物损坏的一个重要因素<sup>[1]</sup>。从微观上的石面裂化矿物、腐生矿物和晶体沉积, 到宏观上的一些石面的片状剥落、裂开和粉化等, 微生物污染和腐蚀不仅破坏了文物的外观和结构, 也对古建筑、石刻和纪念碑表面的雕刻、文字和画作等对人类文明具有重要意义的文化特征造成了损害。云冈石窟建于 1500 年前的北魏政权时期, 2001 年 12 月被联合国教科文组织列入世界文化遗产名录。石窟现损坏严重, 其中风化、渗水、工业粉尘、二氧化硫等都是对石窟造成严重损坏的因素。专家预言: 如果对石窟再不进行有效的保护, 将面临着彻底的消失。

我国文物保护的微生物研究处于刚刚起步阶

段, 本文结合国内外已有的鉴定石质文物微生物的方法进行了综述, 包括: (1) 基于微生物核酸水平的鉴定方法。(2) 基于微生物细胞膜水平的鉴定方法。(3) 基于微生物次级代谢产物水平的鉴定方法。(4) 传统微生物鉴定方法。这些生物学技术的运用对我国石质文物的保护具有重要的指导意义。

### 1 基于微生物核酸水平的鉴定

在细菌 rDNA 基因中, 16S rDNA (真核生物为 18S rDNA) 和 23S rDNA 之间的基因间隔序列 ITS (internal transcribed spacers) 没有特定的功能。利用 16S rDNA 在所有细菌菌种中, 保守区序列高度一致, 而可变区序列则随菌种的不同有较大的变化这一特点, 在保守区设计引物, 扩增所有细菌 16S rDNA 相应的可变区片段<sup>[2-3]</sup>。故现代分子生物学手段常常是基于对以 DNA 序列分析为核心的 ITS 测序分析技术, 将不同细菌的 16S rDNA 扩增产物

基金项目: 国家科技支撑计划 (2009BAK53B01)

\* 通信作者: Tel: +86-22-23505961; Fax: +86-22-23506510; E-mail: panjiaonk@nankai.edu.cn

作者简介: 于淼 (1988-) 女, 天津市人, 本科生, 主要从事微生物方面的研究。E-mail: shuilifang@mail.nankai.edu.cn

收稿日期: 2011-04-21; 修回日期: 2011-06-24

通过变性梯度凝胶电泳 (denaturing-gradient gel electrophoresis, DGGE)、温度梯度凝胶电泳 (temperature-gradient gel electrophoresis, TGGE)、酶切产物的末端限制性片段长度多态性分析 (terminal restricted fragment length polymorphism, T-RFLP)、扩增 rDNA 限制性酶切片段分析法 (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis, ARDRA) 以及特定菌种 16S rDNA 的荧光原位杂交技术 (Fluorescence in situ hybridization, FISH) 等, 将微生物群落中不同的微生物进行分离, 再利用数据库序列比对进行菌种鉴定。

### 1.1 变形梯度凝胶电泳和温度梯度凝胶电泳

DNA 序列由于含有的碱基不同, 各片段的  $T_m$  也就不同, 甚至一个碱基对的不同, 都会引起  $T_m$  很

大的差异。DGGE/TGGE 技术是在一般的聚丙烯酰胺凝胶基础上, 加入了变性剂 (尿素和甲酰胺) 梯度或是温度梯度<sup>[4]</sup>, 当同样长度但序列不同的 DNA 片段在胶中不同位置处达到各自最低解链区域的解链温度时, 迁移速率大幅度下降, 从而在胶中被区分开来<sup>[5]</sup>。故该法可区别大小相同但组成不一的 DNA 片段。

该法技术步骤如下: (1) 样品采集; (2) 样品总 DNA 的提取及纯化; (3) 样品 16s rDNA (或 18s rDNA) 片段 PCR 扩增; (4) 通过 DGGE 分离 PCR 扩增产物; (5) DGGE 图谱显示; (6) 条带与图谱分析<sup>[6]</sup>。Claudia Schabereiter-Gurtner<sup>[7]</sup> 等对奥地利 Herberstein 中世纪壁画上的微生物群落进行了鉴定 (方法如图 1 所示), 确认最有可能的微生物为假诺

