

3 种菌纹橡胶木的偏光荧光分析

闫妍¹, 秦磊^{1*}, 黄琼涛², 张玲梅¹, 邱坚¹

(1. 西南林业大学 云南省木材胶黏剂及胶合制品重点实验室, 云南 昆明 650224; 2. 宜华生活科技股份有限公司, 广东 汕头 515800)

摘要:由微生物作用在木材上形成的菌纹木花纹独一无二、生动多变,为将菌纹木薄板应用于家具装饰行业,以橡胶木薄板为研究对象,通过人工分离、纯化野生花斑真菌,人工制备菌纹木橡胶薄板,并基于木材切片实验进行偏光、荧光特征观察,分析其木质素和纤维素的降解程度。结果表明,菌株 ZXH18-6、ZXH63-4 制备的橡胶木菌纹薄板的腐朽程度较小,并不影响木材本身的性能,因此在严格控制花斑真菌的菌种、生长时间和木材含水率的情况下,将菌纹木薄板应用于家具装饰设计行业是可能实现的。

关键词:菌纹薄板;人工培育;降解程度

中图分类号:S763.15

文献标志码:A

文章编号:1001-7461(2022)06-0161-06

Polarizing Fluorescence Analysis of Three Kinds of Rubber Wood with Fungal Stained Veins

YAN Yan¹, QIN Lei^{1*}, HUANG Qiong-tao², ZHANG Ling-mei¹, QIU Jian¹

(1. Yunnan Provincial Key Laboratory of Wood Adhesives and Glued Products, Southwest Forestry University, Kunming 650224, Yunnan, China; 2. Yihua Life Style Technology Co., Ltd., Shantou 515800, Guangdong, China)

Abstract: Veins formed from fungal staining are unique and vivid. In order to apply the wood veneer with such veins in furniture decoration industry, this study took rubber wood veneer as the object, artificially isolated and purified wild florid fungi, and artificially prepared rubber veneer with such unique wood veins. The degradation degree of the lignin and cellulose based on wood sectioning experiment with polarized light and fluorescence characteristics were observed. The experimental results showed that the decay degrees of rubber wood veneer prepared by strains ZXH18-6 and ZXH63-4 were small and did not affect the performance of the wood itself, and it was possible to apply the the veneer to the furniture design industry under strict control of the fungus strain, growth time and moisture content of the wood.

Key words: fungal stained vein veneer; artificial cultivation; degradation degree

真菌在木材上生长使木材着色形成花斑^[1]。这个着色过程形成的图案具有别具一格的自然特征,因此长期被人们因“物以稀为贵”应用于反映不平凡魅力的工艺场所。人工培植菌纹木也逐渐成为国内一种获得高档新型木制装饰材料的途径。花斑木又称菌纹木,按着色效果可分为:菌纹线、染色、腐朽,其中菌纹线是最具价值的一种^[2]。从 15 世纪开始,西班牙等国家将菌纹木应用于教堂的镶嵌画、工艺

品和贴面单板上^[3]。目前,我国对于菌纹木的应用研究,还处于初始阶段。现有 7 种真菌能形成稳定的花斑:多形炭角菌(*Xylaria polymorpha*)、白腐菌(*Trametes versicolor*)、烟管菌(*Bjerkandera adusta*)、冬生多孔菌(*Polyporus brumalis*)、丝孢菌(*Arthrographis cuboidea*)、小孢绿盘菌(*Chlorociboria aeruginascens*)以及长喙壳属菌(*Ceratocystis virescens*)^[4]。将菌种两两组合接种有利于形成

