

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ŠTUDIJ BIOTEHNOLOGIJE

Katra PETRE NAVERŠNIK

ANALIZA GLIVNEGA OBARVANJA LESA

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ŠTUDIJ BIOTEHNOLOGIJE

Katra PETRE NAVERŠNIK

ANALIZA GLIVNEGA OBARVANJA LESA

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

ANALYSIS OF SPALTED WOOD

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2016

Diplomsko delo je zaključek Univerzitetnega študija biotehnologije na Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani. Eksperimentalni del naloge je bil opravljen na Katedri za patologijo in zaščito lesa na Oddelku za lesarstvo Biotehniške fakultete v Ljubljani.

Komisija za študij 1. in 2. stopnje biotehnologije je na seji dne 20.6.2014 za mentorja diplomskega dela imenovala prof. dr. Miho Humarja.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Branka JAVORNIK
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: Prof. dr. Miha HUMAR
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo

Član: Prof. dr. Marko PETRIČ
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo

Datum zagovora:

Podpisana izjavljam, da je diplomsko delo rezultat lastnega raziskovalnega/lastnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na univerzo neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravici shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Katra Petre Naveršnik

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 630*81:582.28(043.2)
KG	obarvan les/razkroj lesa/izguba mase/CIE L*a*b*/FTIR
AV	PETRE NAVERŠNIK, Katra
SA	HUMAR, Miha (mentor)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Študij biotehnologije
LI	2016
IN	ANALIZA GLIVNEGA OBARVANJA LESA
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	XI, 46, [9] str., 9 pregl., 20 sl., 4 pril., 51 vir.
IJ	sl
JJ	sl/en
AI	Les je eden najbolj preprostih in zelo razširjenih gradbenih materialov. Barva lesa je zelo priljubljena, saj prostor pogostokrat napolni s toplino in domačnostjo. Vendar določene glive spremenijo barvo lesa in to se je do nedavnega obravnavalo kot napaka, ki je lesu zelo znižala ceno. Glive, ki povzročijo obarvanost lesa, načeloma ne vplivajo na mehanske lastnosti lesa, ker ne razgrajujejo celuloze in lignina. Po drugi strani glive trohnikovke spremenijo tudi mehanske lastnosti lesa. Pomodreli les je bil dolgo časa podcenjen, saj je bil obarvan les estetsko razvrednoten in se je lahko uporabljal le tam, kjer so to dovoljevali standardi. Danes je na trgu vedno več pomodrelega lesa, ki ga prodajajo pod komercialnim imenom "denim pine" ali "denim wood". Takšen les ima bistveno višjo ceno od neokuženega lesa. V okviru te naloge smo določali, kako 5 plesni, 3 vrste trohnikov in kombinacija teh 5 plesni in trohnikov vpliva na barvo lesa različnih drevesnih vrst (bora, smreke, javorja in bukve). Določili smo izgubo mase, ki jo povzročijo glive. Vzorce smo primerjali vizualno ter s CIE L*a*b* barvnim sistemom. Kemično sestavo lesa, ki je bil izpostavljen glivam, smo analizirali z infrardečo spektroskopijo (FTIR).

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn
DC UDC 630*81:582.28(043.2)
CX spalted wood/decay/mass-loss/CIE L*a*b*/FTIR
AU PETRE NAVERŠNIK, Katra
AA HUMAR, Miha (supervisor)
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Academic Study Program in Biotechnology
PY 2016
TI ANALYSIS OF SPALTED WOOD
DT Graduation Thesis (University studies)
NO XI, 46, [9] p., 9 tab., 20 fig., 4 ann., 51 ref.
LA sl
AL sl/en
AB Wood is one of the most simple and widely spread building material. The colour of wood is very popular because it often gives the space warmth and makes a cosy feeling. However, certain fungi change the colour of the wood which has until recently been considered as a mistake, thus reducing the price of wood. Fungi causing the discolorations of wood in principle do not affect the mechanical properties of wood, because they do not degrade cellulose and lignin. The rotting fungi, however, change the mechanical properties of wood. Spalted and blue stained wood has long been underestimated, since its aesthetic value is lost and could only be used where it meet related standards. Today, there is more and more discoloured wood on the market, which is sold under the commercial name "denim pine" or "denim wood"; such timber has a substantially higher price than wood, free of infections. We monitored how 5 molds, 3 rots and the combination of these 5 molds and rots affect the colour of wood of various tree species (pine, spruce, maple and beech). We determined the mass loss caused by fungi. The samples were compared visually and by using the CIE L*a*b* colour system. With infrared spectroscopy (FTIR) we examined how the chemical composition of wood that had been exposed to fungi was changed.

