

明城墙微生物调查及微型藻类腐蚀城墙效应探究

蔡晓琛¹, 孙莉莉¹, 万 俐², 黄 成¹

(1. 南京大学生命科学学院, 江苏南京 210023; 2. 南京博物院, 江苏南京 210016)

摘要: 本研究采用扫描电镜观察与生物培养相结合的方法, 考察了南京明城墙表面的微生物种群。本研究发现地衣、大型真菌、丝状真菌、蓝细菌、绿藻和硅藻在城墙上大量存在。此外, 在无地衣及藓类覆盖的城砖上, 核心自养生物以石生硅藻(*Achnanthes lauenburgiana* Hustedt)和北方羽纹藻(*Pinnularia borealis* Ehrenberg)为主, 并伴生丝状真菌。对城砖生物风化实验结果表明, 藻类对城砖具有一定的侵蚀作用($53.65\text{mg}/\text{m}^2 \cdot \text{yr}$)。本研究的结果补充了明城墙微生物种群, 及硅藻在陆生环境下风化硅酸岩矿物研究上的空缺, 并为明城墙对藻类微生物腐蚀的防治提供了理论依据。

关键词: 明城墙保护; 明城墙微生物; 藻类腐蚀硅酸岩机理

中图分类号: K878.6 **文献标识码:** A

0 引言

南京明城墙是我国古代军事的防御设施, 也是城垣建造技术的集大成之作, 保存至今已有 600 余年, 因风雨侵蚀和人为破坏, 外郭、皇城及宫城仅存部分残迹, 但城墙现存仍可达 25.091km。南京明城墙气度恢宏、结构牢固、设施完善, 不仅是我国, 也是目前世界上规模最大的都城城墙^[1]。1998 年南京城墙被公布为全国重点文物。2012 年 11 月, 又作为“中国明清城墙”项目列入中国申遗预备名单。如何使历经 600 年岁月洗礼的城墙屹立不倒, 与都市大楼、钟山风景和谐相处, 是南京城市发展的重要课题。系统的调查、科学的指导、协调城墙周边环境与整治危害墙体的生物, 是城市规划成功的基础。目前, 有关明城墙生物群落及其对城墙影响的研究主要集中在木本植物根系对城墙涨裂的危害^[2], 尚无对城墙微生物调查的研究。微生物的岩石风化作用在加速全球元素循环中有着重要的地位, 其对各种岩石的风化机理及对石刻文物的影响也逐渐受到重视, 成为微生物领域的热点问题^[3,4]。南京明城墙砖体以石英和长石为主要矿物类型^[5], 是典型的硅酸岩生境, 多种植物攀附在其表面及周围^[2]。有研究发现, 明城墙黏结材料为糯米石灰浆, 至今仍有糯米成分残留^[6]。明城墙的这些

结构成分都为微生物的生长提供了条件, 微生物的活动可能会影响到城墙上具有重要历史价值的“砖铭文”的保存, 也可能为植物种子的萌发提供条件。本研究通过调查明城墙表面的微生物类群, 并分选其中对墙体有危害的种类, 探究其侵蚀墙面的机理, 为明城墙微生物腐蚀的防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料采集

以实地勘察的方式对城墙表面肉眼可见的真菌、地衣的类型及其各自的生态位进行记述、采集、显微观察。所有的考察点均进行全年跟踪观察。

对中华门、玄武湖、琵琶湖段城墙的黏结材料和城砖表面生物覆层进行采样。用 15mL 灭菌塑料离心管封装, 培养样品当日处理, 电镜样品 4℃ 保存, 一周内取用。

1.2 藻类的培养及纯化

样品采集后立即在超净台内用无菌水流水清洗 5min, 以除去样品表面尘土, 之后紫外线消毒 15min。再将消毒过的样品碎片平铺于藻类固体培养基(BBM 培养基, MDM 培养基, 1% 水琼脂培养基^[7])表面, 全光照富集培养 4 周。对于生长出菌丝样品, 先将其菌丝在 PDA 培养基上分离纯化,

收稿日期: 2015-04-28; 修回日期: 2015-09-15

基金项目: 江苏省科技厅科技支撑计划(社会发展)项目资助(BE2012765)

作者简介: 蔡晓琛(1993—), 南京大学生命科学学院本科生, E-mail: 834166861@qq.com

通讯作者: 黄成, 副教授, 硕士研究生导师, 主要研究方向为动物学, E-mail: huangcheng@nju.edu.cn

再将样品藻类接种在相应固体培养基上继续培养。

用灭菌针头挑取样品上的藻球及绿斑,分别在藻类固体培养基(BBM, 3 × N BBM, MDM 培养基)上划线,单菌落重复划线 2 次。培养一段时间后,挑取单菌落接种到相应藻类液体培养基中。

1.3 扫描电镜样品的制备及观察

样品制备。制备的电镜样品分为四种类型:原位采集的城砖样品、光照富集后的城砖样品、接种后的城砖样品、纯培养的藻类样品。其中,前三类样品分别在 37℃ 烘箱中干燥脱水 1h,再在真空条件下喷金镀层。制备纯培养藻类电镜样品方式如下:取 9mL 藻类悬液于灭菌离心管中,加入 1mL 25% 戊二醛,涡旋 30s, 4℃ 固定 2h。用针头滤器将液体滤出,用 10mL PBS 溶液清洗滤膜,用 5mL 浓度分别为 25% ,50% ,75% ,95% ,100% 的乙醇溶液依次清洗滤膜。在超净台内将滤膜取出,黏贴在盖玻片上,待

