文章编号:1005 - 1538(2022)01 - 0020 - 08
DOI: 10.16334/j.cnki.cn31 - 1652/k.20201101931

真丝文物霉变菌株的分离、鉴定及防霉药剂筛选

王毅婧,黄阳阳,黄小萃,刘 臣,邱海丽
(苏州市职业大学丝绸应用技术研究所,江苏苏州 215002)

摘要: 中国的桑蚕丝织业延绵千年,真丝文物记载了中国作为丝绸古国的辉煌历史,对中国古文化及古工业的研究都具有重要意义。而真丝文物在出土及保藏过程中极易遭受霉菌污染,严重影响文物的研究展示和文化价值的传承,成为各大博物馆和研究所的困扰。通过对真丝文物霉变菌株的分离及鉴定,可以了解真丝文物霉菌污染现状,为真丝文物的防霉控制提供靶标菌株。筛选真丝文物防霉处理剂可为探索真丝文物防霉控制方法提供新的思路,促进真丝文物防霉新技术的开发。

本研究从苏州丝绸博物馆霉变真丝文物中分离纯化得到 4 株霉菌,分别编号为 A、D、H、K。采用点植法培养真丝霉变菌株单菌落,观察其菌落特征和培养特性,通过显微观察法记录分生孢子形态、大小等显微结构,结合分子生物学方法构建系统发育树,对真丝文物霉变菌株进行鉴定。同时采用牛津杯法测试 3 - 碘 - 2 丙炔基 - N - 正丁基氨基甲酸酯(IPBC)、2 - 甲基 - 4 - 异噻唑啉 - 3 - 酮(MIT)、苯并异噻唑啉 - 3 - 酮(BIT)、聚六亚甲基单胍磷酸盐(PHMG)4 种防霉剂对 4 株真丝霉变菌株的抑菌活性。结果表明:4 株霉菌分别属于半知菌类丛梗孢目的 3 个属:曲霉属(*Aspergillus*),节孢霉属(*Arthrinium*)及芽枝霉属(*Cladosporium*),其中 A 属于节孢霉属,D 属于曲霉属,H、K 属于芽枝霉属。防霉剂毒力测试结果表明,不同菌株对不同防霉剂的敏感性不同。MIT 及 IPBC 对真丝文物霉变菌株有良好的抑制效果,其中 MIT 对 4 株霉菌的抑菌活性最为明显,对 A、H 及 K 菌株的毒力均优于其他 3 种防霉剂,对 D 菌株的毒力仅次于 IPBC,EC_{50}分别为 56.235 5 mg/L、292.173 7 mg/L、190.045 6 mg/L 及 62.681 5 mg/L;IPBC 的综合毒力仅次于 MIT,对菌株 D 的毒力最高,EC_{50}分别为 250.283 0 mg/L、27.454 0 mg/L、480.325 7 mg/L 及 997.239 2 mg/L。PHMG 及 BIT 对 4 株真丝霉变菌株的抑菌活性相对较低。

本研究通过对真丝文物霉变菌株的鉴定及防霉药剂的筛选,明确了 4 种真丝文物霉变菌株的生物学归属,确定了 2 种高效防霉处理剂,为真丝文物防霉手段的开发提出了新的可能,对进一步探究如何抑制真丝文物表面的霉菌生长,降低霉菌污染的危害,延长真丝展品及文物的保存提供了有效依据。

关键词: 真丝文物;霉菌;鉴定;防霉剂筛选
中图分类号: K876.9,Q93.331 **文献标识码**: A

0 引 言

中国自古就以“丝绸之国”享誉国际,古代发达的丝绸纺织业为我们留下了诸多宝贵的文化遗产[1]。近年来各种考古工作中出土了大量的真丝文物,成为了珍贵的丝绸档案[2-3]。然而丝织品是一种天然蛋白质纤维,其储存环境中存在的霉菌等微生物可以以真丝蛋白为营养基质,在适宜条件下迅速繁殖,引起真丝文物霉变,从而导致真丝文物色泽改变、纤维褪化,严重影响真丝文物的保存[4]。因此,对真丝文物防霉技术的研究越来越受到人们的重视。目前对霉变真丝文物的保护工作以霉斑清除及生物技术手段为主[5-7],而真丝文物由于其蛋白成分及纤维结构的特殊性,即使清除其表面霉斑后,保存不当仍会发生二次霉变。因此,分离出最易引起真丝文物霉变的微生物,并对其进行鉴定,为真丝文物防霉技术的开发提供靶标菌株,同时筛选安全、高效的防霉药剂,对真丝文物长期防霉保护具有重要意义。近年来,异噻唑啉酮及氨基甲酸酯类等防霉剂因其具有长效、低毒、高效、广谱等特点,被广

