

研究简报

白桦木材变色生防菌的筛选研究

李小清, 常建民

(北京林业大学材料科学与技术学院, 北京 100083)

摘要: 木材变色病原菌易引起木材变色,使木材发生降解。笔者采用从白桦原位土壤及自身组织分离纯化的方法,寻找对白桦变色病原菌具有拮抗作用的生防菌。经过改良5点对峙试验,筛选出对白桦木材变色5种病原菌具有拮抗作用的生防菌株共42株,其中x18及x26对5种病原菌都具有明显的抑制效果,菌落抑菌圈半径最大达2.1 cm。

关键词: 白桦; 生物防变色; 抑菌圈; 生防菌

中国分类号:S792.153;S782.33 文献标识码:B 文章编号:1001-8654(2008)05-0011-03

Bio-control Method to Inhibit Sapstain Fungi

LI Xiao-qing, CHANG Jian-min

(Material Science and Technology College of Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: Sapstain fungi, which are a main cause for wood discoloration, reduce the value of logs, lumber and even the mechanical performance. Water immersion and chemical treatment are commonly-used methods to prevent sapstain fungi. A biocontrol method of using microbes to inhabit sapstain fungi was described in this paper. The microbes were developed from isolated sapstain fungi grown on birch wood logs (*Betula platyphylla*). A total of 42 biocontrol microbes were identified having antagonistic effects on sapstain fungi to certain degrees. Among them, two were found to be very effective to prevent all sapstain fungi. The results would provide help and guidance for future studies.

Key words: *Betula platyphylla*; biocontrol of sapstain; inhibition zone; biocontrol microbe

引起木材变色的因素很多,其中最为严重的是由微生物引起的木材变色,而且色素通过菌丝进入木材内部,使整块木材的不同部位发生不均匀的变色,严重影响木材的色泽和等级。另外,木材由于变色病原菌菌丝的穿透,形成许多小孔,易受腐朽菌的侵害,产生腐朽,使木材的力学性能下降。目前,生产实践中对于木材变色病原菌的防治,主要采用物理法(水存、湿存)和化学药剂法^[1]。

随着环境保护意识的日益增强,木材变色病原菌的防治研究出现了新的方法——生物防变色^[2-5],其原理是利用微生物之间营养和生存空间竞争等关系,

寻找与变色病原菌有拮抗作用的生防菌,来达到抑制以致消除病原菌的目的。笔者对变色白桦病原菌进行了分离,并从白桦原位土壤及木材本身筛选出抑制病原菌的生防菌,为利用生物防治变色病原菌提供有益的探讨。

1 材料和方法

1.1 材料

采集内蒙古大兴安岭地区的林地土壤样品以及白桦(*Betula platyphylla*)变色木材,将变色的白桦木材制成10 mm×50 mm×1 mm的薄片,分别装入无菌容器内备用。

1.2 分离用培养基

平板培养基均采用直径90 mm的培养皿,斜面培养基采用10 mm×100 mm试管。

收稿日期:2008-01-25; 修改日期:2008-08-06

基金项目: 国家教育部归国留学人员基金资助项目

作者简介: 李小清(1980—),女,北京林业大学材料科学与技术学院博士研究生。

1) 病原菌用培养基 马铃薯葡萄糖琼脂培养基(1 000 mL):马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂 15 g、pH 值自然。

2) 细菌分离用培养基 牛肉膏蛋白胨琼脂培养基(1 000 mL):牛肉膏 3 g、蛋白胨 10 g、氯化钠 5 g、琼脂 15 g,pH 7.2~7.4。

3) 放线菌分离用培养基

甘油精氨酸培养基(1 000 mL):甘油 20 g、氯化钠 1 g、碳酸钙 0.1 g、L-精氨酸 2.5 g、七水硫酸亚铁 0.1 g、七水硫酸镁 0.1 g、琼脂 15 g,pH 6.8~7.0。

高氏 1 号琼脂培养基(1 000 mL):可溶性淀粉 20 g、氯化钠 0.5 g、硝酸钾 1 g、磷酸氢二钾 0.5 g、硫酸铁 0.01 g、七水硫酸镁 0.5 g、琼脂 15 g,pH 7.2~7.4。

葡萄糖-天门冬素培养基(1 000 mL):葡萄糖 10 g、天门冬素 0.5 g、牛肉膏 2 g、磷酸氢二钾 0.5 g、琼脂 15 g,pH 6.8 或自然。

1.3 白桦变色病原菌的分离

参照组织分离法^[6],将经过表面消毒的白桦木材,用无菌剪刀剪成 10 mm×1.5 mm 的小块,栽种于分离用马铃薯葡萄糖琼脂培养基平板上,置于 25℃恒温箱中培养;当样品周围明显长出菌丝时,采用尖端菌丝挑取法,挑取形态不同的菌落,用画线法使混杂的细菌分开,放入平板再次培养,如此循环纯化,直至得到纯菌种。