乙醇挥发完全后取出,真空条件下喷金镀层。

显微观察。取 100uL 液体培养基培养的藻悬液在光学显微镜下观察藻类形态,依据相关工具书^[8-10]对培养绿藻进行鉴定。

电镜观察。实验所用电镜为日本 Hitachi 公司 S-3400N II 扫描电子显微镜。30kV 下对样品进行观察,并对生物结构进行形态描述及能谱元素分析。记录电镜观察结果,并参照工具书^[8,10]鉴定硅藻。

1.4 风化实验

1.4.1 砖块接种风化实验

将砖面切割为 2cm × 2cm × 0.5cm 的体积,用 30% H₂O₂ 清洗除菌后,分别接种纯培养藻类菌液、藻类真菌混合培养液,在光照培养箱全日照条件下培养 100 天。实验设置见表 1。培养结束后,制备扫描电镜样品,观察分析微生物在城砖上的分布及腐蚀情况。

表 1 砖块接种风化实验设置

Table 1 The bricks inoculation weathering test set

	重复数量	培养过滤液	藻类悬液	真菌培养液
空白对照	2	+	-	-
实验组 1	2	-	+	-
实验组 2	2	-	+	+

接种液量为 50uL,“+”表示添加该物质,“-”表示不添加该物质。

1.4.2 砖粉培养液风化实验

1) 培养条件

避开城砖表面侵蚀层,取其表面以下 3 ~ 5cm 部位的城砖,粉碎,过 200 目筛。称取 10.00g 过滤后的砖粉,于 150mL 锥形瓶中,加入 100mL 培养液

后在 121℃ 灭菌 20min。灭菌后冷却至室温并在超净台中,加入 1mL 纯培养藻类悬液(10¹² cell/L),移至 20℃ 光照培养箱静置培养 100d,定期旋摇,测量 pH 并用血球计数板对藻类细胞计数。对照组及实验组设置见表 1 ~ 2。

表 2 砖石粉末生物风化实验设置

Table 2 Stone powder biological weathering test set

	重复数量	BBM 培养液	砖石粉末	藻类悬液	培养过滤液
对照 A	1	+	+	-	+
对照 B	1	+	-	-	+
对照 C	1	+	-	+	-
实验组	3	+	+	+	+

接种液量为 50uL,“+”表示添加该物质,“-”表示不添加该物质。

2) 检测内容

烧失量检测。对砖粉样品焚烧测定烧失量。检测委托南京大学现代分析中心进行。

无标样元素半定量检测。用 X 射线荧光光谱仪 ARL-9800 进行无标样元素半定量检测。检测委托南京大学现代分析中心进行。

溶出吸收离子检测。取培养液的上清液用 0.45um 的滤膜过滤,阴离子浓度检测使用阴离子色

谱检测溶液中 Cl⁻, SO₄²⁻, NO₃⁻ 的浓度。阳离子检测应用 ICP-OES 光谱仪,操作方法为:取 4mL 过滤液,加入 10uL 硝酸将 pH 调至 2,选择 Al 2269, Al 3944, Ca 3158, Ca 3179, K 7664, K 7698, Mg 2790, Mg 2852, Na 5895, Na 8183, Si 1850, Si 2124, Si 2516 谱线及标样,检测溶液中 K, Na, Ca, Mg 离子浓度及铝元素、硅元素含量。

3) 统计分析

烧失量检测及无标样元素半定量检测结果分析。用 UNIQUNT 软件进行分析。

溶出吸收离子检测结果分析。用 XLSTAT 2015 对离子含量、藻类数目进行方差分析及主成分分析。计算藻类对砖石粉末培养液离子浓度变化的影响,分析离子溶出与各物化因素、生物因素的相关性,并推测溶解机理。根据铝的溶出量计算砖石粉末的溶解量。



图 1 城墙表面的地衣

Fig.1 The wall surface lichen

2) 大型真菌。大型真菌只在秋季时节才出现在城墙根部城砖上,每块墙砖上长 15 个子实体。子实体直径在 0.8 cm 左右,形似耳朵,呈淡橘色,有的个体生长有绒毛状菌丝(图 2~3)。



图 2 生长在城墙根部城砖上的大型菌的分布状况

Fig.2 The root of wall bricks macro fungi



图 3 城砖上大型真真菌(近照)

Fig.3 Fungal fruiting bodies on the brick

3) 微生物。通过对原位样品的扫描电镜观察发现,城墙表面有丝状真菌、硅藻、绿藻等微生物。丝状真菌分布在城砖表面及石灰类黏结材料上,

2 结果与分析

2.1 地衣、大型真菌、微生物在城墙表面的分布

1) 地衣。城墙上生长的地衣为灰绿色的,在不同高度的墙砖及砖缝中呈集群分布,菌落的直径范围为 0.5 ~ 8cm,有时覆盖整块砖面(图 1)。菌落在一年四季均有存在。