KAZALO VSEBINE

	str.
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	VII
KAZALO SLIK	VIII
KAZALO PRILOG	IX
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	X
SLOVARČEK	XI
1 UVOD	1
1.1 OPREDELITEV PROBLEMA	1
1.2 CILJ RAZISKOVANJA	2
1.3 DELOVNE HIPOTEZE	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 ZGODOVINSKI PREGLED UPORABE POMODRELEGA LESA	3
2.2 GLIVE	4
2.2.1 Delitev gliv glede na spremembo barve po okužbi lesa	4
2.2.1.1 Glive modrivke	5
2.2.1.2 Glive bele trohnobe	5
2.2.1.2.1 Glive bele trohnobe, ki smo jih uporabili v raziskavi	5
2.2.1.3 Glive rjave trohnobe	8
2.2.1.4 Glive plesni	8
2.2.1.5 Glive mehke trohnobe (soft rot)	8
2.2.2 Pogoji za rast gliv	9
2.2.3 Posledice delovanja gliv	9
2.3 LES	9
2.3.1 Zgradba lesa	10
2.3.1.1 Celuloza	10
2.3.1.2 Hemiceluloza	10
2.3.1.3 Lignin	11
2.3.2 Encimski razkroj lesa	12
2.3.3 Barva lesa	12
2.3.4 Drevesne vrste, uporabljene v raziskavi	13
2.3.4.1 Bukev	13
2.3.4.2 Javor	13
2.3.4.3 Smreka	13
2.3.4.4 Bor	13
3 MATERIAL IN METODE	14
3.1 PRIPRAVA VZORCEV	14
3.2 SEZNAM GLIV, KI SMO JIH UPORABILI PRI DELU	14
3.3 PRIPRAVA HRANILNIH GOJIŠČ IN IZPOSTAVITEV LESNIH VZORCEV DELOVANJU GLIV	15
3.3.1 Priprava gojišča za plesni in izpostavitev vzorcev	15

3.3.2	Priprava gojišča za glive trohnivke in izpostavitve vzorcev	15
3.4	PO IZPOSTAVITVI	16
3.4.1	Gravimetrično določanje izgube mase	16
3.4.2	Določevanje barvnih sprememb, ki so jih povzročile glive (vizualno in numerično)	16
3.4.2.1	CIE L*a*b*	16
3.4.3	Določanje kemičnih sprememb, ki so nastale v lesu zaradi delovanja gliv	19
3.4.3.1	FTIR (Fourier Transform Infra Red) spektroskopija	19
4	REZULTATI IN RAZPRAVA	23
4.1	IZGUBA MASE	23
4.2	VIZUALNO PRIMERJANJE VZORCEV	25
4.2.1	Vizualna ocena obarvanosti vzorcev bukovine	25
4.2.2	Vizualna ocena obarvanosti vzorcev javorjevine	25
4.2.3	Vizualna ocena obarvanosti vzorcev borovine	26
4.2.4	Vizualna ocena obarvanosti vzorcev smrekovine	26
4.3	DOLOČANJE BARVNIH SPREMEMB V CIE L*a*b* SISTEMU	27
4.3.1	Barvne spremembe, določene v CIE L*a*b* sistemu, na vzorcih bukovine	27
4.3.2	Barvne spremembe, določene v CIE L*a*b* sistemu, na vzorcih javorjevine	28
4.3.3	Barvne spremembe, določene v CIE L*a*b* sistemu, na vzorcih borovine	29
4.3.4	Barvne spremembe, določene v CIE L*a*b* sistemu na vzorcih smrekovine	29
4.4	DOLOČANJE KEMIČNIH SPREMEMB, KI SO NASTALE V LESU ZARADI DELOVANJA GLIV (FTIR)	30
5	SKLEPI	40
6	POVZETEK	41
7	VIRI	42