收稿日期:2020 - 11 - 09;修回日期:2021 - 01 - 20
基金项目:苏州市科技计划项目资助(SS2019032),江苏省大学生创新创业训练计划项目资助(201911054024Y)
作者简介:王毅婧(1985—),女,硕士研究生,2011 年 7 月毕业于沈阳农业大学农药学专业,实验师,主要从事农药学、微生物检测及防治等方面的研究,E - mail: wyj@jssvc.edu.cn

万方数据

泛应用到各类文物的防霉保护及防霉制品的生产中[8-10]。通过测定不同真丝文物霉变菌株对各防霉药剂的敏感性差异,可以针对性地筛选出真丝文物防霉处理剂,以期为真丝文物防霉控制提供理论基础和防治依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料及试剂　霉变黑色团花马褂及霉变元色亮花缎坎肩(图 1),来源于苏州丝绸博物馆于 20 世纪 90 年代收集的民国时期民间传世品,馆藏储存温度 10 ~ 20 ℃,湿度 50% ~60%;孟加拉红培养基、马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)及察氏培养基,购自北京陆桥技术股份有限公司;3 - 碘 - 2 丙炔基 - N - 正丁基氨基甲酸酯(IPBC)、2 - 甲基 - 4 - 异噻唑啉 - 3 - 酮(MIT)、苯并异噻唑啉 - 3 - 酮(BIT)、聚六亚甲基单胍磷酸盐(PHMG)购自佛山市丽源化工有限公司。

图 1　霉变真丝文物

Fig. 1　Silk relics contaminated by mold

1.1.2 主要仪器　SW - CJ - 1F 型超净工作台,苏州安泰空气技术有限公司;YXQ - LS - 50SⅡ型高压灭菌锅,上海博迅实业有限公司医疗设备厂;MJPS - 150 型霉菌培养箱,上海精宏实验设备有限公司;XSP - 2C 型显微镜,上海兴行实业有限公司;漩涡振荡器,合肥艾本森科学仪器有限公司。

1.2 霉变菌株分离及鉴定

1.2.1 霉变菌株分离、纯化　用无菌棉签轻轻擦拭真丝文物表面霉斑部位,蘸取霉菌孢子,在孟加拉红培养基平板中划线,于 28 ℃霉菌培养箱中恒温培养 5 ~7 d 形成菌落,选择菌落形态典型、分离效果明显的平板,分别挑取单菌落边缘的菌丝,转接到 PDA 培养基平板上 28 ℃培养 7 d 进行纯化培养,经此方法 3 次纯化后获得引起真丝文物霉变的单菌落菌株,转入 PDA 斜面试管中 28 ℃培养 7 d,培养后的斜面菌种于 4 ℃冷藏箱中保存备用。

1.2.2 形态学鉴定　采用点植法将分离纯化后的斜面菌种接种于察氏培养基上,28 ℃培养 7 d 后观察霉菌菌落形态并制作显微镜镜检切片[11],记录霉变菌株的生长速度、菌落形态、颜色等特点,显微镜镜检观察霉菌分生孢子梗及分生孢子形态特征,按照《真菌鉴定手册》[12]对分离得到的霉菌进行初步鉴定。

1.2.3 分子生物学鉴定　扩增真菌 ITS 序列使用通用引物 ITS1:5' - TCCGTAGGTGAACCTGCGG - 3',ITS4:5' - TCCTCCGCTTATTGATATGC - 3',NS1:5' - GTAGTCATATGCTTGTCTC - 3',NS6:5' - GCATCACAGACCTGTTATTGCCTC - 3'。PCR 反应体系为 25 μL,组分为:Template 0.5 μL,10 × Buffer 2.5 μL,dNTP 1 μL,酶 0.2 μL,上下游引物各 0.5 μL。PCR 循环条件为:95 ℃预变性 4 min,94 ℃变性 45 s,55 ℃退火 45 s,72 ℃延伸 1 min,30 个循环,72 ℃修复延伸 10 min,4 ℃保存。委托上海生工对分离纯化后的霉变菌株进行序列测定,测序得到的菌株基因序列分别于 NCBI 核酸序列数据库中进行 BLAST 分析,与已知序列进行对比,进行同源性分析[13]。利用 MEGA7 软件进行多序列比对,采用邻接法(Neighbor - Joining)构建系统发育树。结合霉菌的形态学特征确定真丝文物各霉变菌株的分类学地位。

