

木材防腐剂对软腐菌实验室快速 毒性试验标准方法的研究*

周 明 刘秀英

(中国林科院木材工业研究所 北京 100091)

摘要 为制订防腐剂对软腐菌毒性试验标准,对软腐菌(球毛壳菌)在三种培养基上的生长情况进行了比较试验。结果表明,PDA与英国标准838加葡萄糖两种培养基,对菌生长更好。再分别进行水溶性与油类防腐剂的流失、挥发前后对菌毒性试验。证明该方法具有快速、简便易行的特点。

关键词 软腐菌——球毛壳菌;腐朽过程;重量损失;毒性试验

1 前言

研究新的木材防腐剂,首先要对菌(包括木腐菌、软腐菌、变色菌、霉菌)、虫等毒性筛选试验。多年来,国内对此类试验方法很不一致,国外不少国家已制定了国家或行业标准^[1~3]。关于防腐剂对软腐菌毒性试验工作做得多的以欧洲的英国为主。目前在欧洲采用OEN/TC38标准方法^[1],此法是试材与土壤接触的野外试验法,试验期长达五年才能得到完整结果。长期以来欧洲诸国对“软腐标准”持有两种不同意见:一种观点认为采用试验期较短的“蛭石法”;另一种观点坚持认为采用试验期长的“土壤床”法。最近英国提出把两个方法结合在一起都做试验,即提出“欧洲初步标准”^[1]。

我国标准要求快速试验,因而不宜采用长期试验法,但同时也不宜采用国内材料不易取得的蛭石法。并参考采用较为符合我国国情的“英国标准838:1961—木材防腐剂对真菌的毒性试验方法”^[3],其主要特点:试验期短(6周)、试验材料易得、方法简便。本研究是以英国838标准为基础,结合我国情况,作适当改进,便于普遍采用。

2 试验方法与药剂毒性的评定

木材防腐剂对软腐菌实验室快速毒性试验方法的研究,是采用PDA、英国标准、英国标准加葡萄糖三种培养基进行培养试验,其中以菌生长最好的培养基,对系列梯度浓度药剂真空处理试块进行毒性试验,最终得到试块腐朽后干重损失百分数,在系列梯度浓度中,从允许腐朽的低浓度与相邻近的完全抑止腐朽的高浓度之间的药剂量(kg/m^3)作为该药剂的毒性范围(极限)。重量损失在3%以下为实验误差允许范围,可以不计^[2~3]。

2.1 试材 国外研究表明^[2~3],由于球毛壳菌对阔叶树材的危害比对针叶树材更快,因而采用阔叶树材毛白杨(*Populus tomentosa*)为试材。试材产地河南省洛阳地区,从试材胸高部位,直径约18cm,材质良好,质地均匀的边材作试块,尺寸为5mm×25mm×50mm(纹理方向)。

2.2 试菌 试验用软腐菌采用国际通用标准试菌,也是国内常见的软腐菌—球毛壳菌(*Chaetomium globosum*)。

2.3 培养基

2.3.1 PDA培养基 (马铃薯、葡萄糖、琼脂培养基) 去皮马铃薯200g,切成小块,加水1000ml,煮沸30分钟,滤去马铃薯块,

收稿日期 1994-08-18

*吕惠梅、林露露参加部分试验工作。

将滤液补足至1000ml,加葡萄糖20g,琼脂15g。

2.3.2 英国标准838培养基 硝酸铵(NH_4NO_3) 3g,磷酸氢二钾(K_2HPO_4)2g,磷酸二氢钾(KH_2PO_4) 2.5g,硫酸镁($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 2g,琼脂20g,蒸馏水100ml。

2.3.3 英国标准838培养基中加葡萄糖25g。

以上三种培养基分别加热溶化后,分装于500ml广口三角瓶中,每瓶装100ml,瓶口塞以棉塞,包防水纸后于0.1MPa蒸汽压力下灭菌30min,在无菌室冷却后即接种。

2.4 孢子悬浮液的置备 球毛壳菌在麦芽汁斜面培养基中,室温下培养3周。然后在斜面中滴入数滴无菌蒸馏水,再用灭菌金属接种针把斜面上的孢子铲下,再加无菌水把斜面覆盖,用力摇动使孢子块散碎,倒入灭菌培养皿中,待接种用。

2.5 试块药液处理 系列梯度浓度的药液,采用真空浸注处理(0.1MPa) 30min,每浓度处理6块,待试块吸液饱和后,用灭菌吸水纸吸去表面浮液,立即称重,放入灭菌培养皿中,敞盖置于无菌室内,气干至含水率80%,即可接种。