有时覆盖整片区域;硅藻成群聚集在城墙表面的微裂缝中;绿藻多与真菌、硅藻等混生在微裂缝中(图 4~5)。

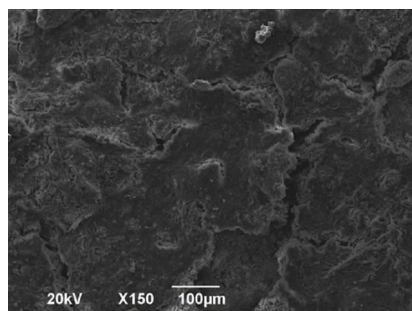


图 4 城墙表面的真菌覆盖层原位扫描电镜图

Fig.4 Fungus cover on the wall surface under electron microscope in - situ scanning

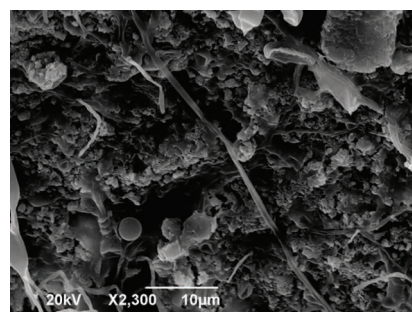


图 5 城墙表面裂缝部的绿藻(左下方球状结构)、丝状真菌原位扫描电镜图

Fig.5 Green algae (the globular structure in the left of bottom) and filamentous fungi in the wall surface cracks under electron microscope in - situ scanning

2.2 可实验室培养的藻类

非地衣及藓类覆盖的城墙表面有丰富的藻类,其中可培养藻类包括硅藻、绿藻及蓝藻。

硅藻中的原位物种主要为曲壳藻目的石生硅藻

(*Achnanthes lauenburgiana* Hustedt) (图6)及单壳缝目,舟形藻科,羽纹藻属的北方羽纹藻(*Pinnularia borealis* Ehrenberg) (图8)。

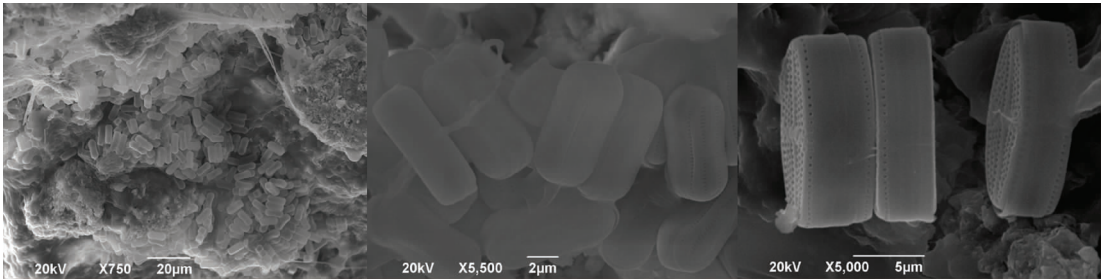


图6 中华门段城墙表面微裂缝部的石生硅藻原位电镜扫描图(放大倍数从左至右渐增)

Fig. 6 In-situ electron microscope scanning of *Achnanthes lauenburgiana* Hustedt in the Zhonghuamen wall surface micro cracks (The magnification increases from left to right)

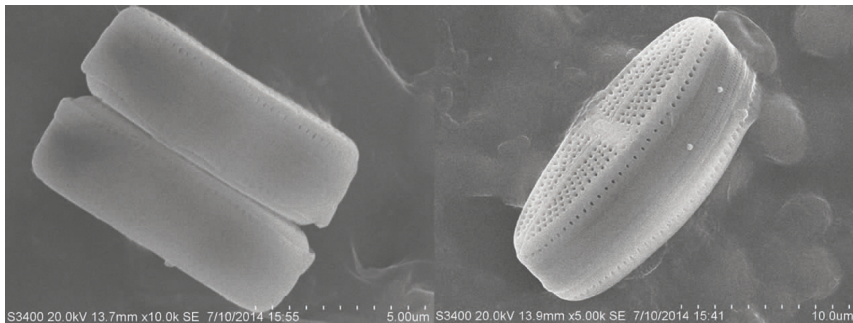


图7 纯培养硅藻的电镜扫描照

Fig. 7 Electron micrograph scanning of pure cultured diatom

由图6中华门段城墙电镜原位观察图可以看出,聚集在城墙表面微裂缝部的石生硅藻,常多个相连贴附在城砖表面。

根据图7纯培养硅藻的扫描电镜照可以看出,硅藻呈圆饼形,直径约为 $10\mu\text{m}$,宽度约为 $5\mu\text{m}$ 。此

类硅藻常单个或多个堆叠生长,以胶状物质相连在城墙表面。壳缝只存在于每个硅藻壳的一个壳面,从壳面看,两个壳面线纹间隔大致相同,线纹密度大约20条/ $10\mu\text{m}$,无壳缝面的马蹄形不明显。经鉴定为拟壳缝目石生硅藻。