1.3 防霉药剂筛选

1.3.1 防霉剂药效　试验按照 IPBC、MIT、BIT、PHMG 的药剂使用说明书及预实验结果,分别将四种防霉剂稀释为 5 个浓度梯度(表 2)。分别取 10 mL 无菌水加入到纯化培养好的各斜面菌种中,用无菌接种环轻刮表面洗出霉菌孢子,将洗出的

万方数据

孢子液倒入含玻璃珠的离心管中,4 000 r/min 离心 10 min,去掉上清液,加入 50 mL 无菌水离心洗涤沉淀三次,用无机盐营养液稀释洗涤后的沉淀,制备霉菌孢子悬浮液,血球计数法计数,控制霉菌孢子悬浮液浓度为 1×10^6 个/mL ~ 5×10^6 个/mL[14]。取 0.5 mL 孢子悬浮液接种至 PDA 培养基平板中,涂布均匀,将无菌牛津杯置于培养皿中心,取不同浓度的各药剂 0.2 mL 分别加入到牛津杯中,每个浓度重复 3 次,无菌水做对照,28 ℃培养 7 d 观察药效。

1.3.2 *药效试验数据处理* 采用十字交叉法测量抑菌圈直径,根据抑菌圈直径占含菌培养基直径的百分率计算相对抑菌率[15]。以防霉剂各浓度对数值为自变量 x,相对抑菌率为因变量 y,建立防霉剂毒力回归方程,计算抑制中浓度 EC_{50}[16]。

2 结 果

2.1 霉变菌株形态学观察

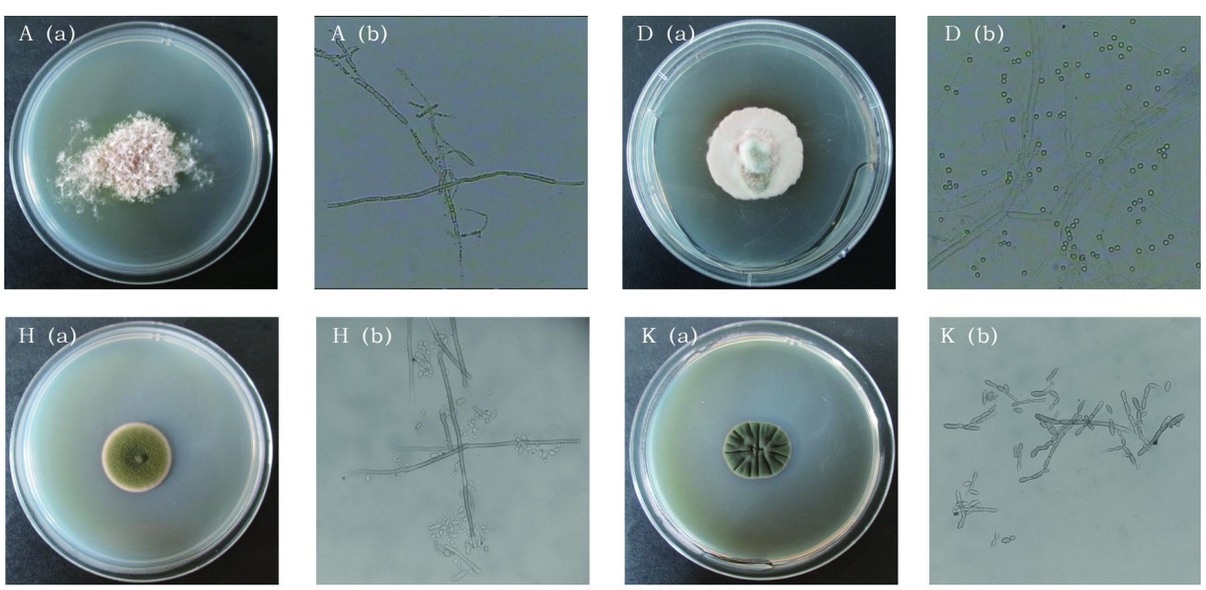
通过平板纯化,从霉变真丝文物中共分离 4 株霉菌,分别编号为 A、D、H、K。依据霉菌形态学培养方法对各菌株进行培养,选取典型菌株进行形态学观察,为霉变菌株的鉴定提供参考。各菌株在察氏培养基上的菌落形态、分生孢子梗及分生孢子等显微形态特征如图 2 所示。

