

ТЕСТ-КУЛЬТУРЫ ГРИБОВ ДЛЯ ИСПЫТАНИЯ СРЕДСТВ ЗАЩИТЫ ДЕРЕВЕСИНЫ

Results of researches of a floristic composition of the mushrooms attacking wood in storehouses of woodworking enterprises of Byelorussia are resulted. Discrepancy of stock of test culture and real presence of mushrooms at the enterprises is shown. Thus there is an objective necessity of revision of a floristic composition of the mushrooms used for test of defensive means taking into account specificity of climatic and other conditions of Byelorussia.

Введение. Важнейшим аспектом испытания антисептиков, предназначенных для защиты свежераспиленной древесины в период ее транспортировки либо хранения на складе атмосферной сушки, является выбор тест-культур грибов. Существенные различия грибов разных классов в преобладающем характере и степени поражения древесины, во влажностном оптимуме субстрата, а также в способе и скорости размножения обусловили существование специфических методов испытания средств химической защиты по отношению к разным группам дереворажающих грибов. Принято укрупненно выделять две группы грибов для испытаний средств защиты древесины. К первой относят грибы без конидиального спороношения, вызывающие значительное снижение массы древесины в результате разрушения целлюлозы и лигнина. Ко второй – грибы, поражающие древесину с высокой влажностью и вызывающие интенсивное окрашивание ее в различные цвета либо за счет цвета мицелия и конидий, либо за счет пигментов, выделяемых грибом, причем потеря массы и прочности древесины в этом случае выражена в гораздо меньшей степени. Типичными представителями второй группы являются так называемые плесневые и дереворажающие грибы.

Спектр плесневых и дереворажающих тест-культур для испытания средств антисептирования весьма широк. Чаще всего используются различные представители родов *Penicillium* и *Aspergillus*, а также грибы, вызывающие наиболее серьезные изменения цвета древесины, – *Alternaria humicola*, *Phialophora fastigiata*, *Pullularia pullulans*, *Leptographium lundbergii*, *Cladosporium herbarum* и др. Естественно, видовой состав грибов уникален для каждого региона.

В настоящее время в Республике Беларусь испытания антисептиков по отношению к плесневым и дереворажающим грибам проводят по стандарту, разработанному российскими учеными [1]. Для испытания используются 27 видов грибов, которые были определены как доминирующие на территории испытательных полигонов Сенежской лаборатории консервирования древесины, расположенных в Архангельской, Московской, Ленинградской, Красноярской областях России, а также вблизи городов Рига, Ба-

ку и Киев. Климатические условия этих полигонов отличны от условий Республики Беларусь, что делает весьма вероятным и отличие состава доминирующих грибов.

Поскольку основным объектом поражения несовершенными грибами является сырая древесина с влажностью 60–120 %, которую имеют пиломатериалы непосредственно после распиловки, то и защита от дереворажающих грибов имеет смысл именно на этом этапе переработки древесины. Отсюда вытекает необходимость изменения используемой в стандартном методе тест-культуры с привлечением видов грибов, поражающих сырую древесину непосредственно в местах ее получения и хранения, т. е. на складах сырых пиломатериалов деревообрабатывающих предприятий Республики Беларусь.

С целью адаптации существующего стандартного метода испытания антисептиков по отношению к комплексу плесневых и дереворажающих грибов к условиям Республики Беларусь, нами была проведена работа по определению видового состава грибов, поражающих сырую древесину на складах деревообрабатывающих предприятий страны. Всего в исследовании приняли участие пять крупных деревообрабатывающих предприятий, расположенных в различных областях Беларуси: ОАО «Минскдрев», ОАО «Гроднодрев», ОАО «Гомельдрев», ЗАО «Пинскдрев» и ОАО «Витебскдрев».