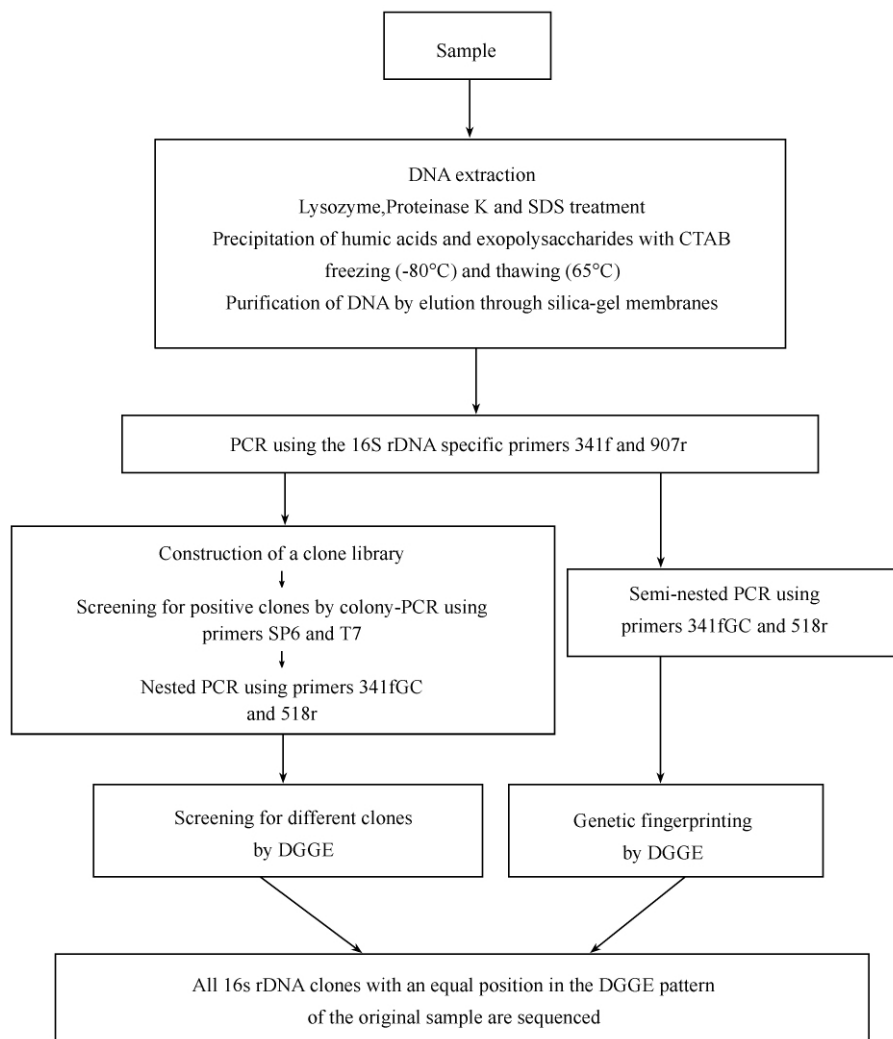


图 1 文物微生物群落鉴定技术

Fig. 1 Microbial identification techniques of heritage

卡氏菌属 (*Pseudocardia*) 和优美红游动菌 (*Rhodoplanes elegans*) ,并对结果的可靠性和 DGGE 在应用于石质文物微生物鉴定相较于一般方法的优越性进行了探讨。

DGGE 的优点:直接从所研究的样品中抽提总 DNA ,可鉴定不可培养微生物<sup>[7-8]</sup>;检测速度快,可同时检测多种微生物。但由于该法依赖于传统电泳方法,分辨率受到限制,并受到不同细菌 DNA 提取效率由于破壁程度不同等原因造成了一定的影响<sup>[8]</sup>。