收稿日期:2021-10-19 修回日期:2022-03-20

基金项目:国家自然科学基金项目(32160347);云南省教育厅科学研究基金项目(2021Y212)。

第一作者:闫妍。研究方向:家具设计与工程、花斑木。E-mail: yanyanyanyanyyy@163.com

*通信作者:秦磊,博士,副教授。研究方向:家具设计与工程、木材学、树木年轮学。E-mail: qinlei9999@163.com

数量、类型均更多的花斑,其中多形炭角菌可独立形成花斑。一定菌种在一定树种上形成的花斑是固定不变的^[5]。

本研究选用未干燥处理的橡胶木(*Hevea brasiliensis*)薄板为试验对象,因其材色浅,着色效果显著;木材收缩率低,具有稳定薄板尺寸的效果;且新伐橡胶木的薄壁细胞组织中含有较高含量的碳水化合物,能够满足花斑真菌的生长条件^[6]。橡胶木作为一种极具广阔前景和社会经济效益的人工林树种的地位已得到国际社会的承认^[7],因此将橡胶木菌纹薄板运用在家具行业上,不仅推动了环保材料的更新,而且拓宽了木质产品的应用,满足了人们对“唯一性”的精神追求^[8]。

1 材料与方法

1.1 材料

材料:选用的是从野外采集、分离的菌株和西南林业大学木材科学实验室何海珊^[1]博士所保存下来的菌株。选用的木材是未干燥处理的橡胶木薄板。

其他材料:马铃薯、葡萄糖、琼脂、过滤水。

化学试剂:75%酒精、95%酒精、0.1%升汞。

1.2 仪器设备

仪器设备具体见表1。

其他仪器:250 mL锥形瓶、培养皿、玻璃棒、烧杯、培养瓶、解剖刀、镊子、培养瓶。

表1 试验设备

Table 1 Experimental equipment and instrument

仪器名称	型号	生产厂家
立式压力蒸汽灭菌器	YAMATO SN510C	上海博迅医疗设备厂
单人水平净化工作台	VD-650 台式	浙江苏净净化设备有限公司
恒温恒湿培养箱	HWS 型	北京中兴伟业仪器有限公司
数显鼓风干燥箱	GZX-9240	上海博迅实业有限公司医疗设备厂
徕卡滑走式切片机	LEICA SM 2000R	上海聚慕医疗有限公司
尼康生物数码显微镜	80I	日本
电子天平	DDT-A+200	福州华志科学仪器有限公司
NINENBO 恒温加热板	DB-1A	苏州九联科技有限公司

1.3 木材含水率测定

根据培养瓶的大小把橡胶木切割成6.5 cm×15 cm×0.2 cm的薄板,用鼓风干燥箱以(60±5)℃烘至绝干,待橡胶木薄板绝干后称其质量(m_0)。

将每瓶培养瓶种加入橡胶木薄板1片,加入不等量的无菌水,不等量无菌水每个梯度重复3,置于

立式压力蒸汽灭菌器里灭菌(121℃ 0.1 MPa) 30 min,取出,冷却6~8 h后称量薄板的质量(m_t)。含水率公式如式(1)所示^[1]。

$$K = [(m_t - m_0) / m_0] \times 100\% \quad (1)$$

以加水量为0、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70 mL来测量木材含水率,试验表明,菌株ZXH18-6在含水率为41.394%~46.003%时生长较好,形成大量的菌纹线和花纹,在含水率为33.037%时,仅在表面形成黑色染色。菌株ZXH63-4在含水率为79%~99%形成的表面花斑量最多,在含水率为52%~99%形成的内部花斑量最多;ZXH63-4形成的平均花斑量最多(图1)。

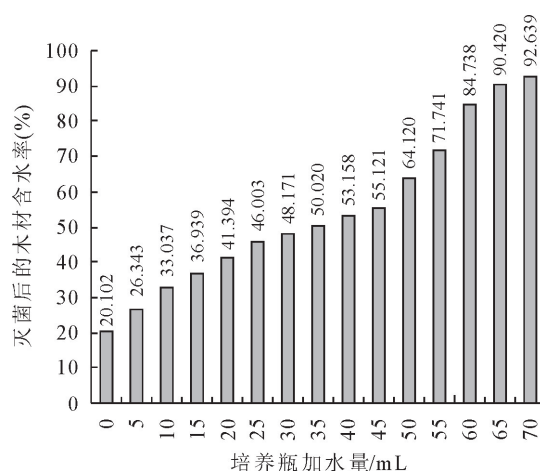


图1 木材含水率

Fig. 1 Moisture content of wood

1.4 固态菌株接种形成菌纹木的试验方法

1.4.1 菌株扩繁 从保存菌株的试管中挑起一些菌丝(或从野外采集来的菌纹木标本中采集样品),在超净工作台上,把菌丝接种在PDA平板上,放置于恒温恒湿箱中培养7~14 d。