ZAHVALA

PRILOGE

KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Razkroj komponent olesenele celične stene (Hill, 2006)	12
Preglednica 2: Seznam gliv, ki smo jih uporabili pri raziskovalnem delu	14
Preglednica 3: Pomen vrednosti ΔE^*_{ab} glede na barvne razlike (Kumar, 2008)	19
Preglednica 4: Trakovi v nihajnih (FTIR) spektrih lesa	22
Preglednica 5: Izguba mase (%) lesnih vzorcev po izpostavitvi glivam. V oklepajih so podani standardni odkloni.	23
Preglednica 6: Barvne spremembe ΔL^* , Δa^* , Δb^* in ΔE^* , določene v skladu s CIE $L^*a^*b^*$ sistemom na lesnih vzorcih bukve po izpostavitvi lesnim glivam	27
Preglednica 7: Barvne spremembe ΔL^* , Δa^* , Δb^* in ΔE^* , določene v skladu s CIE $L^*a^*b^*$ sistemom, na lesnih vzorcih javorja po izpostavitvi lesnim glivam	28
Preglednica 8: Barvne spremembe ΔL^* , Δa^* , Δb^* in ΔE^* , določene v skladu s CIE $L^*a^*b^*$ sistemom, na lesnih vzorcih bora po izpostavitvi lesnim glivam	29
Preglednica 9 : Barvne spremembe ΔL^* , Δa^* , Δb^* in ΔE^* , določene v skladu s CIE $L^*a^*b^*$ sistemom, na lesnih vzorcih smreke po izpostavitvi lesnim glivam	30

KAZALO SLIK

str.

Slika 1: Mladi trosnjaki ogljene kroglice (Humar, 2009).....	6
Slika 2: Plodišče bukovega ostrigarja (Humar, 2008).....	7
Slika 3: Kresilka na bukvi v gozdu na Golovcu (Pohleven, 2008)	8
Slika 4: Prikaz encimske razgradnje celuloze (Schmidt, 2006).	10
Slika 5: Prikaz encimske razgradnje hemiceluloze (Schmidt, 2006).	11
Slika 6: Model ligninske makromolekule (Schmidt, 2006).....	11
Slika 7: Grafični prikaz razlik ΔE^* , ΔL^* , Δa^* in Δb^* (Scott, 1997).....	18
Slika 8: Barvni prostor CIE $L^*a^*b^*$ (Molek in Golob, 2010).....	19
Slika 9: Grafični prikaz odbitja svetlobe pri difuzivni refleksiji (Khoshhesab, 2012).....	20
Slika 10: Proces analize v FTIR spektrometru (Introduction ..., 2001).....	21
Slika 11: Shematski prikaz nastajanja interferograma širokega spektra (Basics ..., 2012)	21
Slika 12: Grafični prikaz izgube mase v % glede na glivo, kateri so bili izpostavljeni lesni vzorci.....	24
Slika 13: spektri FTIR: reflektanca v odvisnosti od valovne dolžine na lesu bukve, ki je bil izpostavljen glivam plesni.	31
Slika 14: spektri FTIR: reflektanca v odvisnosti od valovne dolžine na lesu bukve, ki je bil izpostavljen glivam trohnikovkam.	32
Slika 15: spektri FTIR: reflektanca v odvisnosti od valovne dolžine na lesu javorja, ki je bil izpostavljen glivam plesni.	33
Slika 16: spektri FTIR: reflektanca v odvisnosti od valovne dolžine na lesu javorja, ki je bil izpostavljen glivam trohnikovkam.	34
Slika 17: spektri FTIR: reflektanca v odvisnosti od valovne dolžine na lesu bora, ki je bil izpostavljen glivam plesni.	35
Slika 18: spektri FTIR: reflektanca v odvisnosti od valovne dolžine na lesu bora, ki je bil izpostavljen glivam trohnikovkam.	36
Slika 19: spektri FTIR: reflektanca v odvisnosti od valovne dolžine na lesu smreke, ki je bil izpostavljen glivam plesni.	37
Slika 20: spektri FTIR: reflektanca v odvisnosti od valovne dolžine na lesu smreke, ki je bil izpostavljen glivam trohnikovkam.	38