菌株 A:生长速度中等,菌丝体较长、白色,呈辐射状向周围生长,菌落背面呈黄橙色。分生孢子梗与菌丝明显不同,分生孢子梗光滑、无色、无分枝、有隔膜。

菌株 D:生长速度缓慢,菌落呈绒毛状、乳白色,菌落背部呈浅橙色。分生孢子梗光滑、无色、有分枝、有隔膜。分生孢子小而光滑,球形或亚球形。

菌株 H:生长速度缓慢,菌落呈绒毛状,初期呈白色,后变为绿褐色。分生孢子梗无膨大,线形,单生,暗色,有分隔;分生孢子卵圆形、椭圆形或纺锤形,无色,光滑,有隔膜 0 ~ 2 个。

菌株 K:生长速度缓慢,菌落呈绒毛状,灰绿色至黑色,边缘白色,菌落表面有褶皱。分生孢子梗单枝或稍分枝,线形,有曲折,暗色,有分隔;分生孢子呈链状,卵圆形或椭圆形,无色,光滑,有隔膜。



(a) 菌落形态 (b) 显微形态

图 2 霉菌菌落形态与显微形态

Fig. 2 Colony morphology and microscopic shape of mold strains

2.2 分子生物学鉴定结果

将 4 株霉菌的基因序列与 NCBI 核酸序列数据库中收录的基因序列进行同源性比对,选取数据库中参照序列同源性最高的霉菌标准序列为参比对象,测序比对结果见表 1。选取同源性最高的相关菌株进行同源性分析,构建系统发育树(图 3),确定菌株的分类学地位。

根据系统发育树分析结果,结合不同菌株形态学特征和同源性比对结果,确定 4 株菌株按照亲缘关系分别属于半知菌类丛梗孢目的 3 个属:丛梗孢科曲霉族曲霉属(*Aspergillus*),暗梗孢科节孢霉族节孢霉属(*Arthrinium*),暗梗孢科双孢亚科芽枝霉属(*Cladosporium*)。其中 A、D 分别属于节孢霉属和曲霉属,H、K 属于芽枝霉属。同源性比

万方数据

对结果显示,与4 株霉变菌株同源性高于99% 的序列较多。通过图2 形态学观察可知 H 与 K 虽属于同属但不同种。图3 表明,A、D、H、K 菌株在分类学上分别与 KP269008.1、KT310987.1、KP278171.1、KX078479.1 的亲缘关系更近,但尚不足以鉴定到具体的种。

表 1　4 株霉菌同源性比对

Table 1　BLAST results of the 4 mold strains

菌株编号	分子鉴定	登录号	相似度
A	*Arthrinium sp.*	KP269008.1	99%
D	*Aspergillus sp.*	KT310987.1	99%
H	*Cladosporium sp.*	KP278171.1	99%
K	*Cladosporium sp.*	KX078479.1	99%