Основная часть. Отбор образцов спор грибов на территории складов производили методом реплик на «голодные» среды. Данный метод заключается в следующем. В лабораторных условиях предварительно подготавливали кусочки бархата с коротким и густым ворсом размером 200×200 мм (так называемые «бархотки»). Бархотки заворачивали в плотную бумагу и стерилизовали в автоклаве при давлении 0,15 МПа в течение 20 мин. Затем, не разворачивая конвертов, подсушивали при комнатной температуре. Конверт со стерильной бархоткой открывали непосредственно на месте отбора образцов спор таким образом, чтобы бархотка в раскрытом конверте находилась в положении ворсом вниз. В этом же положении бархотку переносили на поверхность пиломатериала, с которого производили отбор, и плотно прижимали к данной поверхности твердой дощечкой. После этого бархотку, не

переворачивая, укладывали вновь на стерильную внутреннюю поверхность бумажного конверта, конверт заворачивали, проставляли на нем порядковый номер и доставляли для дальнейшего исследования в лабораторию. В лаборатории в стерильных условиях бархотку доставали из конверта, помещали ворсом наружу на столик для реплик и зажимали металлическим кольцом так, чтобы на поверхности не образовывалось морщин. К бархотке, содержащей споры и мицелий грибов, прикладывали открытую чашку Петри с агаризованной средой, получая отпечаток (реплику). На чашке проставляли номер, соответствующий номеру конверта, из которого была взята бархотка.

Для выявления наибольшего видового и родового разнообразия микроскопических грибов вместо искусственных питательных сред, избыточно снабженных азотом, использовали «голодную» среду, содержащую очень малое количество питательных ингредиентов. Было замечено, что на этой среде грибы вначале развиваются нормально, но вскоре развитие замедляется и не происходит скопления грибов в очень крупные колонии. Кроме того, при этом не наблюдается быстрого зарастания всей поверхности среды быстрорастущими видами и подавления ими видов, развивающихся медленнее. Состав голодной среды: вода дистиллированная – 50 мл, сусло-бульон – 5 мл, агар-агар – 1,25 г. Кислотность раствора доводили до значения 5,2–5,6. Смесь стерилизовали в автоклаве при 0,15 МПа 30 мин. Объем «голодной» среды в каждой чашке Петри равнялся 20 мл.

Полученные таким образом посевы инкубировали в термостате при 20°C в течение 7 суток, избегая каких-либо перемещений чашек для предотвращения дополнительного рассева спор. Образовавшиеся на поверхности среды изолированные колонии грибов с соблюдением правил асептики вырезали скальпелем из толщи агаризованной «голодной» среды и переносили полученные агаровые блоки на питательные среды (сусло-агар): каждую изолированную колонию – в отдельную чашку Петри. В результате получали культуры, в которых количественно превалирует один вид гриба. Эти культуры использовали для получения чистых культур грибов.

После установления видовой принадлежности чистых культур грибов производили подсчет общего количества спор каждого вида, выделенных на рассматриваемом предприятии. При этом принимали количество спор равным количеству колоний данного вида гриба, образовавшихся на «голодной» среде.

При отборе реплик с поверхности материала, имеющего явные признаки грибного поражения (например, грибную окраску), получение изолированных колоний в отпечатке было затруднено из-за большого количества спор и, соответствен-

но, образующихся в реплике колоний. Поэтому рассев всех полученных колоний не производили. Посевы на «голодной» среде по окончании срока инкубации просматривали под микроскопом, выбирали 1–2 максимально изолированные колонии превалирующего в данном посеве вида и по ним производили определение видовой принадлежности гриба, вызвавшего поражение.

Поскольку при отборе образцов культур методом реплик с поверхности материалов, не имеющих явных признаков загнивания или грибных окрасок, возможно получение как грибов, способных поражать древесину, так и грибов, древесину не поражающих, каждый из выделенных видов в лабораторных условиях высевался на свежераспиленные образцы, полученные из древесины березы, осины, ольхи и заболони сосны. В случае, если выделенная культура не развивалась ни на одном из образцов древесины, данный вид гриба исключался из дальнейшего исследования и данные о его распространении на предприятиях в таблицы не включались.