KAZALO PRILOG

Priloga A: Bukev

Priloga B: Javor

Priloga C: Bor

Priloga D: Smreka

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

FTIR	(<u>F</u> ourier <u>T</u> ransform <u>I</u> nfra <u>R</u> ed) je infrardeča spektroskopija, pri kateri vzorec izpostavimo svetlobi z valovnim številom med 400 cm^{-1} in 4000 cm^{-1} (v srednjem IR območju) ter merimo prepustnost oziroma količino absorbirane svetlobe v odvisnosti od valovnega števila.
DRIFT	(<u>D</u> iffuse <u>R</u> eflectance <u>I</u> nfrared <u>F</u> ourier <u>T</u> ransform <u>S</u> pectroscopy) ni transmissijska tehnika, ampak je refleksijska tehnika, zato se na y osi označi refleksija oziroma reflektanca (odboj svetlobe od vzorca). DRIFT nam omogoča, da pridobimo vzorce tudi iz trdnih snovi, ki imajo hrapavo površino (papir, oblačila, spomeniki, itd.). Vzorce lahko analiziramo v obliki prahu (običajno se doda material KBr ali KCl) ali pa uporabimo brusni papir za zbiranje delcev iz vzorca, običajno je to silicijev karbid.
Plo	Gliva bele trohnobe, bukov ostrigar - <i>Pleurotus ostreatus</i>
Hf	Gliva bele trohnobe, ogljena kroglica - <i>Hypoxylon fragiforme</i>
Ff	Gliva bele trohnobe, bukova kresilna goba <i>Fomes fomentarius</i>
Fus	Gliva plesen - <i>Fusarium solani</i>
Sp	Gliva plesen - <i>Sclerophoma pithyophila</i>
Ce pi 2	Gliva plesen - <i>Ceratocystis picea</i>
Karin	Gliva plesen - <i>Cladosporium cladosporides</i>
Glu	Gliva plesen - <i>Gliocladium viride</i>

SLOVARČEK

Beljava	Imajo jo vse drevesne vrste, nahaja se na zunanjem, mlajšem delu debla. V drevesu prevaja vodo z rudninskimi snovmi iz korenin do krošnje, skladišči hrano in ima hkrati tudi oporno funkcijo. Les beljave je zelo neodporen proti škodljivcem.
Jedrovina	Nimajo je vse drevesne vrste, nahaja se v osrednjem, starejšem delu debla. Ima oporno funkcijo. Les jedrovine je odpornejši proti napadom škodljivcev zaradi visoke vrednosti čreslovin, alkaloidov in glikozidov.
Piravost	Piravost se šteje za napako lesa, ki jo povzročajo glive. Kjer se srečata dve glivi (antagonistki) nastane linija, značilna za piravost. Dokler je napaka ali napad gliv še v začetnem stanju, se v lesu pojavljajo lepe risbe, les pa še ohrani mehanske lastnosti.
Ravnovesna vlažnost lesa	Ravnovesno vlažnost ima les, ki ne sprejema in ne oddaja vezane vode - vlažnost lesa je v higroskopskem ravnovesju s klimo prostora, kjer se les nahaja. Odvisna je od temperature in relativne vlažnosti zraka, zato jo lahko odčitamo iz psihrometrskega diagrama, ki ima vrisane krivulje za ravnovesne vlažnosti. Ravnovesna vlažnost lesa, relativna zračna vlažnost in temperatura zraka so medsebojno odvisne. Če je vlažnost lesa višja od njegove ravnovesne se bo les krčil. Če pa bo njegova vlažnost nižja od ravnovesne, bo les nabrekal.