本实验室成功地利用 DGGE 技术,检测了云冈石窟的第 38 窟、39 窟样品中微生物群落的组成。通过现场调研,发现云冈石窟所处生物环境干燥、粉尘污染严重、生物种类少,石窟表面极少存在藻类、地衣、或真菌的污染。因此本课题主要针对石窟样品的细菌进行种群分析,发现在云冈石窟样品中主要含有 8 种微生物,分别与 Uncultured *Pseudomonas* sp. ( GenBank Accession No. FJ868262.1 ); Uncultured *Pseudomonas* sp. ( GenBank Accession No. AM711886.1 ); Soil bacterium ( GenBank Accession No. EU515384.1 ); Uncultured Hyphomicrobiaceae bacterium ( GenBank Accession No. GQ351484.1 ); Uncultured bacterium ( GenBank Accession No. GU564130.1 ); Uncultured bacterium ( GenBank Accession No. HM326366.1 ); Uncultured *Microbacterium* sp. ( GenBank Accession No. GQ365756.1 ); Uncultured bacterium ( GenBank Accession No. GQ153955.1 ) 同源性高达 90% 以上。通过系统进化树的绘制,将这些微生物分为四大类群:丙型变形菌纲 (Gammaproteobacteria), 鞘脂杆菌门 ( Sphingobacteria ), 甲型变形菌纲 (Alphaproteobacter) 和放线菌纲 (Actinobacteria)。而甲型变形菌纲和丙型变形菌纲均具有广泛多样的代谢能力,其中不乏硝化杆菌属、红假单胞菌属、根瘤菌属等已知对石质材料有明确影响能力的微生物 (相关研究成果正在整理当中)。

## 1.2 扩增 rDNA 限制性酶切片段分析法 (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis, ARDRA)

ARDRA 是 1992 年由 Vanechoutte 等建立,是一种快速、简便、有效的分子水平上的分类方法<sup>[9]</sup>,目前被广泛地应用于微生物分类及鉴定中。它依据

原核生物 16s rDNA 序列的保守性,将扩增的 rDNA 片段选取一种或几种切割片段数目适中的限制性内切酶进行酶切<sup>[10]</sup>,通过酶切图谱来分析菌间的多样性。

该法技术步骤如下:(1)样品采集;(2)总 DNA 的提取及纯化;(3)16s rDNA (或 18s rDNA) 片段 PCR 扩增;(4)选取限制酶进行酶切;(5)电泳分析酶切结果多样性<sup>[10]</sup>。Luisa Tomasellia 等<sup>[11]</sup>对意大利石质纪念碑上生长的光合微生物进行分离鉴定,使用 (*AluI*、*DdeI*、*HaeIII*、*HinfI*、*RsaI*) 这五种限制酶对其 16s rDNA 的 PCR 产物分别进行酶切,鉴定出蓝藻 (*Cyanobacteria*) (包括色球藻属 *Chroococcus*、粘囊藻属 *Myxosarcina*、宽球藻属 *Pleurococcus*、伪枝藻属 *Scytonema*) ,绿藻 (*Chlorella*) (包括虚幻球藻属 *Apatococcus lobatus* 和裂丝藻属 *Stichococcus*) 等,并对该法相较于 RFLP 等方法的优点进行了探讨。

ARDRA 技术利用限制性酶来识别突变位点,特异性强,并能在很短的时间内将碱基的差异快速转化成酶切带型差异,非常符合快速鉴定的需要<sup>[12]</sup>。但单一的限制酶使用可能因为切割位点集中等原因导致分辨率下降<sup>[13]</sup>。故而,优化限制性内切酶的种类和数量、筛选最佳的限制性内切酶组合对于 ARDRA 鉴别技术体系应是一个需不断完善的课题。

## 1.3 末端限制性片段分析技术 (T-RFLP)

T-RFLP 是一种新兴的研究微生物多态性的分子生物学方法,已经成功应用于各种微生物群落的分析比较、研究微生物群落多样性及结构特征等方面。其综合运用了 PCR、限制性酶切、荧光标记和 DNA 序列分析等技术<sup>[14]</sup>。

T-RFLP 的技术原理与主要步骤是根据 16 s rDNA 的保守区设计通用引物,其中一个引物的 5' 末端用荧光物质标记,常用荧光物质有 HEX、TET、6-FAM 等<sup>[15]</sup>。提取待分析样品中的总 DNA,进行 PCR 扩增,所得到的 PCR 产物的一段就带有这种荧光标记,然后 PCR 产物用合适的限制性内切酶进行消化,一般选用酶切位点为识别 4 个碱基的限制性内切酶<sup>[16]</sup>。由于在不同细菌的扩增片段内存在核苷酸序列的差异,酶切位点就会存在差异,酶切后就会产生很多不同长度的限制性片段。消化产物用自动测序仪进行测定,只有末端带有荧光性标记的片段能被检测到。因为不同长度的末端限制性片段必