1.4.2 橡胶木薄板灭菌 把橡胶木薄板放置于加有24 mL无菌水的培养瓶中,使用立式压力蒸汽灭菌器灭菌45 min,放置超净工作台上。

1.4.3 固态菌株接种 在接种前把培养瓶中的水分倒出,用解剖刀把PDA上的菌落切成约2 cm的小块贴在薄板上,把接种好的薄板放在恒温恒湿箱中培养56 d后取出来观察是否产生菌纹线^[9]。

1.5 偏光、荧光观测

1.5.1 木样处理 将菌株ZXH 18-6和ZXH 63-4制备成功的橡胶木菌纹薄板用聚乙二醇(PEG)包埋处理菌纹木薄板。PEG包埋将橡胶木薄板按2 cm×2 cm尺寸切割,放入无菌水中浸泡至饱水状态。配制含量为30%、50%、70%、85%、100%的PEG溶液,将菌纹木薄板依次放入恒温60℃的PEG溶液中浸泡24 h。处理好的菌纹木如图2。



图 2 包埋后的菌纹木

Fig. 2 Fungus grain wood after embedding

1. 5. 2 切片制作 将无菌水点在样品上,甘油涂抹刀片,游走切片机切 16~20 μm 的切片。把切片放入无菌水中清洗甘油,用软毛毛刷按照横切面、径切面、弦切面的顺序依次放在载玻片上,滴甘油盖好盖玻片,放置于恒温加热板上除去气泡。其中菌株 ZXH18-6 培育的菌纹薄板选取了上端的花纹处和

下端的黑色染色处 2 个部分做切片分析。
1. 5. 3 切片观测 木材的纤维素分子有序排列形成的结晶区具有双折射型,在偏光显微镜下会发亮,由此可以通过观察图像的明暗程度来判断纤维素的降解程度^[10];木材中的木质素因其含有的酚类物质会产生荧光,在荧光显微镜下观察荧光的强弱可以判断木质素的降解程度^[12]。

将切片放于尼康数码显微镜下用普通光、偏光、荧光观察菌纹木的纤维素和木质素的降解程度,并拍摄图像分析。

2 结果与分析

2.1 菌株特征分析

将从实验室保存的菌株 ZXH7-2、ZXH28、ZXH62-2、ZXH18-6、ZXH63-4 和野外采集的菌株 2a、2b、2c 在恒温箱中培养 8 d,经分离、纯化后观察形态特征(表 2)。

表 2 8 种菌株的形态特征

Table 2 Morphological characteristics of eight strains

菌株序号	正面图片	背面图片	菌株形态特征	拉丁名	中文名
ZXH7-2			菌落直径约 6.3 cm,背面浅黄色,正面呈白色,向四周发散生长;气生菌丝不发达,毛毡状,边缘平整	<i>Diaporthe</i> sp.	间座壳属
ZXH28			菌落直径约 6.5 cm,生长较快,菌落正面呈白色,背面略显黄色;毛毡状,边缘平整,气生菌丝不发达	<i>Diaporthe</i> sp.	间座壳属
ZXH62-2			菌落直径约 7.5 cm,菌落正面呈白色,背面呈浅黄褐色;毛毡状,气生菌丝不发达	<i>Beltrania</i> sp.	间座壳属
ZXH18-6			菌落直径约 7.0 cm,生长较快,菌落正面和背面都呈白色;气生菌丝不发达,毛毡状,边缘平整,向四周发散生长	<i>Diaporthe</i> sp.	间座壳属
ZXH63-4			菌落直径约 7.5 cm,生长缓慢,正面白色略带黄色,背面浅黄色;气生菌丝不发达,棉絮状,边缘不平整	<i>Diaporthe</i> sp.	间座壳属
2a(野外采集)			菌落直径为 9.0 cm,气生菌丝发达,生长较快,正面呈橘黄色,背面橘红色;菌落布满平板	—	—
2b(野外采集)			菌落直径为 9.0 cm,正面呈白色略有一点黄色,背面呈白色;菌落生长较快,菌落呈白色,毛毡状	—	—
2c(野外采集)			菌落直径为 7.5 cm,边缘不平整,正面呈白色略带黑色背面呈灰黑色,黑色边缘处还有 1 条黄褐色的线条,菌落呈白色毛毡状,边缘不平整 ^[11]	<i>Nigrospora oryzae</i>	间座壳属