1 UVOD

1.1 OPREDELITEV PROBLEMA

Les je količinsko in tudi sicer že od nekdaj ena najpomembnejših surovin. Je naraven, obnovljiv in razširjen material. Njegova poraba tudi danes nenehno narašča. Kljub temu, da se nekatere tradicionalne rabe lesa opuščajo, iznajdljivost in moderne predelovalne in obdelovalne tehnologije širijo spekter njegove uporabe. Pri lesu cenimo med drugim njegovo toplino zaradi vzajemnega učinka toplih barv in nizke toplotne prevodnosti. Privlačita nas njegova naravnost in dekorativnost, ki je posledica najrazličnejših barvnih in zgradbenih tekstur (Čufar, 2006). Kot naraven material, je les izpostavljen različnim biotičnim in abiotičnim dejavnikom razgradnje. Abiotični dejavniki, ki škodujejo lesu, so vremenski vplivi (spremembe nizkih in visokih temperatur, sneg, voda, veter, led, UV žarki), mehanske sile, kemikalije in ogenj. Biotični dejavniki, ki vplivajo na les, pa so glive, bakterije, insekti, morski škodljivci in človek (Kervina-Hamović, 1990). Ti dejavniki pa lahko vplivajo na spremembo estetskih lastnosti lesa, kot so: lesna tekstura, barva lesa, sijaj lesa in vonj lesa.

Poškodbe na lesu, ki jih povzročijo glive, so večinoma povzročene zaradi razgradnje celične stene, zaradi česar se poslabšajo mehanske lastnosti lesa, s tem pa se bistveno zmanjša tudi uporabnost lesa. Na kakovost lesa pa vpliva tudi obarvanost, ki jo povzročajo bakterije, alge in glive. Obarvanost lesa na še stoječih drevesih se večinoma pojavi kot posledica poškodbe oziroma rane na drevesu in kolonizacije debla z bakterijami in glivami. Je rezultat pigmentov, ki jih vsebujejo mikroorganizmi (najbolj poznan je melanin v glivah modrivkah) ali njihovih metabolitov, te lahko povzročijo glive rjave in bele trohnobe ter kemijske reakcije spojin v lesu, ki nastanejo zaradi spremembe vrednosti pH (Schmidt, 2006). Takšen primer je pojav mokrega srca pri jelovini, ki ga večinoma povezujejo z bakterijami (značilen vonj po masleni kislini). Obarvanja mokrega srca so močnejša, če so se v lesu pojavljali fakultativni anaerobi (Torelli in sod., 2009). Tudi rdeče srce pri bukvi v splošnem zmanjšuje vrednost lesa. Les je lahko razvrednoten tudi za 50 %, napaka pa ni le estetska, saj takšen les pogosto tudi razpoka (Mali in sod., 2009). Iz Združenih držav Amerike pa v letu 2000 poročajo tudi o tem, da je cena hlodovine, ki ima obarvan les zaradi gliv modrivk lahko nižja za polovico do dve tretjini prvotne cene (Hubbard in sod., 2005).

Določene barvne spremembe obravnavamo kot napake in pomenijo odstopanja od naravnega barvnega tona, značilnega za drevesno vrsto. Glive modrivke se razvijajo samo v beljavi, kjer se hranijo predvsem z vsebino živih celic, zato pomodreli les običajno nima poslabšanih mehanskih lastnosti, ampak so zmanjšane samo estetske lastnosti lesa. Les, ki je obarvan, je estetsko razvrednoten, saj se lahko uporablja samo tam, kjer to dovoljujejo standardi. Ker pa so se v skandinavskih državah in v Kanadi pojavile ogromne količine

lesa, okuženega z glivami modrivkami in ker gozdarji niso želeli prodati lesa v cenene industrijske namene, se je pojavil trend, kjer se pomodreli les prodaja pod komercialnim imenom »denim pine« ali »denim wood« in ima bistveno višjo ceno kot neokužen les. Iz pomodrelega lesa izdelujejo talne in stenske obloge, pohištvo ter razne spominke. Ker je bila reklamna kampanja izjemno uspešna so pomodreli les začeli tudi komercialno proizvajati (Humar in Pohleven, 2005).