Подавляющее большинство выделенных культур относится к группе анаморфных грибов. Это обусловлено двумя причинами. Во-первых, сроки хранения пиломатериалов обычно составляют от трех до семи суток. Этого времени недостаточно для образования сумчатой стадии развития аскомицетов, а также для развития базидиальных грибов, для которых характерны большая продолжительность жизненного цикла. Во-вторых, оптимальная влажность субстрата для этих грибов составляет 30–50%, что несколько меньше влажности свежераспиленной древесины.

Относительную частоту встречаемости каждого из видов (ξ , %) определяли по формуле:

$$\xi = \frac{n \cdot 100}{m},$$

где n – количество штаммов данного вида гриба, выделенных на предприятии; m – общее количество штаммов грибов, выделенных на предприятии.

На рис. 1–5 приведены диаграммы, характеризующие частоту встречаемости отдельных видов грибов этих классов, выявленных на каждом из обследованных предприятий.

Анализ приведенных данных показывает, что видовой состав грибов на каждом из предприятий уникален. Например, на ОАО «Минскдрев» доминирующими видами грибов являются *Penicillium commune*, *Penicillium cyclopium*, *Alternaria humicola*, *Aspergillus niger* и *Verticillium glaucum*, однако лидируют по частоте встречаемости аскомицеты рода *Ophiostoma*.

На ОАО «Витебскдрев» высок фон заражения материала грибами *Fusarium javanicum*, *Cladosporium herbarum*, *Oidiodendron griseum* и

Hormiscium antiquum; несколько уступают им *Penicillium commune*, *Penicillium solitum* и *Verticillium glaucum*.

В условиях ЗАО «Пинскдрев» при большом разнообразии видов незначительно выделяются *Verticillium glaucum* и *Alternaria humicola*, в то время в ОАО «Гомельдрев» практически 50% выделенных штаммов приходится на три гриба – *Penicillium commune*, *Penicillium solitum*, *Verticillium glaucum*, причем первые два лидируют со значительным отрывом.

Беспорными доминантами на ОАО «Гроднодрев» являются *Penicillium divergens* и *Penicillium commune*, за ними по частоте встречаемости следуют *Trichoderma viride* и *Verticillium glaucum*.

Наиболее распространенным из выделенных видов грибов является *Penicillium commune*, частота встречаемости которого составляет 14,63%. Таким образом, этот анаморфный гриб

можно считать наиболее распространенным из грибов, вызывающих синеву древесины в условиях Республики Беларусь. Широко распространены также грибы *Alternaria humicola* (частота встречаемости – 11,72%) и *Verticillium glaucum* (11,38%). Все перечисленные грибы были обнаружены на всех пяти обследованных предприятиях. Широко распространенными можно считать и грибы рода *Mucor*, частота встречаемости которых относительно невелика (1,98%), но зато они были найдены на всех предприятиях. В четырех случаях из пяти встречается *Aspergillus niger*. Грибы *Aspergillus flavus*, *Aspergillus terreus*, *Bispora monilioides*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium scirpi*, *Fusarium javanicum*, *Fusarium moniliforme*, *Penicillium cyclopium*, *Phialophora fastigiata*, *Trichoderma viride*, *Verticillium latericium* и *p. Ophiostoma* были отмечены только на одном из предприятий, остальные – на двух или трех.