然代表不同的菌种,通过检测这些末端标记的片段就可以反应微生物群落组成情况。D. Pangallo<sup>[17]</sup>等人用该法对中世纪壁画表面的微生物群进行了分析,对所得荧光标记产物采用自动毛细管电泳法测定,分析结果为杆菌(*Bacillus*)、葡萄球菌(*Staphylococcus*)、恶臭假单胞杆菌(*Pseudomonas putida*)等。

T-RFLP 技术重复性好,可进行定量分析<sup>[14]</sup>。相对于其它分子生物学分析技术如 RFLP, DGGE 等,它具有分辨率高、易于实现自动化等特点,还可以将微生物群落分析同核糖体数据库计划相结合,充分利用了互联网数据资源共享的优势<sup>[15-17]</sup>。

#### 1.4 荧光原位杂交(FISH)技术

FISH 技术是一种利用非放射性的荧光信号对原位杂交样本进行检测的技术<sup>[18]</sup>。该法在微生物多样性的研究中大多以荧光染料标记的 16s rDNA 作为探针,将标记的探针直接原位杂交到染色体或 DNA 纤维切片上,由于与荧光素分子偶联的单克隆抗体和探针分子特异性结合,能激发杂交探针的荧光信号,通过荧光检测系统和图形分析技术对染色体或 DNA 纤维上的 DNA 序列进行定位、定性和相对定量分析,就能实现原位样品中的目标细菌的探测。

此技术包括以下步骤:样品固定,样品的制备与预处理,预杂交,探针和样品的变性、杂交,漂洗和检测信号等<sup>[18]</sup>。荧光探针具有以下优点:安全(相较于同位素标记物等);分辨率好且不需要额外的检测步骤;荧光探针可以用发射不同波长的染料标记,从而在一个检测步骤中可同时处理多条目标序列<sup>[14]</sup>。

由于该技术不需要任何选择、纯化和扩增的步骤,并且可以同时针对不同类群的细菌在细胞水平上进行原位的定性定量分析和空间位置标识,因此被广泛应用于不同环境,如沉积物<sup>[19]</sup>、海湾、土壤微生物群落和微生物多样性的研究中,故也将成为对于石质文物微生物鉴定的良好手段。

## 2 基于微生物胞膜水平的鉴定

脂肪酸甲酯分析法即 FAME(Fatty acid methyl-esters),原理是基于磷脂系生物细胞膜的重要组成成分,而不同微生物的细胞膜所含有的磷脂脂肪酸

组成和含量有不同,其组成和含量具有种属特异性<sup>[5,14]</sup>,可以代表某一种类微生物的存在,因而可以将其作为一种生物标记物用于微生物种类的检测。磷脂构成的变化能够说明环境样品中微生物群落结构的变化,可以对微生物群落进行识别和定量描述<sup>[20]</sup>。由于脂肪酸本身挥发性较小,所以要将脂肪酸甲基化转化成脂肪酸甲酯以增加脂肪酸的挥发性<sup>[20-21]</sup>,供气象色谱等仪器分析利用。

FAMES 方法的技术步骤如下:利用有机溶剂对样品中的磷脂脂肪酸进行提取、分离纯化,然后将磷脂脂肪酸甲基化为脂肪酸甲酯。再通过气相色谱等仪器分析,得到样品的磷脂脂肪酸组成图谱,进而得到不同脂肪酸的含量和种类,最后根据谱图中脂肪酸甲酯的多样性,利用相关的数据库和相关的计算机分析软件,便可鉴定出样品中微生物的种类或微生物群落结构组成的多样性<sup>[5]</sup>。P. Descheemaeker<sup>[22]</sup>等人对 St. Bavo 大教堂的石头上的异养型细菌进行分离培养,FAME 结果运用气液相色谱分析,FAME 指纹被录入微生物鉴定系统软件(MIS version 3.7, MIDI, Microbial ID, Inc., Newark, DE)进行比对,得到结果鉴定为微球菌(*Micrococcaceae*)、节杆菌(*Arthrobacter*)等,取得了较为理想的鉴定结果。