1.2 CILJ RAZISKOVANJA

Cilj našega dela je bil ugotoviti izgubo mase, ki nastane zaradi delovanja različnih gliv modrivk (plesni), gliv bele trohnobe in kombinacije obojega. Želeli smo določiti barvne spremembe, ki pri delovanju gliv nastanejo in jih določiti vizualno in numerično v sistemu CIE $L^*a^*b^*$. Prav tako je bil namen posneti FTIR spektre.

Vzorci štirih različnih drevesnih vrst (bukev, javor, smreka, bor) smo izpostavili delovanju glivam plesnim (posamezno: *Cladosporium cladosporoides* (Karin), *Ceratocystis picea* (Ce pi2), *Fusarium solani* (Fus), *Gliocladium viride* (Glu), *Sclerophoma pithyophila* (Sp) in vsem petim plesnim skupaj), trem glivam bele trohnobe (bukov ostrigar - *Pleurotus ostreatus* (Plo), ogljena kroglica - *Hypoxylon fragiforme* (Hf), bukova kresilna goba - *Fomes fomentarius* (Ff). Ter vzorce, ki smo jih prvo izpostavili delovanju vsem petim glivam plesni (*Cladosporium cladosporoides* (Karin), *Ceratocystis picea* (Ce pi2), *Fusarium solani* (Fus), *Gliocladium viride* (Glu), *Sclerophoma pithyophila* (Sp)) 5 tednov, nato pa še trem glivam bele trohnobe posamično, prav tako 5 tednov.

1.3 DELOVNE HIPOTEZE

Pričakujemo, da bo na vzorcih, ki so izpostavljeni glivam bele trohnobe izguba mase večja kot na vzorcih, ki so bili izpostavljeni samo glivam plesnim. Predvidevamo, da bodo glive modrivke povzročile največje obarvanje, ostale glive pa manjše. Pričakujemo, da bodo barvne spremembe, pri vzorcih, ki jih bomo izpostavili več glivam hkrati, večje in izrazitejše, kot pri vzorcih, ki bodo izpostavljeni le eni kulturi. Z FTIR analizo bomo osvetlili, kako glive spremenijo kemično zgradbo lesa.