注:“—”表示未检测出菌株。

2.2 菌纹木宏观分析

经过 56 d 的固态菌株接种培养,ZXH18-6、ZXH63-4 长出了菌纹线。





鉴定结果:*Diaporthe* sp.

分类地位:半知菌亚门 Deuteromycotina 腔孢

纲 Coelomycetes 球壳孢目 Sphaeropsidales,有性阶段属于子囊菌亚门 Ascomycotina 核菌纲 Pyrenomycetes 炭角菌目 Xylariales 间座壳科 Diaporthaceae 间座壳属 *Diaporthe*^[12-13]。

表 3 所培育出的菌纹木宏观分析

Table 3 Macroscopical analysis of the prepared wood with fungal stained veins

菌株	培养瓶图片	菌纹木图片	现象	现象分析
ZXH18-6			橡胶木薄板上正面和背面都布满了白色的菌落,薄板上部分还有黄色的菌落。毛刷清洗后橡胶木薄板上端形成了大量的黑色菌纹线,下端形成了大量的黑色、黄色染色	橡胶木薄板上形成白色菌落和黄色菌落是正常现象,这是菌株 ZXH18-6 生长所致,橡胶木薄板上正面形成了 1/3 的花纹,背面仅形成一点点花纹,正面和背面都有大量的黄色染色
			橡胶木薄板下端形成黑色的菌纹线且正面和背面都有,薄板上部分长了许多白色棉絮状的菌落,薄板下部分形成大量的黑色染色	菌株 ZXH63-4 对生长所需的水分要求比较高,在木材含水率为 90%形成的花纹面积最多,由于橡胶木薄板倾斜放于培养瓶中上部分水分比较少,下部分水分充足,导致黑色染色及花纹都产生于水分充足的橡胶木薄板的中下部分


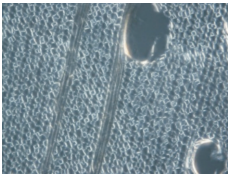
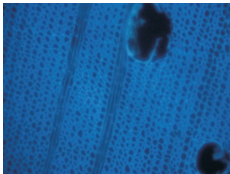
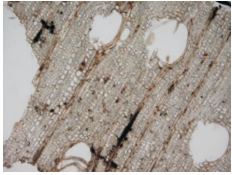
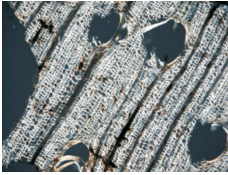
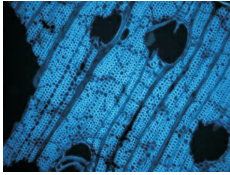

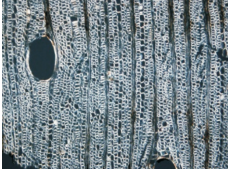
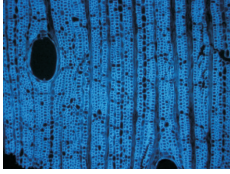