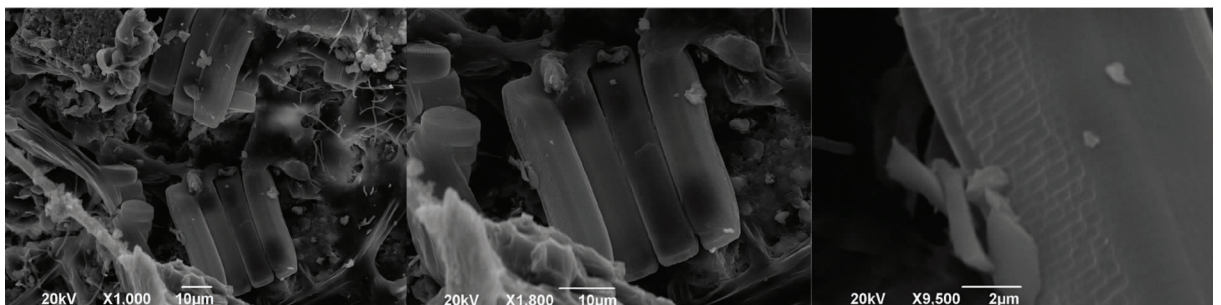


图8 北方羽纹藻与石生硅藻及丝状真菌共生原位电镜扫描图(放大倍数从左至右渐增)

Fig. 8 Electron micrograph scanning of minor wall surface crack *Pinnularia borealis* Ehrenberg living together with *Achnanthes lauenburgiana* Hustedt and filamentous fungi (The magnification increases from left to right)

由图8可以看出,北方羽纹藻常多个相连贴附在城墙表面,与石生硅藻(*Achnanthes lauenburgiana* Hustedt)及丝状真菌共同生长在裂缝部。通过观察

扫描电镜的北方羽纹藻近照,可见其横肋纹。该硅藻呈椭圆形,壳面具有平滑的横肋纹,在 $10\mu\text{m}$ 约有15条左右,长度30至 $40\mu\text{m}$ 。经鉴定为北方羽纹藻

(*Pinnularia borealis Ehrenberg*)。

城墙表面的可培养绿藻主要是绿藻门、绿球藻目、小球藻科、小球藻属及鼓藻目、鼓藻科的藻类,其中小球藻属藻类亦在原位样品的扫描电镜观察中发现。光照培养1个月后的原位电镜扫描照见图9。

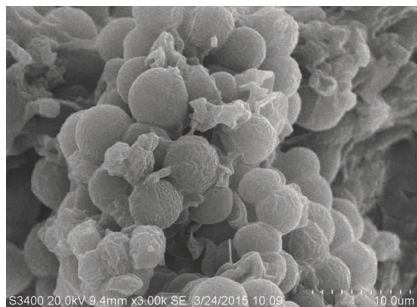


图9 城砖表面样品纯培养后生长的丝状真菌

Fig.9 Electron micrograph scanning of pure cultured algae

蓝藻门共分离出一种可培养藻类,为蓝藻纲、色球藻目、色球藻科、色球藻属的石栖色球藻(*Chroococcus lithophilus Erecgovic*)。

2.3 城砖实验结果与分析

2.3.1 城砖成分分析 按最高价氧化物的质量百

分数进行统计,超过10%的元素有:Si(61.22%),Al(17.33%)。1%~10%的元素有:K(4.11%),Fe(3.79%)。0.1%~1%的元素有:Mg(0.85%),Ti(0.68%),Ca(0.46%),Na(0.49%),P(0.14%)。据此推测,城砖中主要成分为二氧化硅、硅酸铝及其它硅酸盐(文献报道为二氧化硅和长石^[5])。由烧失量检测结果(10.69%)可知,城砖含有一定量的碳酸盐及水分(文献报道水分含量为1.23%^[5])。城砖中含有的钾、铁、镁、钛、钙、钠、磷在常量范围,此外,还含有多种生物必需的微量元素。城砖的这些成分可为生物的生长提供潜在的无机营养环境。

2.3.2 砖块接种风化实验 石生硅藻砖块接种风化实验表明,硅藻主要生长在砖面微裂缝中,无裂缝砖面鲜有分布,且无明显腐蚀坑。这一结果与原位观察到的硅藻分布情况一致。

石生硅藻与纯培养真菌共接种在砖块上进行风化实验,发现其可与丝状真菌伴生在一些无裂缝的砖面上(图10)。这种空间分布特点可能是因为真菌的存在为藻类提供了更好的水分保持条件,但此推想有待进一步研究。

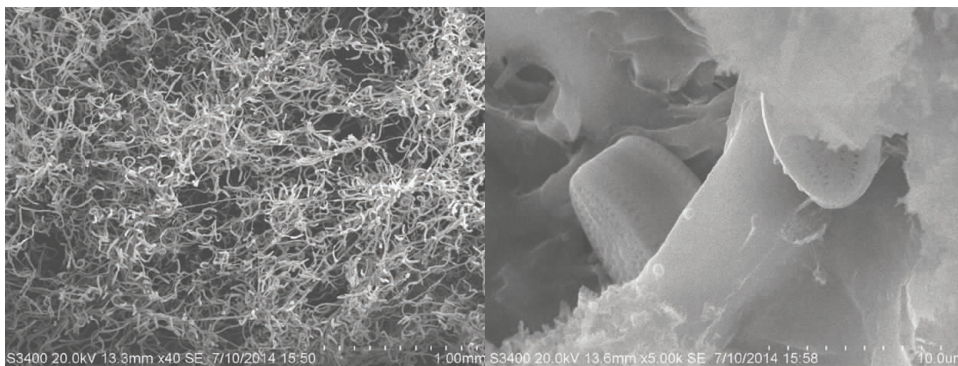


图10 真菌、硅藻共接种砖块光照培养后电镜扫描

Fig.10 Electron micrograph scanning of fungi and diatom co-inoculated on brick after light culture