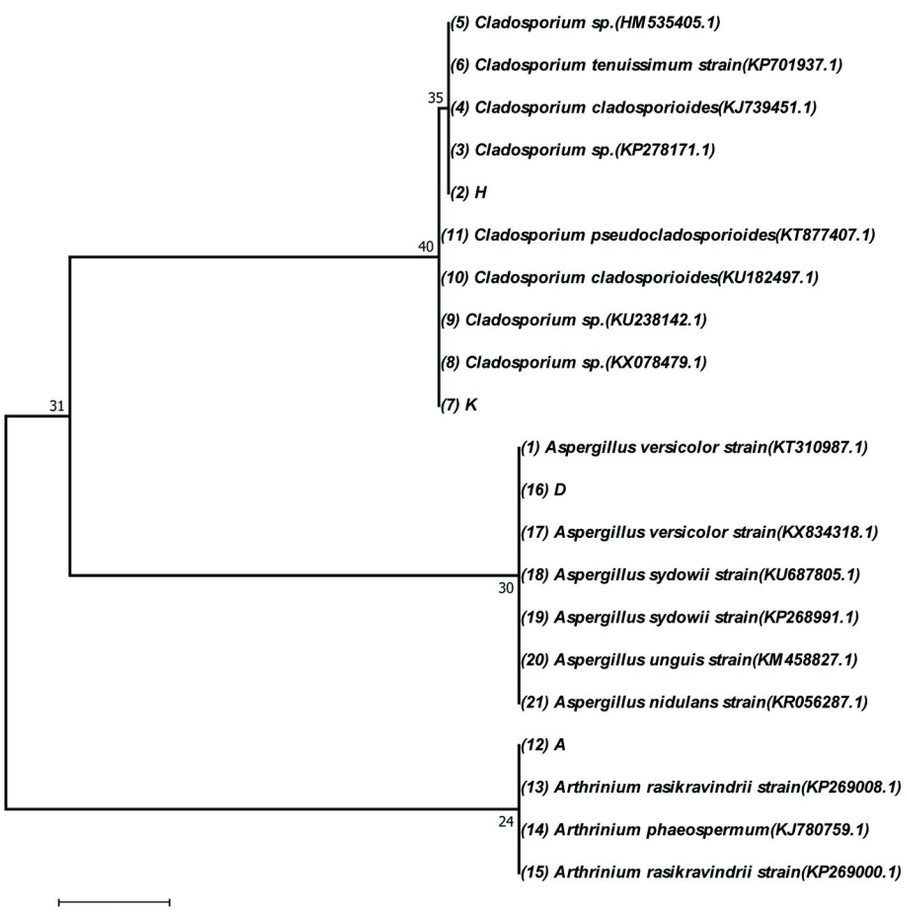


图 3　基于 ITS 基因序列构建系统发育树

Fig. 3　Phylogenetic tree established on the basis of ITS

2.3　防霉剂药效结果分析

根据4 种防霉剂的抑菌效果建立不同菌株毒力回归方程,试验结果显示 4 种防霉剂有效成分含量与抑菌率相关系数均达显著水平,不同防霉剂对供试霉菌均有一定的抑制效果,且抑制效果均与药剂浓度呈正比,但是不同防霉剂对不同真丝文物霉变菌株的抑制效果差异较大。4 种防霉剂中 PHMG 及 BIT 的抑菌效果相对较低,其中 PHMG 对菌株 A 及菌株 H 的毒力较低,EC_{50} 分别为 4 093.028 3 mg/L 及 2 949.672 2 mg/L;BIT 对菌株 D 及菌株 K 的毒力最小,EC_{50} 分别为 2 082.539 5 mg/L 和5 584.528 7 mg/L。同一类型的防霉剂对不同真丝文物霉变菌株的抑菌效果也具有较大差异,供试防霉剂中 BIT 与 MIT 均属于异噻唑啉酮类药剂,其中 BIT 对 4 种真丝文物霉变菌株的抑制作用较小,而 MIT 对 A、H 及 K 菌株的毒力均

万方数据

优于其他3种防霉剂，EC_{50}分别为56.235 5 mg/L、292.173 7 mg/L及190.045 6 mg/L，对D菌株的毒力仅次于IPBC，EC_{50}为62.681 5 mg/L。IPBC的综合毒力仅次于MIT，对菌株D的毒力最高，EC_{50}仅为27.454 0 mg/L，对菌株A、H及K菌株的EC_{50}分别为250.283 0 mg/L、480.325 7 mg/L及997.239 2 mg/L（表2~5）。由此可以看出，MIT及IPBC对真丝文物霉变菌株有良好的抑制效果，具有一定的推广应用前景。

表2 4种防霉剂对菌株A的毒力测定

Table 2 Toxicity of 4 kinds of fungicides on Strain A

药剂名称	有效成分含量/(mg·mL^{-1})	抑菌圈直径/cm	毒力回归方程	决定系数(R^2)	EC_{50}/(mg·L^{-1})
IPBC	10	2.47	$y=3.894\ 5+0.460\ 9x$	0.974 7	250.283 0
	20	2.70			
	40	3.10			
	80	3.50			
	160	4.40			
MIT	10	2.47	$y=3.778\ 8+0.697\ 8x$	0.980 8	56.235 5
	20	3.63			
	40	4.23			
	80	5.03			
	160	5.40			
BIT	150	2.40	$y=1.791\ 6+1.200\ 9x$	0.998 6	469.409 9
	300	3.70			
	600	5.07			
	1 200	6.27			
	2 400	7.13			
PHMG	50	1.15	$y=2.867\ 4+0.590\ 4x$	0.988 5	4 093.028 3
	100	1.65			
	200	1.80			
	400	2.53			
	800	3.07			