该方法的优点:简单易操作;磷脂不能作为细胞的贮存物质,一旦生物细胞死亡,其中的磷脂化合物就会马上消失,因此,磷脂脂肪酸可以代表“存活”的微生物。缺点:但是由于古生菌极性脂质以醚键而不是酯键存在,故无法对古生菌进行分析<sup>[20]</sup>。

## 3 基于微生物次级代谢产物水平的鉴定

不同种类的微生物所产生的次级代谢产物不相同,如抗生素、毒素、激素、色素等,具有菌种特异性<sup>[23]</sup>,它可以作为菌种鉴定的一种快速有效的手段。Francesca Cappitelli<sup>[24]</sup>等人采用荧光免疫标记技术,以黑色素连接抗体作为指示物,证明了意大利米兰大教堂的大理石外沿有大量产生黑色素的真菌,再与传统培养法、显微观察法相结合运用后,得出结论为:这些产生黑色素的真菌为交链孢属(*Alternaria*)、芽枝菌属(*Cladsprium*)和附球菌属(*Epicoccum*)。

Yaël Joblin<sup>[25]</sup>等人对石质文物室内表面的真菌产生的挥发性有机化合物(VOC)进行了检测,通过气相色谱分析、火焰离子化检测、质谱分析等方法,最后将这些结果与NIST质谱数据库进行比对,分析得出结果。由于真菌在不同生长阶段产生的挥发性有机化合物不同<sup>[26]</sup>,可以在真菌侵染石质文物的早期甚至是肉眼不可见的时期就得到证实,进行及早防护。次级代谢产物种类繁多,我们在对其中一种或几种进行检测时,可选取菌株特异性强,且易于用实验方法如荧光免疫标记技术等检测出来的次级代谢产物作为鉴定目标<sup>[26]</sup>,实现快速、准确的鉴定目的。

#### 4 传统的微生物鉴定方法

传统的微生物鉴定方法,主要指利用传统方法对微生物进行分离、培养,显微镜下观察微生物细胞形态及培养基上的菌落形态,微生物利用碳源、N源、无机盐等物质的能力,微生物对氧的需求,及微生物重要的生理生化指标特征等,对微生物进行分析和鉴定。由于自然界中绝大多数微生物不可培养,故传统方法多作为现代生物鉴定方法的辅助手段,具有重要的参考意义<sup>[27]</sup>。

#### 5 评述和展望

石质文物的微生物腐蚀研究,国内鲜有报道。本文参考大量的国内外文献,对现有的石质文物微生物检测技术进行了系统、全面的介绍。因为文物具有极其重要的历史价值,因此建立无损或微损的微生物检测技术对于保护文物就显得尤为重要。根据云冈石窟微生物检测结果分析可以发现,其主要的微生物种群大多为未培养微生物。因此利用免培养分子生物学技术可以快速检测出样品中微生物的种群组成,且所需要的样品量极少,实现对文物的无损或微损的检测,具有显著优越性。能否利用Elisa试剂盒进行石质文物表面微生物污染的现场快速检测以及利用基因芯片技术进行大规模的检测,以达到快速、有针对性地防治微生物污染、保护文物的目的,是今后国内外文保行业的发展方向。但前提条件则是针对国内不同地区的石质文物,进行大量的取样及鉴定工作,建立石质文物的主要病

害微生物数据库。而该研究对如何进一步清理石质文物表面的微生物污染,有效防治微生物对石质文物的腐蚀,更好的保护我国宝贵的文化遗产具有重要的意义。

致谢 感谢中国科学院微生物研究所文华安研究员的指导,感谢中国文化遗产研究院高峰、葛琴雅在文物研究上的帮助,感谢南开大学宋存江教授、马挺副教授、李国强副教授在DGGE技术上的指导和帮助。