由图10可以看出,真菌和硅藻共接种的砖块,光照培养百日后,砖块表面布满丝状真菌,硅藻伴生于菌丝之中。

2.3.3 砖粉培养液风化实验

1) 实验数据分析结果

百日光照培养后各对照及实验组元素含量及溶液pH值进行主成分分析(表3,5,6)、相关性分析(表4)。

表3 主成分的特征值,变异性及累积值

Table 3 Eigenvalues, variability, cumulative of principal components

	F1	F2	F3	F4	F5
特征值	7.833	2.457	1.226	0.307	0.177
变异性/%	65.279	20.472	10.217	2.557	1.475
累积值/%	65.279	85.750	95.967	98.525	100.000

表 4 相关性矩阵
Table 4 Correlation matrix (Pearson n)

变量	砖粉	藻类密度	pH	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	NO ₃ ⁻	Al	Ca ²⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Na ⁺	Si
砖粉	1.000	0.535	0.801	0.729	0.213	-0.586	0.947	0.985	0.978	0.877	-0.400	0.995
藻密度	0.535	1.000	0.622	0.848	-0.660	-0.745	0.402	0.407	0.570	0.142	-0.059	0.588
pH	0.801	0.622	1.000	0.905	-0.030	-0.612	0.755	0.778	0.828	0.667	-0.250	0.788
Cl ⁻	0.729	0.848	0.905	1.000	-0.377	-0.756	0.600	0.669	0.777	0.520	-0.118	0.745
SO ₄ ²⁻	0.213	-0.660	-0.030	-0.377	1.000	0.543	0.285	0.345	0.197	0.508	-0.062	0.169
NO ₃ ⁻	-0.586	-0.745	-0.612	-0.756	0.543	1.000	-0.607	-0.481	-0.504	-0.332	0.617	-0.577
Al	0.947	0.402	0.755	0.600	0.285	-0.607	1.000	0.927	0.868	0.826	-0.645	0.917
Ca	0.985	0.407	0.778	0.669	0.345	-0.481	0.927	1.000	0.973	0.944	-0.350	0.973
K	0.978	0.570	0.828	0.777	0.197	-0.504	0.868	0.973	1.000	0.869	-0.204	0.986
Mg	0.877	0.142	0.667	0.520	0.508	-0.332	0.826	0.944	0.869	1.000	-0.306	0.847
Na	-0.400	-0.059	-0.250	-0.118	-0.062	0.617	-0.645	-0.350	-0.204	-0.306	1.000	-0.334
Si	0.995	0.588	0.788	0.745	0.169	-0.577	0.917	0.973	0.986	0.847	-0.334	1.000

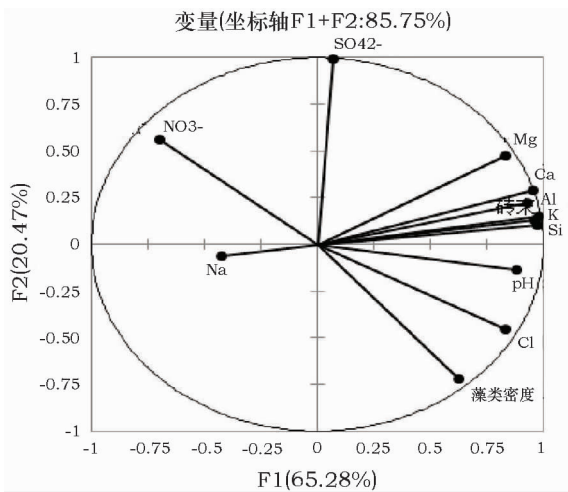


图 11 变量一主因子合成图

Fig. 11 Variability - principal component synthetic plot

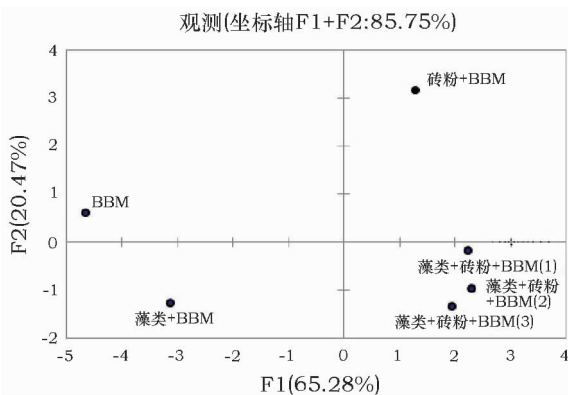


图 12 F1, F2 累积成分合成图

Fig. 12 Cumulative component of F1, F2 synthetic plot

由图 11 可以看出, Mg, Ca, Al, K, Si 位于第一象限, 与砖石粉末相关系数高 (> 85%), 推测其主要

来源于砖石粉末。图 12 中, 按主成分 F1, F2 对各组进行作图。对照组 A, B, C 分别位于不同象限, 实验组三个重复聚类在第四个象限。

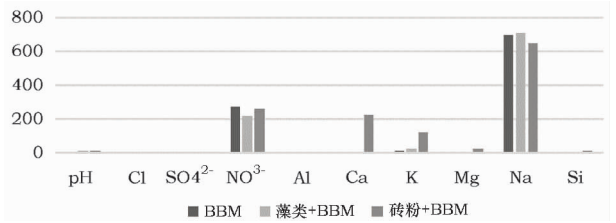


图 13 对照组 A, B, C 在光照 100 日后的离子含量直方图
Fig. 13 The ion content and pH of control group A, B, C after 100 days light cultivation