纯菌种转接到斜面培养基上纯化 2 次后,在 4~6℃条件下保存备用。

1.4 病原菌致病性测定

将病原菌回接到白桦木材上,以检测其致病性。挑选健康的白桦木材制成 10 mm×10 mm×1 mm 的薄片,用锡纸包裹,经 121℃、15 min 高压灭菌后制得无菌木,将分离的纯化病原菌接种到马铃薯葡萄糖琼脂平板上,25℃条件下培养 2 d 后,放置无菌木于平板中央继续培养,10 d 后开始观察发病情况。

1.5 土壤及白桦本身放线菌、细菌分离

采用土壤稀释分离法,处理采集的土壤样品。称取研细的土样 5 g,加入盛有 45 mL 无菌水的三角瓶中,充分振荡 10 min,待土粒沉淀后,取 1 mL 上清液加入到 9 mL 无菌水中,充分混合,依次稀释至 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} ,各取 0.1 mL 分别加到分离培养基平板上,用涂布棒涂匀。

采用与病原菌分离相同的组织分离法,将白桦木片用 70℃热水处理 30 min,接种于分离用培养基平

板上。

将土壤及白桦木材自身放线菌、细菌的培养皿倒置,于 30℃恒温培养。放线菌 3~4 d 开始挑菌,把长出的不同形态的放线菌单菌落转接到高氏 1 号琼脂培养基或葡萄糖-天门冬素琼脂斜面上,再次纯化 2~3 次后,编号 fx**;细菌分离在培养 24~48 h 后开始,将单菌落转接到牛肉膏蛋白胨培养基上,纯化 2 次后,编号 x**;均于 4~6℃环境中保存备用。

1.6 变色病生防菌的筛选

将培养 24 h 的不同放线菌、细菌,分别和变色病原菌在马铃薯葡萄糖琼脂培养基上进行对峙培养。培养采用改良 5 点对峙法,即距平板中心 2.5 cm 的圆环上,在无菌状态等距离滴上 5 点分离放线菌、细菌适宜的琼脂培养基。凝固后,将病原菌接种到平板中心,5 点分别接种不同的放线菌、细菌,30℃恒温培养,2 d 后检测对峙培养结果。根据菌落之间有无抑菌圈、菌落边缘的菌丝是否发生稀疏和萎缩的现象等,来判断放线菌、细菌有无拮抗作用。

2 结果与分析

2.1 变色病原菌的分离及其致病性测定

从变色白桦木材上分离纯化出 11 株变色病原菌供试菌株,编号 bs01~bs11。根据 Koch 氏法则,从变色病木上分离的菌株必须接种到相对应的木材上,以测定其致病性。将分离出的供试菌株分别接种到 20 个无菌木试块上培养,10~30 d 后进行观察。接种菌株 bs03 的无菌木出现了变色症状,且深入内部,发病木共有 16 株,占 80%,接种 bs06、bs09、bs11 也出现变色症状深入内部,发病率占 75%,接种 bs05 的无菌木发病率占 65%,其余供试菌株均不能或轻微使木材变色。白桦木材变色病原菌为 bs03、bs05、bs06、bs09 和 bs11。

2.2 拮抗菌的分离与筛选

从土壤及白桦上共分离到放线菌 98 株,细菌 31 株。用改良 5 点对峙法,从 129 株菌株中筛选出对变色病原菌有拮抗作用的放线菌共 36 株,细菌共 6 株。其中对 bs03 有拮抗的放线菌 25 株,拮抗细菌 4 株,对 bs05 有拮抗的放线菌 15 株,拮抗细菌 2 株,对 bs06 有拮抗的放线菌 12 株,拮抗细菌 5 株,对 bs09 有拮抗的放线菌 12 株,拮抗细菌 5 株,对 bs11 有拮抗的放线菌 17 株,拮抗细菌 4 株;其中 x18 及 x26 对 5 种病原菌都具有明显的拟制效果,菌落抑菌圈半径