#### 参考文献

- [1] 张秉坚,陈劲松. 石材的腐蚀机理和破坏因素. *石材 (Stone)*, 1999, (11): 14-17.
- [2] 郑雪松,杨虹,李道棠,韩文卿. 基因间隔序列(ITS)在细菌分类鉴定和种群分析中的应用. *应用与环境生物学报 (Chinese Journal of Applied and Environmental Biology)*, 2003, 9(6): 678-684.
- [3] Felske A, Wolterink A, Van Lis R, Akkermans AD. Phylogeny of the main bacterial 16S rRNA sequences in Drentse A grassland soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 64(3): 871-879.
- [4] 周琳,张晓君,李国勋,张杰. DGGE/TGGE技术在土壤微生物分子生态学研究中的应用. *生物技术通报 (Biotechnology Bulletin)*, 2006(5): 67-71.
- [5] 王林闯,贺超兴,张志斌. PCR-DGGE和FAMEs技术在土壤微生物多态性研究中的应用. *生物技术通报 (Biotechnology Bulletin)*, 2009(3): 113-118.
- [6] 付琳林,李海星,曹郁生. 利用变性梯度凝胶电泳分析微生物的多样性. *生物技术通报 (Biotechnology Bulletin)*, 2004(2): 37-40.
- [7] Schabereiter-Gurtner C, Piñar G, Lubitz W, Rölleke S. An advanced molecular strategy to identify bacterial communities on art objects. *Journal of Microbiological Methods*, 2001, 45(2): 77-87.
- [8] Claudia Gurtner, Jeroen Heyrman, Guadalupe Piñar, Werner Lubitz, Jean Swings, Sabine Rölleke. Comparative analyses of the bacterial diversity on two different biodeteriorated wall paintings by DGGE and 16S rDNA sequence analysis. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2000, 46(3): 229-239.
- [9] Heyndrickx M, Vauterin L, Vandamme P, Kersters K, De Vos P. Applicability of combined amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA) pattern in bacterial phylogeny and taxonomy. *Journal of Microbiological Methods*, 1996, 26(3): 247-259.

- [10] Vaneechoutte M, Rossau R, De Vos P, Gillis M, Janssens D, Paepe N, De Rouck A, Fiers T, Claeys G, Kersters K. Rapid identification of bacteria of the comamonadaceae with amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA). *FEMS Microbiology Letters*, 1992, 72(3):227-233.
- [11] Luisa Tomaselli, Gioia Lamenti, Marco Bosco, Piero Tiano. Biodiversity of photosynthetic micro-organisms dwelling on stone monuments. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2000, 46(3):251-258.
- [12] Xi-Yang Wu, Mark J, Walker, Michael Hornitzky, James Chin. Development of a group-specific PCR combined with ARDRA for the identification of Bacillus species of environmental significance. *Journal of Microbiological Methods*, 2006, 64(1):107-119.
- [13] 王红梅, 谢树成, 赖旭龙, 黄俊华, 杨娇艳. 分子地质微生物学研究方法述评. 地球科学进展 (*Advance in Earth Sciences*) 2005(6):664-669.
- [14] 邓小宽, 张新宜, 田敏. 现代生物技术分子微生物生态学中的应用. 国外医药抗生素分册 (*World Notes on Antibiotics*) 2006(7):164-170.
- [15] 王洪媛, 管华诗, 江晓路. 微生物生态学中分子生物学方法及 T-RFLP 技术研究. 中国生物工程杂志 (*Progress In Biotechnology*) 2004(8):43-46.
- [16] Tanpiboonsak S, Paemane A, Bunyarataphan S, Tungpradabkul S. PCR-RFLP based differentiation of Burkholderia mallei and Burkholderia pseudomallei. *Molecular and Cellular Probes* 2004, 18(2):97-101.
- [17] D. Pangallo, K. Chovanová, H. Drahovska, F. De Leo, C. Urzì. Application of fluorescence internal transcribed spacer-PCR (f-ITS) for the cluster analysis of bacteria isolated from air and deteriorated fresco surfaces. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2009, 63(7):868-872.
- [18] 邢德峰, 任南琪, 李建政. 荧光原位杂交在环境微生物学中的应用及进展. 环境科学研究 (*Research of Environmental Sciences*) 2003, 16(3):55-58.
- [19] Enric Llobet-Brossa, Ramon Rosselló-Mora, Rudolf Amann. Microbial community composition of Wadden Sea sediments as revealed by fluorescence in situ hybridization. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 64(7):2691-2696.
- [20] 王秋红, 蓝江林, 朱育菁, 肖荣凤, 葛慈斌, 林营志, 陈亮, 刘波. 脂肪酸甲酯谱图分析方法及其在微生物学领域的应用. 福建农业学报 (*Fujian Journal of Agricultural Sciences*) 2007, 22(2):213-218.
- [21] Nancy J, Ritchie, Mary E, Schutter, Richard P, Dick, David D, Myrold. Use of length heterogeneity PCR and fatty acid methyl ester profiles to characterize microbial communities in soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(4):1668-1675.
- [22] P. Descheemaeker, J, Swings. The application of fatty acid methyl ester analysis (FAME) for the identification of heterotrophic bacteria present in decaying Lede-stone of the St. Bavo Cathedral in Ghent. *The Science of the Total Environment*, 1995, 167(1):241-247.
- [23] 潘军华, 曾岷涓, 李乃强, 张星元. 次级代谢产物的代谢工程. 中国抗生素杂志 (*Chinese Journal of Antibiotics*) 2002, 27(4):252-256.
- [24] Francesca Cappitelli, Joshua D, Nosanchuk, Arturo Casadevall, Lucia Toniolo, Lorenzo Brusetti, Sofia Florio, Pamela Principi, Sara Borin, Claudia Sorlini. Synthetic consolidants attacked by melanin-producing fungi: case study of the biodeterioration of Milan (Italy) cathedral marble treated with acrylics. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(1):271-277.
- [25] Yaël Joblin, Stéphane Moularat, Rukshala Anton, Faisal Bousta, Geneviève Oriol, Enric Robine, Odile Picon, Tarik Bourouina. Detection of moulds by volatile organic compounds: Application to heritage conservation. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2010, 64(3):210-217.
- [26] 梁华正, 张雯, 饶军, 陈焕文. 微生物挥发性代谢产物的产生途径及其质谱检测技术. 中国生物工程杂志 (*China Biotechnology*) 2008, 28(1):124-143.
- [27] Th. Warscheid, J. Braams. Biodeterioration of stone: a review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2000, 46(4):343-368.