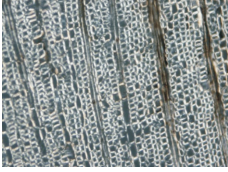
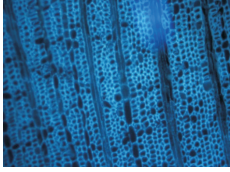
2.3 偏光和荧光显微镜分析

由表 4 可知,普通橡胶木薄板与菌纹橡胶薄板偏光和荧光发亮程度没有明显差异,且细胞壁未发生明

显的破损与凹陷分裂,黑色菌纹线两侧偏光及荧光的发亮程度没有明显变化。说明菌纹薄板花纹部分的横切面木质素和纤维素的降解程度都比较轻^[14-15]。

表 4 普通橡胶木与菌纹橡胶薄板横切面普通光、偏光、荧光对比

Table 4 Comparison of common light,polarized light and fluorescence in cross-section between ordinary rubber wood and veers with fungal stained veins

	普通光 20×	偏光 20×	荧光 20×
普通橡胶木横切面			
菌株 ZXH18-6 培育的菌纹木横切面(花纹处)			
菌株 ZXH18-6 培育的菌纹木横切面(染色处)			
菌株 ZXH63-4 培育的菌纹木横切面			

由表 5 可知,菌株 ZXH 18-6 培育的菌纹木薄板径切面交叉纹孔处的细胞没有发生断裂,菌株

ZXH 18-6、ZXH 63-4 据荧光和偏光显微镜观察,光亮强弱程度无明显差异。

表 5 普通橡胶木与菌纹橡胶薄板径切面普通光、偏光、荧光对比

Table 5 Comparison of the ordinary light,polarized light,fluorescence of between quarter-cut ordinary rubber wood and sheets with fungal stained veins



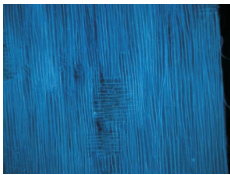

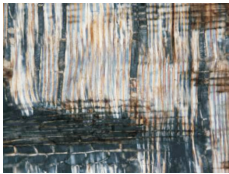
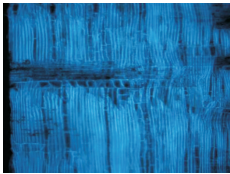

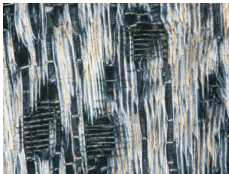
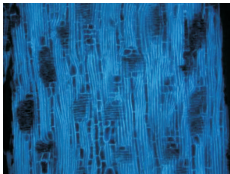
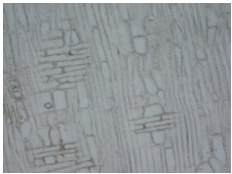
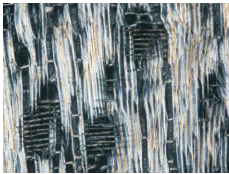
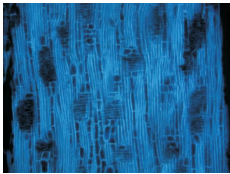
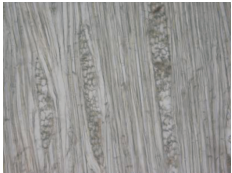
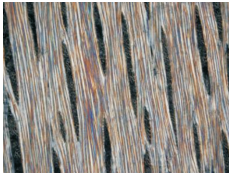

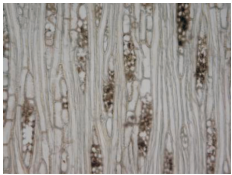

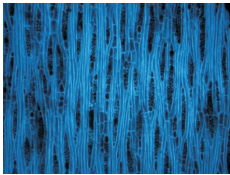

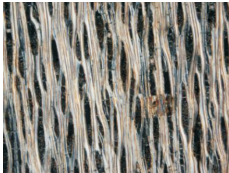
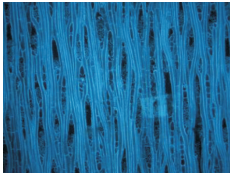
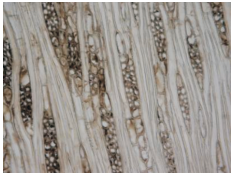