表3 4种防霉剂对菌株D的毒力测定

Table 3 Toxicity of 4 kinds of fungicides on Strain D

药剂名称	有效成分含量/(mg·mL^{-1})	抑菌圈直径/cm	毒力回归方程	决定系数(R^2)	EC_{50}/(mg·L^{-1})
IPBC	10	3.73	$y=4.104\ 1+0.622\ 7x$	0.985 5	27.454 0
	20	3.95			
	40	4.75			
	80	5.65			
	160	6.17			
MIT	10	1.85	$y=3.076\ 4+1.070\ 4x$	0.973 9	62.681 5
	20	2.85			
	40	3.55			
	80	4.30			
	160	6.47			
BIT	150	1.03	$y=1.597\ 9+1.025\ 2x$	0.979 1	2 082.539 5
	300	2.05			
	600	2.45			
	1 200	3.20			
	2 400	5.05			
PHMG	50	1.25	$y=2.825\ 9+0.667\ 4x$	0.984 9	1 810.074 6
	100	1.97			
	200	2.45			
	400	2.75			
	800	3.73			

万方数据

表 4　4 种防霉剂对菌株 H 的毒力测定

Table 4　Toxicity of 4 kinds of fungicides on Strain H

药剂名称	有效成分含量/(mg·mL^{-1})	抑菌圈直径/cm	毒力回归方程	决定系数(R^2)	EC_{50}/(mg·L^{-1})
IPBC	10	2.20	$y=3.918\ 9+0.403\ 2x$	0.995 3	480.325 7
	20	2.60			
	40	3.05			
	80	3.45			
	160	3.73			
MIT	10	1.40	$y=3.200\ 2+0.729\ 9x$	0.984 4	292.173 7
	20	1.67			
	40	2.35			
	80	2.83			
	160	4.07			
BIT	150	2.17	$y=2.479\ 2+0.872\ 2x$	0.982 2	776.359 4
	300	3.35			
	600	4.47			
	1 200	5.25			
	2 400	5.70			
PHMG	50	1.80	$y=3.220\ 8+0.512\ 8x$	0.954 0	2 949.672 2
	100	1.97			
	200	2.30			
	400	2.70			
	800	3.80			

表 5　4 种防霉剂对菌株 K 的毒力测定

Table 5　Toxicity of 4 kinds of fungicides on Strain K

药剂名称	有效成分含量/(mg·mL^{-1})	抑菌圈直径/cm	毒力回归方程	决定系数(R^2)	EC_{50}/(mg·L^{-1})
IPBC	50	0.83	$y=2.475\ 4+0.841\ 9x$	0.907 7	997.239 2
	100	2.33			
	200	3.03			
	400	3.33			
	800	3.73			
MIT	10	1.10	$y=3.023\ 2+0.867\ 5x$	0.975 0	190.045 6
	20	1.73			
	40	3.03			
	80	3.17			
	160	4.13			
BIT	300	1.03	$y=2.024\ 7+0.794\ 1x$	0.926 8	5 584.528 7
	600	2.53			
	1 200	3.03			
	2 400	3.40			
	4 800	4.00			
PHMG	50	0.83	$y=2.490\ 2+0.745\ 3x$	0.983 0	2 331.119 8
	100	1.53			
	200	2.10			
	400	2.53			
	800	3.13			

万方数据

3 讨 论

研究显示霉变真丝文物中芽枝霉属霉菌在真丝文物中污染情况较为严重,本研究分离得到的霉变菌株种类与真丝文物中经常出现的霉菌种类基本一致[5,17]。由于采样点的局限性,本研究仅分离得到4株真丝霉变菌株,且均是从霉变真丝文物表面直接取样得到的,不能全面反映真丝文物的霉菌污染情况。今后可对真丝文物存放环境中的霉菌取样鉴定以进行对比,进一步研究不同存放环境对真丝文物霉变的影响。霉菌在真丝文物表面生长不仅会影响真丝文物的保存,同时霉菌产生的代谢物亦会对人体产生危害[18]。