## Advance in detection methods of microbes on historic stones—A review

Miao Yu , Xudong Zhu , Jiao pan\*

National Key Subject of Microbiology , Department of Microbiology , College of Life Sciences , Nankai University , Tianjin 300071 , China

**Abstract:** We reviewed the methods for identification of microorganisms on the surface of historic stones , including nucleic acid analysis , cell membrane analysis , secondary metabolites analysis and the traditional culture analysis. After comprehensive comparison of the advantages and disadvantages of each method , we addressed the biological protection of stone artifacts. The establishment of rapid detection of microorganisms on the historic stones is important to prevent corrosion caused by microorganisms and to protect our valuable cultural heritage.

**Keywords:** historic stone , microorganism detection , biological protection

( 本文责编: 张晓丽 )

Supported by the Key Technology R&D Program of China (2009BAK53B01)

\* Corresponding author: Tel: +86-22-23505961; Fax: +86-22-23506510; E-mail: panjiaonk@nankai.edu.cn

Received: 21 April 2011 / Revised: 24 June 2011

### 病毒学前沿论坛-贺田波院士八十华诞在北京举行

10月12日,病毒学前沿论坛-贺田波院士八十华诞在北京举行。中国科学院微生物研究所领导、田先生的亲朋好友、同事、学生和各界来宾共200余人出席了盛会。

田波先生1931年生于山东省桓台县,1954年毕业于北京农业大学植保系。五十多年来一直从事病毒学研究,在国际上首次报道利用卫星RNA防治植物病毒病获得成功;所研制的核酶能高度抑制类病毒在转基因马铃薯中的复制;首次从乙肝病毒(HBV)引起的肝癌组织中分离到与热休克蛋白gp96结合的病毒特异肽,为开发治疗慢性乙肝和肝癌的药物奠定了基础。田先生自1988年起历任《微生物学报》第五-第九届编委会编委,20多年来为学报的建设和发展做了许多的工作。

田波院士是我国著名的病毒学家,半个多世纪的科研生涯,始终坚持,锲而不舍,勇敢创新,屡挑科学高端,为我国病毒学事业的发展做出了突出贡献。衷心祝愿田先生健康长寿。

《微生物学报》编辑部

2011年10月