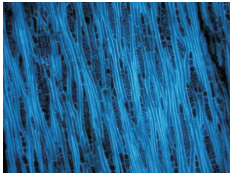
	普通光 20×	偏光 20×	荧光 20×
普通橡胶木径切面			
菌株 ZXH18-6 培育的菌纹木径切面(花纹处)			
菌株 ZXH18-6 培育的菌纹木径切面(染色处)			
菌株 ZXH63-4 培育的菌纹木径切面			

表 6 普通橡胶木与菌纹橡胶薄板弦切面普通光、偏光、荧光对比

Table 6 Comparison of ordinary light,polarized light and fluorescence between quarter-cut ordinary rubber wood and sheets with fungal stained veins

	普通光 20×	偏光 20×	荧光 20×
普通橡胶木弦切面			
菌株 ZXH18-6 培育的菌纹木弦切面(花纹处)			
菌株 ZXH18-6 培育的菌纹木弦切面(染色处)			
菌株 ZXH63-4 培育的菌纹木弦切面			

通过比较菌株 ZXH18-6 偏光图像的花纹处与染色处,发现花纹处的纤维素降解程度轻(橡胶木薄

板花纹处的含水率比染色处低一些);在荧光显微镜下花纹处比染色处光亮强,说明染色处的木质素的

降解程度较严重,因此木材本身的含水率越高,越容易对木材造成腐朽^[16]。

综上所述,在荧光和偏光显微镜观察下发现,菌株 ZHX18-6、ZHX63-4 培育的菌纹木和橡胶木正常材比较光亮程度没有明显差异,未见菌丝,没有观察到木质素和纤维素明显的降解现象^[17-18],即在 56 d 内花斑真菌 ZHX18-6、ZHX63-4 对木材的腐朽情况影响不显著。由此,在严格控制花斑真菌的菌种、生长时间和木材含水率的情况下,将培育的菌纹薄板应用在家具设计上是可能实现的。

3 结论与讨论

本研究是从野外提取和西南林业大学何海珊博士所保存的菌株人工制备橡胶木菌纹薄板,并将制备成功的薄板进行切片拍荧光和偏光图像来分析其木质素和纤维素的降解情况。

在培育菌纹木时没有加入蛭石,仅使用单种菌株接种制备菌纹木薄板,其中 ZHX18-6 和 ZHX63-4 形成了菌纹线,说明在没有不良环境的阻碍或真菌种间的相互抵抗下也能形成菌纹线。

木材的含水率对花斑真菌的生长尤其重要,本研究采用橡胶木薄板倾斜放于培养瓶中加水灭菌后造成木材上端含水率比较低,从而导致木材的含水率测量不精确。

在制备菌纹木试验中发现菌株 ZHX18-6 在含水率为 41.394%~46.003% 生长较好,可以形成大量的菌纹线和花纹,在含水率为 33.037% 只在表面形成黑色染色。

用荧光和偏光显微镜观察木质素和纤维素的降解程度没有出现显著现象,菌株 ZHX18-6 形成的菌纹木下端的木质素和纤维素降解程度上端较严重一些,表明含水率越高的地方,木质素和纤维素降解得越快,同时也越容易造成木材腐朽现象。

参考文献:

- [1] 何海珊. 花斑木形成机理的研究[D]. 昆明:西南林业大学, 2015:12-13.
- [2] 何蕊,邱坚,罗蓓. 真菌染色木材美学价值研究[J]. 家具与室内装饰, 2018(11):66-67.
- [3] BLANCHETTER A, WILMERING A M, BAUMEISTER M. The use of green-stained wood caused by the fungus *Chlorociboria* in intarsia masterpieces from the 15th century[J]. *Holz-forschung*, 1992, 46(3):225-232.
- [4] ROBINSON S C, LAKS P E. The effects of copper in large-scale single-fungal and dual-fungi wood systems[J]. *Forest Product Journal*, 2010, 60(6):490-495.
- [5] 何海珊,邱坚,郭梦麟,等. 易形成菌纹线树种调查[J]. 林业科学研究, 2014, 27(6):776-780.
- [6] HE H S, QIU J, GUO M L, *et al.* Investigation of wood species prone to forming zone lines[J]. *Forest Research*, 2014, 27(6):776-780. (in Chinese)
- [7] 孙明明,祁忆青. 橡胶木作为家具用材的适应性探讨[J]. 家具与室内装饰, 2011(8):24-25.
- [8] 王高伟. 橡胶木防霉防变色改性处理的研究[D]. 南京:南京林业大学, 2012:20-21.
- [9] 何蕊,邱坚,何海珊,等. 木材真菌染色研究现状及发展趋势[J]. 林业工程学报, 2019, 4(3):19-24.
- [10] HE R, QIU J, HE H S, *et al.* Research status and progress trend of wood fungal staining[J]. *Journal of Forestry Engineering*, 2019, 4(3):19-24. (in Chinese)
- [11] 苗翠苹,余莹,陈有为,等. 滇牡丹内生真菌的分离及其抑菌活性研究[J]. 中国药学杂志, 2011(10):738-741.
- [12] MIAO C P, YU Y, CHEN Y W, *et al.* Study on isolation of endophytic fungi from *paeonia delavayi* and their antimicrobial activity[J]. *China Pharm J.*, 2011(10):738-741. (in Chinese)
- [13] 甘昌涛,何海珊,李君,等. 4 种菌纹木降解程度的偏光荧光与红外光谱分析[J]. 西南林业大学学报:自然科学, 2020, 40(2):155-160.
- [14] GAN C T, HE H S, LI J, *et al.* Degradation analysis of 4 species of spalted wood by polarized and fluorescent light and FTIR[J]. *Journal of Southwest Forestry University*, 2020, 40(2):155-160. (in Chinese)
- [15] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1979.
- [16] 尹思慈,阮锡根,孙成志,等. 应用偏光显微镜测定木材纤维胞壁的纤丝角[J]. 林业科学, 1986(2):209-212.
- [17] 蔡绍祥,黄燕萍,李朱锋,等. 木材化学成分对细胞壁纵向黏弹性的影响[J]. 森林工程, 2022, 38(3):54-62.
- [18] 陈玲,潘彪. 荧光光谱技术及其在木材工业领域的应用[J]. 林业机械与木工设备, 2017, 45(2):10-14.
- [19] CHEN L, PAN B. Fluorescence spectroscopy technology and its application in the wood industry[J]. *Forestry Machinery & Woodworking Equipment*, 2017, 45(2):10-14. (in Chinese)
- [20] 王敬贤,赫亮,王建军,等. 低盐活性红染料染色柞木单板的工艺与性能[J]. 森林工程, 2020, 36(6):51-57.
- [21] 李应果,杨洁,董春雷. 木材表面缺陷特征轮廓提取算法研究[J]. 西北林学院学报, 2021, 36(4):204-208, 281.
- [22] LI Y G, YANG J, DONG C L. Research on feature extraction algorithm of wood surface defects[J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2021, 36(4):204-208, 281. (in Chinese)
- [23] 杨忠,江泽慧,费本华. 木材初期腐朽研究综述[J]. 林业科学, 2006(3):99-103.
- [24] YANG Z, JIANG Z H, FEI B H. Review of literature on incipient decay in wood[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2006(3):99-103. (in Chinese)
- [25] 杨红旗,刘艳萍,陈广辉,等. 不同立地条件的白蜡杆生长规律及纤维形态特征研究[J]. 西北林学院学报, 2012, 27(3):197-200.
- [26] YANG H Q, LIU Y P, CHEN G H, *et al.* Growth regularity and fiber morphology of *Fraxinus chinensis* growing in different site conditions[J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2012, 27(3):197-200. (in Chinese)