2 PREGLED OBJAV

2.1 ZGODOVINSKI PREGLED UPORABE POMODRELEGA LESA

Povezava med hrošči podlubniki (Coleoptera: Scolytidae) in glivami je poznana že iz 19. stoletja. Leta 1836 je Schmidberger opisal »ambrozijo« v rovih podlubnika *Xyleborus dispar*. Hartig je leta 1844 ugotovil, da je »ambrozija« pravzaprav micelij gliv na stenah rogov, ki so jih naredili podlubniki. Hartig je bil tudi prvi, ki je leta 1878 opazil povezavo med škodo, povzročeno zaradi podlubnikov, razbarvanjem lesa in glivami. Münch pa je v letih 1907 in 1908 ugotovil povezavo med glivami modrivkami v lesu stoječih dreves in lesa, napadenega s strani podlubnikov (Kirisits, 2004). Leta 1928 je ameriški gozdni entomolog F.C. Craighead prikazal, da imajo glive modrivke odločilno vlogo pri hitrem odmiranju borov, ki so bili okuženi s hrošči iz rodu *Dendroctonus*. Trdil je, da se zgolj zaradi odstopanja lubja, ki ga povzročijo podlubniki, drevo ne bi posušilo v nekaj tednih. Saj so drevesa, ki so jim umetno odstranili lubje, pogosto živela še več mesecev in let. Zaradi tega je namignil, da so glive tiste, ki prekinajo transpiracijo vode v drevesu, kar povzroči njegovo sušenje in smrt (Christiansen, 1991). Six in Klepzig v članku navajata, da so vsi podlubniki iz rodu *Dendroctonus* povezani z glivami. Simbioze med podlubniki *Dendroctonus* in glivami so zelo pogoste in vključujejo antagonistične odnose, priskledniške odnose in mutualistične odnose, ki so lahko obligativni ali pa fakultativni (Six in Klepzig, 2004). Leach je s sodelavci leta 1934 demonstriral, da so podlubniki iz rodu *Ips* tisti, ki okužijo les z glivami modrivkami in da glive modrivke težko vstopijo v drevo na kakšen drugačen način (Leach in sod., 1934). Istega leta sta Steiner in Buhner opazila povezavo med borovo ogorčico (*Bursaphelenchus xylophilus*), glivami modrivkami in podlubniki vrst *Dendroctonus* in *Ips*. Opisala sta jo kot *Aphelenchoides xylophilus* (Himelick, 1982). Leta 1970 jo je Nickle preimenoval v *Bursaphelenchus xylophilus*. Ugotovili so, da potrebuje borova ogorčica za prenos gostiteljske organizme, ki prihajajo iz različnih vrst hroščev iz družin kozličkov (*Cerambycidae* - pogosti so osebkii iz rodu *Monochamus*), rilčkarjev (*Curculionidae* - v kateri je tudi rod *Pissodes*), podlubnikov (*Scolytidae*) in krasnikov (*Buprestidae*). V rastlinskem tkivu se nato ogorčice prehranjujejo z micelijem gliv (ponavadi na vrstah rodu *Ceratocystis*), ki je v rastlinsko tkivo tudi zanešena prek hroščkov v teku odlaganja jajčec (Jurc in sod., 2003).

Podlubnik *Dendroctonus ponderosae* je že od nekdaj del narave v Britanski Kolumbiji. Ampak običajno nizke temperature, gozdni požari in naravni plenilci poskrbijo, da je populacija v ravnovesju. Obilje zrelih borovih dreves, skupaj z milimi zimami in zelo vročimi in suhimi poletji pa je privedla do izjemnih epidemij (Safranyik in Carroll, 2006). Predhodni velik izbruh podlubnika *Dendroctonus ponderosae* se je v Britanski Kolumbiji pojavil med leti 1969 in 1985 na planoti Cariboo (Lewis in Hartley, 2006). Tudi v Alberti sta se v preteklosti pojavila dva večja izbruha, prvi od leta 1940 do 1943 in drugi od 1977 do 1985 (Rice, 2007). Med leti 1971 in 1982 se je pojavil velik izbruh smrekovega

lubadarja (*Ips typographus* L.) tudi na jugovzhodu Norveške in v sosednjih delih Švedske (Christiansen in sod., 1991). *Ips typographus* je pogosto povezan z glivami iz rodu *Ophiostoma*, *Grosmannia*, *Ceratocystiopsis*, *Ceratocystis*, *Leptographium* in *Pesotum* (Giordano in sod, 2013). Zadnji izbruh, ki se je začel leta 1999 (A History of the Battle Against the Mountain Pine Beetle: 2000 to 2012), je prizadel več kot 14 milijonov hektarjev gozdnih površin v zahodni Kanadi, znatne izgube pa so zabeležili tudi v Združenih državah Amerike. To je največji izbruh, ki je bil kdaj dokumentiran, odkar se je začelo dokumentiranje (približno 125 let nazaj). Prinaša negativne gospodarske posledice, neučinkovito kroženje hranil, skladiščenje ogljika in zmanjšuje biološko raznolikost (Cullingham in sod., 2011).