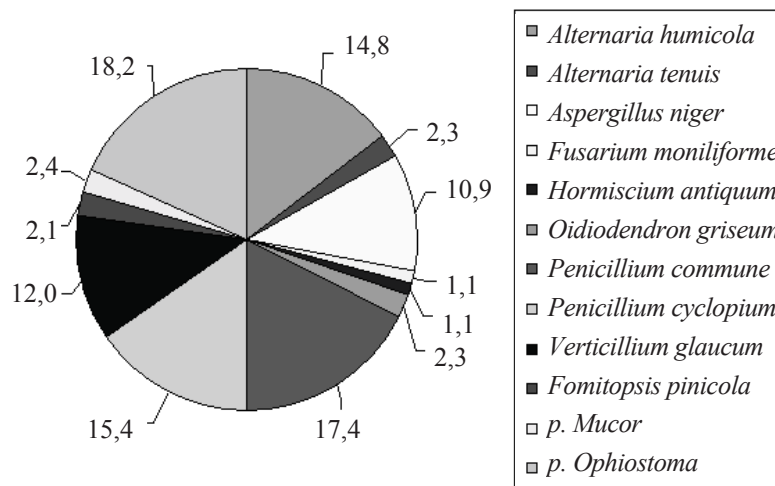


Рис. 1. Относительная частота встречаемости отдельных видов грибов на складе сырых пиломатериалов ОАО «Минскдрев»

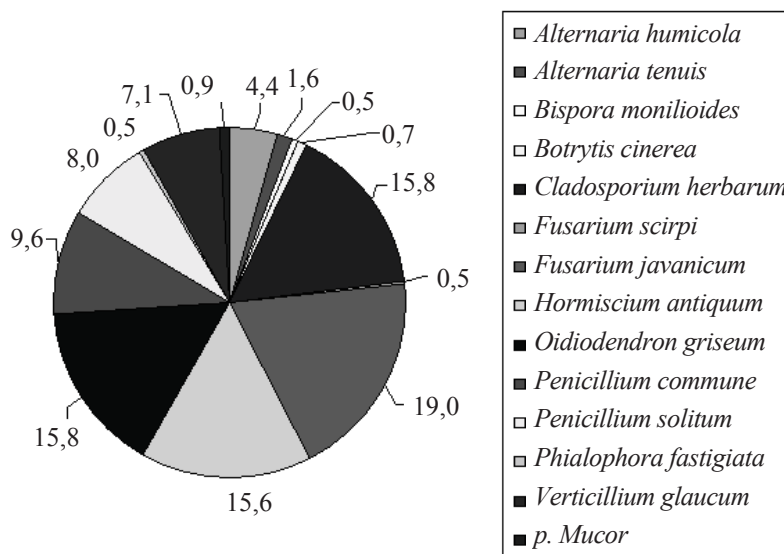


Рис. 2. Относительная частота встречаемости отдельных видов грибов на складе сырых пиломатериалов ОАО «Витебскдрев»

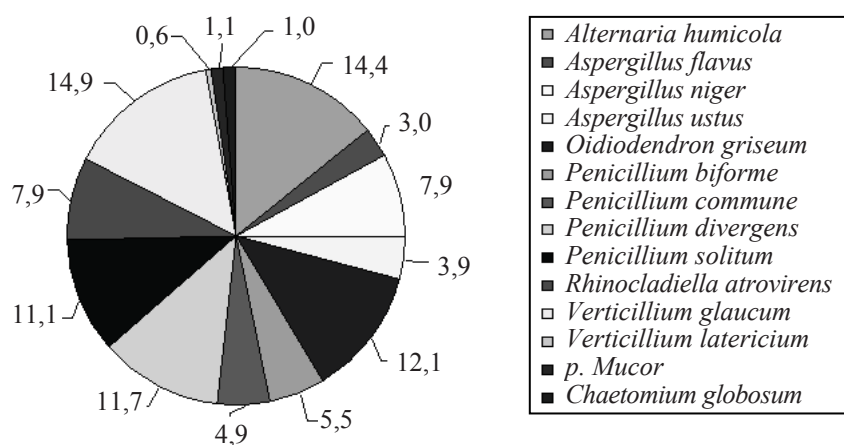


Рис. 3. Относительная частота встречаемости отдельных видов грибов на складе сырых пиломатериалов ЗАО «Пинскдрев»