4 结 论

本研究测定了4种防霉剂对4株真丝文物霉变菌株的毒力,结果显示MIT和IPBC对4株真丝文物霉变菌株的抑菌效果较好,后续可利用此两种防霉剂对真丝文物表面进行防霉处理。另外本研究仅对4种防霉剂的单一防霉效果进行了探讨,多种防霉剂复合使用对真丝文物霉变菌株的防治效果还有待进一步的研究。本研究通过对真丝文物霉变菌株的鉴定及防霉药剂的筛选,为进一步探究如何抑制真丝文物表面的霉菌生长,降低霉菌污染的危害,延长真丝展品及文物的保存提供了有效依据。

参考文献:

[1] 邱巧丽. 丝织品文物的植物染料分析及其清洗修复研究[D]. 上海:华东理工大学,2016.
QIU Qiaoli. The plant dyes' analysis of silk relics and study on its cleaning and restoration[D]. Shanghai: East China University of Science and Technology,2016.

[2] 李世超,唐长波,黄阳阳. 丝绸纹样档案保护中的霉菌防治[J]. 档案与建设,2017(3):88-90.
LI Shichao, TANG Changbo, HUANG Yangyang. Prevention and control of mold in silk pattern archives protection[J]. Archives and Construction,2017(3):88-90.

[3] 赵素花,李梦娟,刘洪玲,等. 青酶加固蚕丝织物的性能表征及寿命评估[J]. 东华大学学报(自然科学版),2020,**46**(3):362-369.
ZHAO Suhua, LI Mengjuan, LIU Hongling, *et al*. Performance characterization and life assessment of the silk fabric reinforced by transglutaminase[J]. Journal of Donghua University (Natural Science Edition),2020,**46**(3):362-369.

[4] 武望婷. 新型防霉剂CM-1在丝织品保护中的应用研究[J]. 文物保护与考古科学,2011,**23**(2):64-69.
WU Wangting. Application of new fungicide CM-1 in silk conservation[J]. Sciences of Conservation and Archaeology,2011,**23**(2):64-69.

[5] 郭敏,熊涛,邱祖明,等. 古代丝织品文物霉斑清洗的生物学方法探析[J]. 安徽农业科学,2010,**38**(34):19857-19860,19862.
GUO Min, XIONG Tao, QIU Zuming, *et al*. Explorative analysis on cleaning mildew stain on ancient silk culture products by using biological method[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences,2010,**38**(34):19857-19860,19862.

[6] 何俊,彭志勤,周旸,等. 天然材料在丝织品文物清洗保护中的应用综述[J]. 文物保护与考古科学,2013,**25**(2):83-93.
HE Jun, PENG Zhiqin, ZHOU Yang, *et al*. The application of natural materials in cleaning excavated silk textiles[J]. Sciences of Conservation and Archaeology,2013,**25**(2):83-93.

[7] 孔旭. 古代纺织品的保护——丝织品文物清洁及贮藏的研究[D]. 上海:东华大学,2004.
KONG Xu. The conservation of antique textiles: a research on the cleaning and storage of ancient silk[D]. Shanghai: Donghua University,2004.

[8] 丁佳荣,张岚,郭红樱,等. 志丹苑元代水闸遗址霉菌及防霉剂抑菌效果的再调查与评估[J]. 文物保护与考古科学,2018,**30**(4):99-103.
DING Jiarong, ZHANG Lan, GUO Hongying, *et al*. Reinvestigation of fungal species and reevaluation of the antifungal effect of the fungicide used for the Zhidanyuan Sluice Site of the Yuan Dynasty[J]. Sciences of Conservation and Archaeology,2018,**30**(4):99-103.

[9] GARCIA-HIDALGO E, SOTTAS V, VON GOETZ N, *et al*. Occurrence and concentrations of isothiazolinones in detergents and cosmetics in Switzerland[J]. Contact Dermatitis,2017,**76**(2):96-106.

[10] 张小华,陆建兰,何任红. 异噻唑啉酮型微胶囊防霉剂的制备及防霉效果研究[J]. 中国皮革,2018,**47**(8):1-4.
ZHANG Xiaohua, LU Jianlan, HE Renhong. Preparation and anti-mildew effect of isothiazolinone microcapsule mould inhibitor[J]. China Leather,2018,**47**(8):1-4.

[11] 徐艳阳,于静,缪彬彬. 等. 玉米中霉菌的分离纯化及鉴定[J]. 食品研究与开发,2015,**36**(16):137-141.
XU Yanyang, YU Jing, MIAO Binbin, *et al*. Separation purification and identification of molds in corn[J]. Food Research And Development,2015,**36**(16):137-141.