图 13 中, 对照组 A 只添加 BBM 液体培养基, 对照组 B 在 BBM 液体培养基的基础上添加 1mL 藻类悬液, 对照组 C 添加 BBM 液体培养基及砖石粉末。对照组与实验组在相同光照条件下培养 100 日。

热灭菌处理及培养液浸泡对砖粉离子溶出的影响见图 13。砖石粉末在高压灭菌处理时及在常温下与溶液静置时, Ca²⁺, K⁺, Mg²⁺ 及 Si 元素有明显溶出(与砖粉相关系数均在 0.85 以上, 说明溶出离子主要来自砖粉)。NO₃⁻ 在高压灭菌处理中及在藻类生长下均有消耗, 但 Cl⁻, SO₄²⁻ 的浓度变化较小。Al 元素含量基本不变, 它可以作为计算藻类腐蚀砖石的衡量指标。经 100 天光照培养后, 溶液 pH 平均上升 0.13, 此外, Ca²⁺, Al 离子浓度上升, NO₃⁻, K⁺, Na⁺ 浓度及 Si 元素含量均有明显下降。

2) 腐蚀速率计算

扣除空白后,实验组 Al 溶出量 ΔAl 为 0.07511mg (平均绝对偏差 0.0003125) (图 14)。根据 XRF 光谱仪测得的城砖 Al 元素含量计算溶解的城砖质量。假定砖石粉末的有效接触面积为其表面积(200 目粉末直径为 0.074cm)。查文献知城砖真密度为 $2.75\text{g}/\text{cm}^3$, 依此计算藻类单位面积年腐蚀量。

$$\text{实验室年腐蚀质量 } \Delta m = \frac{365 \cdot \Delta Al}{100 \cdot \omega_{Al}}$$

$$\text{有效作用面积 } S = \frac{m \cdot 4 \cdot \pi \cdot r^2}{\rho \cdot \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot r^3}$$

$$\text{年腐蚀速率 } V = \frac{\Delta m}{S}$$

其中 $m = 10.00\text{g}$; $\rho = 2.75\text{g}/\text{cm}^3$;

$r = 0.037\text{cm}$; $\omega_{Al} \% = 17.33\%$

实验条件下,砖石的年腐蚀质量为 1.5819mg; 有效作用面积为 294.84cm^2 ; 年腐蚀速率为 $53.65\text{mg}/\text{m}^2$ (误差 0.04%)。如果按单面城墙的长 20km, 高为 12m 计算, 则其饱和布满硅藻时的年腐蚀量为 12.87kg, 这一数量级与有关研究中报道的地衣、藓类植物腐蚀岩石的速率数量级相当^[11]。在野外环境中, 由于水分、温度、光照等生态因子的波

动, 硅藻在城墙表面分布的集群及空间偏好(主要生长在砖面的微裂缝中)等因素的影响, 因而城砖的年腐蚀速率可能小于这一数值。

3 讨论

3.1 关于研究方法

城墙表面的生物覆层较薄但与砖面附着紧密, 部分城砖表面生物量较小, 难以直接分离。采样过程空气粉尘沉降会不可避免地会对实验研究材料造成污染, 为研究带来困难。本研究首先通过扫描电镜对城墙表面的微生物进行观察, 鉴定发现其上着生有丝状真菌、硅藻、绿藻。由于石生微生物培养周期较长, 若期间有细菌、真菌污染, 极易在富集培养基上覆盖原有微生物种群, 造成实验的失败。对此, 本实验采用无机藻类培养基对城砖样品进行光照预富集, 利用扫描电镜观察实验室富集培养下城砖砖面的微生物分布。在此基础上, 分离纯化出可纯培养的藻类。通过比对原位及培养各阶段藻类的电镜特征(主要是纹饰特征)确认其中的原位种类。这种排除实验材料污染, 培养纯化藻类的方法是本研究的创新之处。本实验所用的鉴别方法及各方法下微生物统计见表 5。

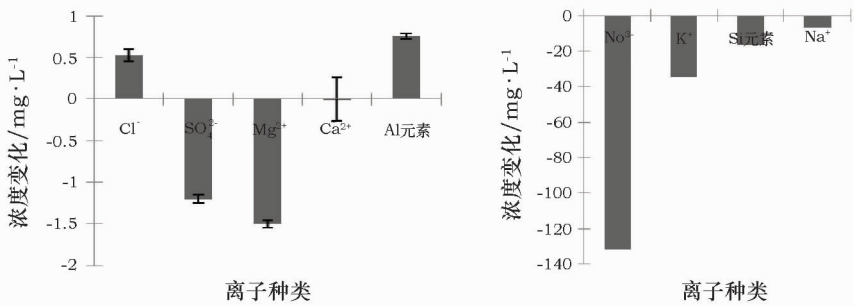


图 14 扣除对照组 C 后, 实验组各离子及元素浓度变化

Fig. 14 Element content variance of experiment group after Mius the concentration of control group C

表 5 城墙表面不同微生物的存在证据

Table 5 Summary on evidence show the existence of each kind microbe on the wall

	肉眼观察	原位扫描电镜观察	培养后电镜观察
地衣	+		-
大型真菌	+		
丝状真菌		+	+
放线菌			+
蓝细菌			+
绿藻		+	+
硅藻		- +	+