最大达 2.1 cm。详见表 1 和表 2。

表 1 放线菌对白桦变色病原菌的抑制效果

Tab. 1 The inhibiting effect of various actinomycetes on sapstain

病原菌	放线菌抑菌圈直径/cm									
	fx01	fx02	fx03	fx12	fx20	fx24	fx25	fx26	fx40	
bs03	0	0.3	0.8	0.7	0.8	0.9	0	0.5	0.6	
bs05	0.5	0	1.1	0	1.3	0	1.2	0	0.8	
bs06	0.4	0.7	0	0	1.0	0	1.0	0.4	0.2	
bs09	0.7	0	0.9	1.0	0	0	0.3	1.0	0	
bs11	0.2	1.2	0.4	0.3	0	0	0	0.2	0	
	fx41	fx43	fx44	fx45	fx46	fx63	fx64	fx65	fx67	
bs03	0	0	1.0	0	0.2	0	1.1	1.0	0.7	
bs05	0	2.1	0.2	0.3	0.3	0.7	0.4	0	0	
bs06	0	0	0	0.7	0.4	0	1.3	0	0	
bs09	0.3	0.3	0	0	0.1	0	2.0	0	1.3	
bs11	0.6	0.5	0	1.0	0.5	1.1	0	0	1.0	
	fx68	fx69	fx70	fx75	fx76	fx77	fx79	fx82	fx83	
bs03	2.0	1.1	0.5	1.1	0.7	0	0.9	0.5	0.7	
bs05	0.6	1.3	0	0	0.3	0.2	0.5	0.3	0.3	
bs06	0.3	0	0	0.5	0	0.8	0	0.2	0	
bs09	0.7	0.2	0	0.7	1.2	0.3	0.1	0.9	1.0	
bs11	0	0.5	0	0	1.0	0.5	0.2	0	0.2	
	fx84	fx85	fx87	fx88	fx89	fx90	fx91	fx92	fx94	
bs03	0.6	2.1	0.8	0	2.0	0.2	0.4	0.6	1.2	
bs05	0	0.9	0.6	0	0	0.6	0.2	0.2	0.5	
bs06	0.5	0	0	0	0	0	0	0.4	0	
bs09	0.2	0	0.2	0	0.8	0.2	0.3	0	0.3	
bs11	1.0	0.2	0.4	0.2	0.4	0.1	0.4	0.9	0.8	

注:抑菌圈直径>0.3 cm 具有拮抗性。

表 2 细菌对白桦木材变色病原菌的抑制效果

Tab. 2 The inhibiting effect of different bacteria on sapstain

病原菌	细菌抑菌圈直径/cm					
	x18	x19	x20	x24	x25	x26
bs03	1.0	0	0.5	0	0.5	2.1
bs05	1.0	0	0.3	0	0	1.5
bs06	0.9	0.4	0.7	0	0.7	1.8
bs09	0.5	0	0.9	0.4	0.5	1.5
bs11	0.7	0	0.6	0.8	0.3	1.7

3 结论

1) 从本试验的结果看,土壤及白桦木材上能够分离、筛选出对变色病原菌有明显抑制作用的菌种,其中 x18 及 x26 对 5 种病原菌都具有明显的抑制效果。由此证明,利用生物技术,以菌治菌来防治白桦木材变色具有很大的潜力,是环保型防变色研究值得关注的方向。

2) 本试验所有生防菌均分离自白桦木材及原位土壤,因此在防变色的实施过程中,不会引入新的菌种影响木材其他性能。即使对活立木进行防变色处理,由于生防菌来自原位土壤,对树木的生长的负面作用相对较小,具体有待深入研究。

3) 国外已有相关生物防变色的研究,并研制出生物产品,但其存在局限性。主要是由于环境或营养不符,生防菌不能在木材上发挥作用。而采用原位土壤及木材内生菌分离、筛选出的生防菌,对所用环境具有很强的适应性,适合进一步的实践应用。

参考文献:

- [1] 李坚. 木材科学[M]. 哈尔滨:东北林业大学出版社,1994.
- [2] D Q Yang. Application of biotechnology in wood protection [J]. Technotes and Infotechs,01-105E, 2001.
- [3] Mai C, Ktes U, Miltz H. Biotechnology in the wood industry [J]. Applied Microbiology and Biotechnology,2004, 63(5):477-494.
- [4] 邢嘉琪. 生物防腐研究的现状与展望[J]. 世界林业研究,2004, 17(3):32-35.
- [5] 段新芳. 木材变色防治技术[M]. 北京:中国建材工业出版社,2005.
- [6] 李小清,常建民. 东北白桦变色菌分离方法的研究[J]. 东北林业大学学报,2006(3):11-12.
- [7] 王艳艳. 杨木变色菌的研究及生防菌的筛选[D]. 北京:北京林业大学材料科学与技术学院,2007.

(责任编辑 鲍加芬)

欢迎订阅 2009 年《林业机械与木工设备》

1966 年于北京创刊,国家林业局主管,哈尔滨林业机械研究所主办,中国林业机械协会、中国林学会林业机械分会、国家木工机械质量监督检测中心协办,全国公开发行的国家级学术期刊。熔学术、技术、知识、信息于一炉,主要报道国内外林业与木工机械、人造板设备诸方面的研究、设计、制造、试验、使用维修和经营管理等方面的最新成果及先进经验,介绍其发展动向,提供有关信息和资料。

月刊,大 16 开,每册 5 元,全年 60 元,由各地邮局征订(邮发代号 14-74);如在当地邮局错过订期,也可直接汇款到编辑部。

地址:150086 哈尔滨市学府路 374 号

《林业机械与木工设备》编辑部

电话:0451-86663021

传真:86680140

Email:linji1966@163.com