[12] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1979.
WEI Jingchao. Manual of fungal identification[M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers,1979.

[13] MOHAMMADI A, BAHRAMIKIA S. Molecular identification and genetic variation of Alternaria species isolated from tomatoes using ITS1 sequencing and inter simple sequence repeat methods[J]. Current Medical Mycology,2019,**5**(2):1-8.

[14] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. 纺织品防霉性能的评价:GB/T 24346—2009[S]. 北京:中国标准出版社,2009.
General Administration of Quality Supervision, Inspection and

万方数据

Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of the People's Republic of China. Textiles—Evaluation for anti - mould activity: GB/T 24346—2009[S]. Beijing: Standards Press of China, 2009.

[15] 赵杰,周超英,顾振芳. 几种杀菌剂对甜瓜枯萎病菌的室内毒力测定[J]. 上海交通大学学报(农业科学版),2006,**24**(4):386 - 388,393.
ZHAO Jie, ZHOU Chaoying, GU Zhenfang. Toxicity of several fungicides to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*[J]. Journal of Shanghai Jiaotong University(Agricultural Science),2006,**24**(4):386 - 388,393.

[16] CHEN F, HAN P, LIU P, *et al*. Activity of the novel fungicide SYP - Z048 against plant pathogens[J]. Science Report,2014,**4**:6473.

[17] 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[C]//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 Shumei. Investigation and relationship with preservation status of molds groups on the ancient silk fabric[C]//Documentary of Relics Protection and Restoration: Proceedings of the 8th National Conference on Archaeology and Relic Protection (Chemistry). Guangzhou: Lingnan Fine Arts Publishing House, 2004: 262 - 271.

[18] 陶琴. 档案有害生物监测技术[J]. 中国档案,2014(7):64 - 66.
TAO Qin. Monitoring techniques of archival pests[J]. China Archives,2014(7):64 - 66.

Isolation, identification and fungicide screening of mold strains from silk relics

WANG Yijing, HUANG Yangyang, HUANG Xiaocui, LIU Chen, QIU Haili
(*Institute of Application Technology of Silk, Suzhou Vocational University, Suzhou* 215002, *China*)

Abstract: The silk industry in China has lasted for thousands of years. Having great value in history, art and science, unearthed silk relics recording the brilliant history of China are important elements in the ancient Chinese civilization. However, during excavation and preservation, silk relics are prone to being contaminated by microorganisms, especially mold, and the destruction is terrible and irreversible for silk relics. Investigation of these organisms can help us understand the current situation of contaminated silk relics ,and help to find new mold inhibitors. Effective fungicide screening lays a foundation for the conservation of silk relics and the development of mold - prevention technology.

Four mold strains were isolated and purified from silk relics in Suzhou Silk Museum and were designated Strains A, D, H and K. Then, the four mold strains were identified by morphological observation and molecular biological methods. In addition, the Oxford cup method was used to determine the activities of four fungicides (IPBC, MIT, BIT and PHMG) as inhibitors of these strains. According to the colony morphological characteristics , conidial morphology in PDA plates and molecular identification results , the four mold strains were classified into three genera, namely *Aspergillus*, *Arthrinium* and *Cladosporium*, of which *Cladosporium* was the dominant genus causing mold contamination. Strain A was identified as *Arthrinium*, Strain D as *Aspergillus* and Strain H and K as *Cladosporium*. The inhibition test results indicate that different isolates had different sensitivities to the fungicides . The fungicidal circle experiment showed that both MIT and IPBC had strong fungicidal activity against all the four mold strains. MIT had the strongest activity, with EC_{50} values of 56.2 mg/L, 292.2 mg/L, 190.0 mg/L and 62.7 mg/L, respectively. The second strongest was IPBC, with EC_{50} values of 250.3 mg/L, 27.5 mg/L, 480.3 mg/L and 997.2 mg/L, respectively. BIT and PHMG had relatively lower activities as inhibitors of the four strains. The present results of this study show that MIT and IPBC were suitable fungicides for inhibiting mold contamination of silk relics. Isolation and identification of these microorganisms could help prevent the growth of mold and provides a reference for the research and development of silk relic conservation .

Key words: Silk relics; Mold; Identification; Fungicide screening

(责任编辑　潘小伦;校对　马江丽)

万方数据