+ 表明有相应研究方法的证据。

3.2 明城墙上的微生物及其腐蚀效应

Golubic 等在 1981 年按照微生物与岩石的位置关系将岩生生物分为三类^[12]:石内生 (Endoliths)、石外生 (Epiliths)、石下生 (Hypoliths), 其中石内生又分为石缝生 (Chasmoendoliths)、隐藏石内生 (Cryptoendoliths) 及真石内生生物 (Euendoliths)。石外生生物在岩石表面生长。石内生生物是三类生长在岩石内部生物的统称:石缝生生物生长在岩石裂缝中;隐藏石内生生物在孔岩的空穴内生长;真石内生生物穿透岩石,依其生物结构形成隧道,在岩石内生长。石下生生物生活在卵石、小石头下或土壤中。不同岩石生态位光照强度、紫外线强度、温差、保水、透气能力会有差异,在条件较为极端的沙漠、极地环境中,因岩石提供的遮蔽作用,石内生生态位往往更为有利。环境因子分布的差异并没有限制同种生物在两种及其以上岩石生态位的分布。事实上,石生生物的分布多为是重叠的,但大部分石生生物都生活在岩石表面及其下 1cm 深度的范围内^[13]。

本研究的南京明城墙微生物属于石外生微生物种群,该种群在整个石生境生态位中占绝大部分生物量^[13]。城墙表面的微生物是南京明城墙微生物的主要种群,其对城墙的表面腐蚀,影响其上砖铭文的保护及研究。本实验对城墙表面 1cm 以下切片样品的扫描电镜观察结果未发现有统计学意义的生物结构出现。

4 结论与展望

本研究发现的城墙微生物类型包括地衣、大型真菌、丝状真菌、放线菌、硅藻、绿藻及蓝藻。其中非壳状地衣、丝状真菌、放线菌,蓝藻对城墙的风化效应为表面腐蚀,有研究报道其风化机理主要是:菌丝机械涨裂作用^[13];分泌有机酸促进岩石中 Na、K、Ca 等解离;通过离子泵不断吸收溶解的离子促进岩石溶解^[4,15];增加水岩作用时间,促进岩石物理风化^[16]。此外,有研究表明蓝藻在进行光合作用时会降低微环境中的 CO₂ 浓度,提高 pH,促使硅酸盐矿物中硅酸根的解离^[17,18]。对其它光合微生物来说,蓝藻的这种风化机理可能同样成立,但此推论仍需进一步探究。

硅藻可以利用环境中的硅元素制造硅藻壳,这也使其在海洋硅元素循环中扮演着重要角色^[19],然而,其在陆生环境下对硅酸岩的风化研究尚无人问津。实验条件下的风化速率测定结果表明,硅藻对城墙表面具有腐蚀性(腐蚀率为 53.65mg/m²·yr)。在实验室培养硅藻过程中,培养液的 pH 有显著提

高。高 pH 有助于硅酸岩矿物溶解,这种 pH 升高效应在野外低水浓度、无培养液磷酸盐缓冲对的条件 下可能被放大;硅藻在生长分裂过程中不断吸收硅元素制造硅藻壳,会促使可溶硅酸盐浓度降低,加速硅酸岩的进一步溶解。这两种方式可能是硅藻腐蚀城墙的主要机理。但砖块接种实验表明硅藻本身并不能直接使城墙表面产生微裂缝,可能是在裂缝形成后才定植其中,并促进裂缝的进一步扩大。真菌的存在可以使硅藻在无裂缝的砖面上生长,这可能是由于真菌增加了墙面的持水量,为硅藻的生长创造条件,但其共同生长是否能够促使城墙表面微裂缝的生成,还需更长期的实验观察。

根据本实验研究结果及前人在微生物对砖石的风化机理方面的研究,在对城墙的保护及修复工作中,可以针对硅藻的生长及生境特点,使用有抑制真菌效果的涂料封闭城砖表面的微裂缝,抑制其对城砖的腐蚀。虽然市面上有抑菌作用的商品很多,但是对城墙及砖石文物的保护具有针对性及安全性的抑菌剂仍需进一步研究。

参考文献:

- [1] 沈承宁. 南京城门变迁[M]. 江苏地方志, 2013, (4): 21-23. SHEN Cheng-ning. Nanjing city gate changes[M]. Jiangsu Local Chronicles, 2013, (4): 21-23.
- [2] 王笑梅,秦晓颖,师 昊,等. 南京明城墙植被考察暨城墙本体生态评估[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(32): 15761-15763. WANG Xiao-mei, QIN Xiao-ying, SHI Hao, et al. Nanjing Ming Dynasty city wall vegetation investigation and the ecological assessment of the wall body [J]. Anhui Agricultural Sciences, 2012, 40(32): 15761-15763.
- [3] Antony C P, Cockell C S, Shouche Y S. Life in (and on) the rocks [J]. Journal of biosciences, 2012, 37(1): 3-11.
- [4] 李 莎,李福春,程良娟. 生物风化作用研究进展[J]. 矿产与地质, 2007, 20(6): 577-582. LI Sha, LI Fu-Chun, CHENG Liang-juan. Research progress of biological weathering [J]. Mineral Resources and Geology, 2007, 20(6): 577-582.
- [5] 杨隽永,万 俐,张 慧,等. 几种有机硅材料在南京城砖防护上的应用研究[J]. 文物保护与考古科学, 2013, 25(3): 35-440. YANG Jun-yong, WAN Li, ZHANG Hui, et al. Application of silicone materials in Nanjing city protection [J]. Sci Conserv Archaeol, 2013, 25(3): 35-440.
- [6] 李广燕,张云升,倪紫威. 几处古城墙泥灰类粘结材料的对比试验研究[J]. 建筑技术, 2012, 43(5): 465-468. LI Guang-yan, ZHANG Yun-sheng, NI Zi-wei. Comparative study on several ancient city wall of mortar bonding materials [J]. Construction Technology, 2012, 43(5): 465-468.
- [7] Robert A A. Algal culturing techniques [M]. Academic press,