2.6 试块接种与受菌侵染

2.6.1 滤纸接种 在无菌条件下,把直径8cm的圆形灭菌滤纸在孢子悬浮液中迅速浸入后,立即放入灭菌的广口三角瓶的培养基表面。

2.6.2 试块接种与受菌侵染 在无菌条件下,把药剂处理试块与未经药剂处理的对照试块(6块),每块试块均在孢子悬浮液中迅速浸一下,放在广口三角瓶中已接种的滤纸上,每瓶放2块。置于温度 $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$,空气相对湿度75%~85%的培菌室内,受菌侵染培养6周。对照试块同时进行。

2.7 药剂毒性的评定 经6周受菌侵染的试块,观察每1试块菌生长量(面积),长满、长3/4、长1/2、长1/4,除去附着菌丝,烘至恒重,计算每1试块的重量损失率(%),

并计算处理试材的药剂吸收量:

$$Q = \frac{G \cdot C}{V} \times 1000$$

式中:Q为木材吸药量(kg/m^3);

G为试块吸药液量(g);

C为处理试块的药液浓度(%);

V为试块体积(cm^3)。

2.8 水溶药剂(氟化钠)处理试块的流失试验及其毒性试验 参考采用英国标准方法^[2],即蒸馏水烧杯浸泡法。尺寸为5mm×25mm×50mm毛白杨边材试块,用梯度浓度氟化钠溶液(先加热溶化)真空浸注处理(0.1MPa,每个浓度处理6块)后,充分气干,把同一浓度处理试块放在一个1000ml的烧杯内(用玻璃重物压住试块),放入500ml蒸馏水(水量为试块总数的3倍),在室温条件下浸没在水中32h后,取出放到鼓风干燥箱(有风扇)内,在50℃保持4h,把每个浓度试块用多层纱布包好,在蒸汽灭菌器中常压下蒸30min,使含水率达到80%,在无菌室中冷却后,即进行流失后的毒性试验(毒性试验方法同前,见2.7)。

2.9 防腐油(葱油)处理试块的挥发试验及其对菌毒性试验 挥发试验参考英国标准838方法^[2]。油类或有机溶剂型防腐剂处理的试块,在做毒性试验前,先把溶剂挥发掉。试验时把药剂处理试块竖立、相互分开放在室温下,气干72h,再放在鼓风烘箱中50℃烘7h,使处理试块的溶剂挥发。然后把各浓度处理的试块用多层纱布包好,在蒸汽灭菌器中,在常压下蒸30min,使试块的含水率达到80%时,在无菌条件下冷却,即可进行对菌毒性试验(毒性试验方法同前)。

2.10 防腐油(葱油)处理试块的挥发、流失试验及其对菌毒性试验 (即挥发、流失后的毒性试验)。挥发试验方法同2.9,流失试验方法同2.8,对菌毒性方法同前法。

3 结果与讨论

3.1 培养基对试菌的生长试验 PDA、英

国家标准838与英国标准加葡萄糖三种培养基对球毛壳菌作6周生长试验,从形态观察,其中以PDA与英国标准加葡萄糖两种培养基生长更茂盛更快。从试菌对试块的腐朽力来看,英国标准培养基中加葡萄糖培养基生长的试菌,对木材腐朽力较强,其均匀重量损失率为51.9%。国外研究也表明,影响球毛壳菌生长与木材腐朽引起的重量损失,与培养基有关^[4,5];适合球毛壳菌生长的培养基,需要氮源,英国标准838:1961的培养基含有氮成分^[1],本试验添加少量碳源后,试验结果表明,加葡萄糖后的结果更好。

3.2 水溶性防腐剂(氟化钠)流失前、后对球毛壳菌的毒性试验结果

3.2.1 氟化钠流失前对球毛壳菌毒性试验结果见表1。

表1 氟化钠对球毛壳菌的毒性试验结果			
处理试块药液浓度 (%)	试块腐朽后重量损失率 (%)	木材吸药量 (kg/m ³)	毒性范围 (kg/m ³)
0.4	37.4	3.3	18.9~23
0.8	43.9	5.0	
1.2	13.4	7.8	
1.6	29.3	7.5	
2.0	10.5	13.4	
2.8	8.2	18.9	
3.2	2.2	23.0	
对照	45.8		

从氟化钠一系列梯度浓度处理毛白杨边材试块,对球毛壳菌的毒性试验结果看,试块腐朽后的重量损失率,基本是有规律的,氟化钠流失前对该菌的毒性范围是18.9~23.0kg/m³(表1),本研究与国外研究都表明,球毛壳菌的抗药力要比木腐菌为强^[1,6]。