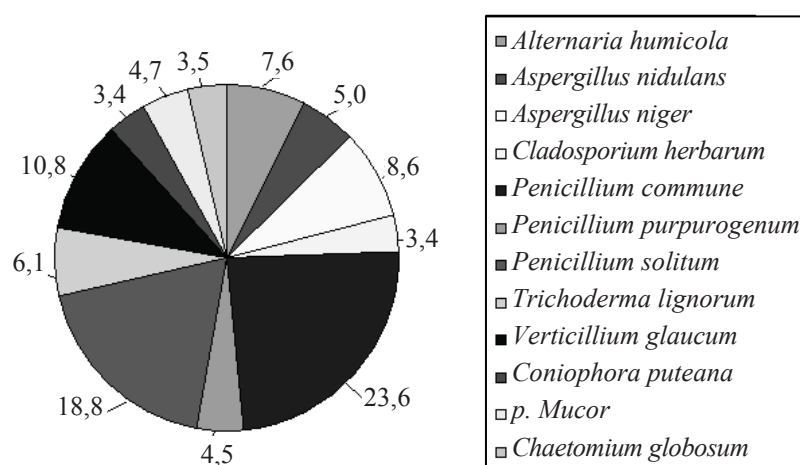


Рис. 4. Относительная частота встречаемости отдельных видов грибов на складе сырых пиломатериалов ОАО «Гомельдрев»

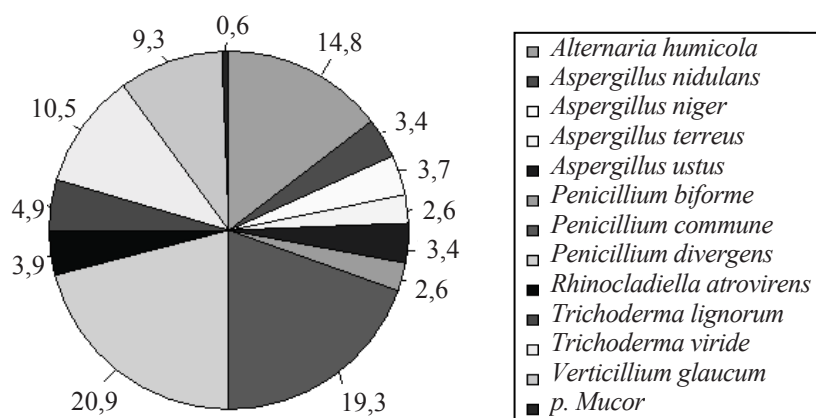


Рис. 5. Относительная частота встречаемости отдельных видов грибов на складе сырых пиломатериалов ОАО «Гроднодрев»

В целом бесспорными лидерами при поражении сырой древесины являются различные представители родов *Penicillium* (35,5%), *Alternaria* (12,4%), *Verticillium* (11,5%) и *Aspergillus* (11,2%).

Из грибов, выделенных на предприятиях Республики Беларусь, создана коллекция, которая включает 30 видов. На все грибы коллекции раз-

работаны паспорта, включающие описание морфологических и физиологических особенностей, условия культивирования и хранения грибов. Грибы коллекции предназначаются для использования в качестве тест-культур при испытании средств защиты древесины от биопоражения.

Также были изучены характер и интенсивность воздействия выделенных грибов на древе-

сину. Показано, что все они вызывают изменение естественного цвета древесины, что приводит к снижению ее качества. Разрушительной активностью по отношению к древесине обладают только 8 из 30 выделенных видов грибов. Это микромицеты *Alternaria humicola*, *Alternaria tenuis*, *Cladosporium herbarum*, *Hormiscium antiquum*, *Rhinochlaidiella atrovirens*, *Ophiostoma coeruleum*, *Ophiostoma piceae*, *Chaetomium globosum*. Они оказались способными заметно снизить массу испытываемых образцов. Была выявлена некоторая корреляция между разрушительной активностью грибов и глубиной их проникновения в древесину. Все мицеты, вызвавшие потерю массы образцов, давали не только поверхностную, но и более глубокую их окраску.

Отсутствие зафиксированного снижения массы образцов при воздействии на них остальных видов грибов может быть объяснено тем, что величина этого показателя весьма незначительна и зачастую не превышала ошибку эксперимента. Незначительная величина потери массы образцов при испытании в одних опытах или полное ее отсутствие в других доказывает нецелесообразность использования весового критерия при оценке эффективности защиты древесины от выделенных видов грибов. В то же время достаточно высокие скорости разрастания грибов по древесине однозначно свидетельствуют в пользу использования в качестве оценочного критерия площади обрастания образцов мицелием.