- 2005.
- [8] 胡鸿钧,魏印心. 中国淡水藻类—系统,分类及生态[M]. 北京:科学出版社,2006.
HU Hong-jun, WEI Yin-xin. Chinese freshwater algae—system, classification and ecology [M]. Beijing: Science Press, 2006.
- [9] 翁建中,徐恒省. 中国常见淡水浮游藻类图谱[M]. 上海:上海科学技术出版社,2010.
WENG Jian-zhong, XU Heng-sheng. Freshwater algae of common Chinese [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2010.
- [10] 克拉默,兰格-贝尔塔洛,等. 欧洲硅藻鉴定系统[M]. 中山大学出版社,2012.
Krammer K, Lange-Bertalot H, et al. The diatom identification system [M]. Zhongshan University Press, 2012.
- [11] Porada P, Weber B, Elbert W, et al. Estimating impacts of lichens and bryophytes on global biogeochemical cycles [J]. Global Biogeochemical Cycles, 2014, **28**(2): 71–85.
- [12] Golubic S, Friedmann I, Schneider J. The lithobiontic ecological niche, with special reference to microorganisms [J]. Journal of Sedimentary Petrology, 1981, **51**(2): 475–478.
- [13] Antony C P, Cockell C S, Shouche Y S. Life in (and on) the rocks [J]. Journal of Biosciences, 2012, **37**(1): 3–11.
- [14] Jongmans A G, Van Breemen N, Lundström U, et al. Rock-eating fungi [J]. Nature, 1997, **389**(6652): 682–683.
- [15] 吴涛,陈骏,连宾. 微生物对硅酸盐矿物风化作用研究进展[J]. 矿物岩石地球化学通报,2007,**26**(3): 263–268.
WU Tao, CHEN Jun, LIAN Bin. Research progress of microbial effect on the weathering of silicate minerals [J]. Bulletin of Mineralogy Petrology and Geochemistry, 2007, **26**(3): 263–268.
- [16] 曹建华,袁道先. 石生藻类,地衣,苔藓与碳酸盐岩持水性及生态意义[J]. 地球化学,1999,**28**(3): 248–256.
CAO Jian-hua, YUAN Dao-xian. Epilithic algae, lichens, mosses, and water holding of carbonate rock and its ecological significance [J]. Geochemistry, 1999, **28**(3): 248–256.
- [17] 肖奕,王汝成,陆现彩,等. 低温碱性溶液中微纹长石溶解性质研究[J]. 矿物学报,2004,**23**(4): 333–340.
XIAO Yi, WANG Ru-cheng, LU Xian-cai, et al. Study on the properties of micro grain feldspar dissolution in alkaline solution at low temperature [J]. Journal of minerals, 2004, **23**(4): 333–340.
- [18] Brehm U, Gorbushina A, Mottershead D. The role of microorganisms and biofilms in the breakdown and dissolution of quartz and glass [J]. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology, 2005, **219**(1): 117–129.
- [19] Conley D J. Terrestrial ecosystems and the global biogeochemical silica cycle [J]. Global Biogeochemical Cycles, 2002, **16**(4): 68–1–68–8.

Investigation of microbial community on the Ming Dynasty Wall at Nanjing and an exploration of the effect of algal bio-weathering on the wall brick

CAI Xiao-chen¹, SUN Lily¹, WAN Li², HUANG Cheng¹

(1. College of Life Science, Nanjing University, Nanjing 210023, China; 2. Nanjing Museum, Nanjing 210016, China)

Abstract: In an investigation of the microbial community on the Ming Dynasty Wall at Nanjing, microorganisms were cultivated from the surfaces of city walls at Zhonghuamen, Xuanwu Lake and Pipa Lake city and analyzed by electron microscopy. It is found that lichens, mushrooms, actinomycetes, filamentous fungi, cyanobacteria, epithelic diatoms and Chlorococcum are present ubiquitously on the city wall. On bricks with no lichens and mosses, It is found epithelic diatoms (*Achnanthes lauenburgiana* Hustedt and *Pinnularia borealis* Ehrenberg), which co-exist with filamentous fungi. Further study in an experiment of co-cultivation cultured algae and brick powder demonstrated their weathering effect on the wall brick. This research not only suggested the bio-weathering effect of the epithelic diatoms on silicate stones in a terrestrial epilithic environment, but also provided the oretical support for efforts to prevent the corrosive effect of algae on the Ming Dynasty wall.

Key words: Ming Dynasty wall protection; Microbial community of Nanjing Ming Dynasty Wall; Mechanism of algal bio-weathering on silicate

(责任编辑 谢燕)