3.2.2 氟化钠流失后对球毛壳菌毒性试验结果见表2。

在氟化钠流失前毒性试验基础上,加大梯度浓度,并经加温溶化后真空处理试块。从表2结果表明与国外公认的结论一致,即氟化钠的流失性很大,本试验为24.0~26.6

表2 氟化钠处理试块经流失后对球毛壳菌的毒性试验结果

处理试块药液浓度 (%)	试块腐朽后重量损失率 (%)	木材吸药量 (kg/m ³)	毒性范围 (kg/m ³)
3.2	33.2	22.7	24~26.6
3.6	39.5	23.4	
5.0	7.2	24.0	
5.6	2.7	26.6	
对照	59.9		

kg/m³;结果还表明,用氟化钠梯度浓度处理的试块,经流失后对球毛壳菌的毒性试验结果是符合规律的,即试块腐朽后的重量损失率是逐渐减小,证明试验方法是可行的。

3.3 油类防腐剂(葱油)挥发与流失前后对球毛壳菌的毒性试验结果

3.3.1 葱油处理试块经挥发后对球毛壳菌的毒性试验结果,见表3。

表3 防腐油(葱油)对球毛壳菌的毒性试验结果

药液浓度 (%)	试块腐朽后重量损失率 (%)	木材吸药量 (kg/m ³)	毒性范围 (kg/m ³)
0.5	7.4	2.8	2.8~5.5
1.0	4.4	5.5	
3.0	1.0	14.2	
5.0	2.0	22.6	
7.0	1.4	35.4	
对照	49.9		

表3结果表明,葱油对球毛壳菌的毒性范围为2.8~5.5kg/m³。

3.3.2 葱油处理试块经挥发与流失后对球毛壳菌的毒性试验结果,见表4。

表4 防腐油(葱油)经挥发、流失后对球毛壳菌的毒性试验结果

药液浓度 (%)	试块腐朽后重量损失率 (%)	木材吸药量 (kg/m ³)	毒性范围 (kg/m ³)
0.5	21.7	1.8	2.8~7.3
1.0	12.1	2.8	
1.5	1.3	7.3	
2.5	1.8	7.7	
3.0	1.9	15.7	
3.5	2.4	17.5	
对照	31.0		

结果表明,葱油对球毛壳菌的毒性范围为2.8~7.3kg/m³,说明葱油抗流失性强。

4 结论

4.1 试验结果表明,采用英国标准838:1961培养基中再加葡萄糖作为该标准方法的培养基,亦可采用PDA培养基,上述培养基对球毛壳菌生长茂盛,对木材腐朽力强。

4.2 毛白杨边材作试块,球毛壳菌对其腐朽率高达59.9%,因此作为试材是合适的。

4.3 通过球毛壳菌对水溶性防腐剂流失前、后的实验室快速毒性试验表明,此法作为标准是可行的。

4.4 通过球毛壳菌对油类防腐剂的挥发试验、流失前、后的实验室快速毒性试验表明,此法也是可行的,同样也适合有机溶剂防腐剂的使用。

4.5 此法快速、简便、易行,试验材料易得,符合当前国情,适合普遍采用。

5 参考文献

1 Orsler J J. Wood preservation—BRE rese-

arch and progress towards Europe. J.

Inst. Wood Sci., 1992, 12 (6) : 305~316

2 British Standard 838, 1961, Methods of test for toxicity of wood preservatives to fungi, British Standard Institution

3 American Revised Standard, 1971, Revised standard method of testing wood preservatives laboratory soil—block cultures. A.W.P.A.M 10~71

4 Munezoh Takahashi and Koichi Nishimoto. Decay resistance of various timber species against soft-rot fungus—*Chaetomium globosum*, in accelerated laboratory tests, Wood Research, 1973, No.55, 9~31

5 Bravery A F. Microbiological assay of chemicals for the protection of wood, some methods for microbiological assay, Academic press 1975, 203~221

6 Nicholas D D. Wood deterioration and its prevention by preservative treatments, Vol.1, Degradation and Protection of wood, 1973, 65~67, 229~230

A study on standard method of accelerated laboratory toxicity for test of wood preservatives to soft-rot fungus

Zhou Ming Liu Xiuying

(Research Institute of Wood Industry, CAF, Beijing 100091)

Abstract Method of test for toxicity of wood preservatives to soft-rot fungus was studied in order to establish standard method. The amount of decay and the loss in weight of test blocks of Chinese white poplar (*Populus tomentosa*) wood against soft-rot fungus was evaluated in laboratory. This method was adopted in the present study for the tests of toxicity of water borne and oil borne preservatives against soft-rot fungus—*Chaetomium globosum*.

Keywords *Chaetomium globosum*, Decay procedure, Weight loss, Test of toxicity