Таким образом, в результате проделанной работы могут быть сделаны следующие выводы. При испытании средств, направленных на защиту древесины от грибов, поражающих ее в период хранения и транспортировки перед сушкой, в качестве критерия защищенности древесины целесообразно использовать площадь обрастания образцов мицелием тест-культуры.

Выбор тест-культур должен осуществляться с учетом породы образцов древесины, а выбор породы образцов – с учетом породного состава защищаемых пиломатериалов. Выбор тест-культур зависит также от назначения защищаемой древесины. При допущении потери пиломатериалами товарного вида без изменения их физико-механических свойств допускается их обработка составами, прошедшими испытание на тест-культуре, состоящей из видов грибов, вызывающих лишь наиболее серьезные пороки – разрушение и глубокое окрашивание древесины: *Alternaria humicola*, *Alternaria tenuis*, *Cladosporium herbarum*, *Hormiscium antiquum*, *Oidiodendron griseum*, *Rhinochlaidiella atrovirens*, *Trichoderma lignorum*, *Verticillium glaucum*, *Ophiostoma coeruleum*, *Ophiostoma piceae*, *Chaetomium globosum*. При комплексном исследовании средств защиты для древесины желательным является испытание их эффективности на всех выделенных видах грибов в смешанной культуре.

Был проведен сравнительный анализ состава тест-культуры, используемой в действующем на настоящий момент стандарте на испытание средств защитных для древесины против плесневых и деревоокрашивающих грибов с составом несовершенных грибов, выделенных нами на белорусских предприятиях. Обнаружено, что из 27 видов анаморфных грибов, составляющих тест-культуру для испытания по ГОСТ 30028.4-93, на белорусских предприятиях встречаются только 10: *Alternaria humicola*, *Alternaria tenuis*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, *Cladosporium herbarum*, *Fusarium javanicum*, *Fusarium moniliforme*, *Penicillium cyclopium*, *Penicillium purpurogenum*. Причем только два из них – *Alternaria humicola* и *Aspergillus niger* – имеют достаточно большой показатель встречаемости (11,72% и 6,64% соответственно) и были найдены на большинстве обследованных предприятий (пяти и четырех соответственно). Остальные 8 грибов, включенные в стандартную тест-культуру, были обнаружены только на одном-двух предприятиях и имеют частоту встречаемости в пределах от 0,22 до 3,25%. В то же время 16 анаморфных и сумчатых грибов, поражающих древесину на белорусских предприятиях, не участвуют в испытании эффективности средств защиты древесины. Среди них такие, часто встречающиеся грибы, как *Penicillium commune* (встречается на пяти предприятиях, частота встречаемости 14,63%), *Verticillium glaucum* (5; 11,38%), *Oidiodendron griseum* (3; 6,23%), *Penicillium solitum* (3; 8,02%).

Закключение. Обнаруженное несоответствие состава тест-культуры по ГОСТ 30028.4-93 и реального присутствия грибов на предприятиях Республики Беларусь заставляет усомниться в способности стандартного метода адекватно оценить эффективность тех или иных антисептиков при применении их белорусскими предприятиями. Существует объективная необходимость пересмотра видового состава грибов, используемых для испытания защитных средств, с учетом специфики климатических и прочих условий Республики Беларусь.

В результате исследований были разработаны четыре смешанные тест-культуры. Культуры составлены с учетом взаимоотношений грибов друг с другом, скорости разрастания их мицелия и приспособленности к конкретным породам древесины.

Литература

1. Средства защитные для древесины. Экспресс-метод оценки эффективности антисептиков против деревоокрашивающих и плесневых грибов: ГОСТ 30028.4-2006. – Введ. 01.12.07. – Минск: Межгос. совет по стандартизации, метрологии и сертификации: Беларус. гос. ин-т стандартизации и сертификации, 2007. – 8 с.