Žuželke povzročijo neposredne poškodbe in razvrednotenje lesa z vrtanjem rovnih sistemov v les in posredne s prenašanjem gliv. V naših gozdovih povzroči največ škode *Ips typographus* z vrtanjem rovnih sistemov. S tem lesa ne razvrednoti, saj se rovni sistemi ne nahajajo v lesu. Les razvrednotijo glive modrivke, ki povzročijo modro obarvanje lesa. Kar kot estetska napaka lahko zmanjša vrednost žaganega lesa tudi do 30 % (Kolšek, 2011). Iz Združenih držav Amerike pa v letu 2000 poročajo tudi o tem, da je cena hlodovine, ki ima obarvan les zaradi gliv modrivk, lahko nižja za polovico do dve tretjini prvotne cene (Hubbard in sod., 2005).

Zaradi ogromnih količin lesa, okuženega z glivami modrivkami, se je pojavil trend, kjer se pomodreli les prodaja pod komercialnim imenom »denim pine« ali »denim wood« in ima bistveno višjo ceno kot neokužen les. Lynn Pont je bila idejni vodja, da je Britanska Kolumbija (Kanada) ustanovila blagovno znamko Denim pine™. Saj jo je barva pomodrelega lesa spominjala na tkanino denim, ki je podobna jeans-u in ker se Denim pine sliši lepše kot »Bug-stained wood« oziroma »les, ki je okužen z žuželkami« (Grech, 2009).

2.2 GLIVE

Glive na lesu povzročajo številne kemične in fizikalne spremembe, zaradi česar les izgublja naravne lastnosti. Te spremembe se najprej pokažejo v spremembi barve lase, kasneje pa lahko vodijo tudi v trohnobo oz. degradacijo lesa. Intenziteta in hitrost razkroja lesa sta odvisni od vrste gliv in vrste lesa (Kervina-Hamović, 1990).

2.2.1 Delitev gliv glede na spremembo barve po okužbi lesa

Lesne glive lahko delimo na podlagi številnih kriterijev. Najbolj se je uveljavila delitev glede na spremembo barve lesa po okužbi. Glede na spremembe lesa ločimo naslednje skupine gliv:

- glive modrivke, obarvajo beljavo,
- glive plesni, povzročiteljice površinskih sprememb barv,
- glive mehke trohnobe (soft rot),

- glive povzročiteljice rjave ali destruktivne trohnobe,
- glive bele ali korozivne trohnobe in piravosti.

Od teh največjo škodo na lesu povzročajo glive bele in rjave trohnobe, saj spremenijo mehanske lastnosti lesa (Benko in sod., 1987).

2.2.1.1 Glive modrivke

Povzročajo površinsko in globinsko obarvanje beljave iglavcev (predvsem bora in smreke) in nekaterih listavcev (topola, javorja, breze). V deblu začnejo rasti, če njihove trose tja zanesejo insekti (večinoma podlubniki) ali pa se trosi preko kakšnega drugega načina (veter, voda, živali, orodja) zanesejo na poškodovano drevo ali deblo. Pri okužbi mora tros pasti neposredno na beljavo. V ugodnih pogojih proizvedejo glive modrivke dnevno 10^5 do 10^{10} trosov. Glive modrivke se hranijo s škrobom, beljakovinami in sladkorji iz parenhimskih celic, zato ne vplivajo na mehanske lastnosti lesa in jih tako ne uvrščamo med prave razkrojevalke lesa. Med modrenjem se kemična sestava lesa bistveno ne spremeni. Zmanjša se le delež škroba in drugih hranilnih snovi v lesu. Poznamo približno 400 različnih vrst gliv, ki povzročajo modrenje lesa, barva pa je odvisna od strukture melanina in od strukture samega lesa. Najbolj pogosta izolirana gliva modrivka pri nas je *Aureobasidium pullulans*. Nekaterе druge glive, ki povzročajo modrenje so še *Cladosporium herbarum*, *Alternaria tenuis*, *Stemphylium verrucolosum* in *Sclerophoma pithyophilla*. Optimalna temperatura za razvoj in rast gliv modrivk je med 22 °C in 27 °C. Optimalna vlaga lesa za razvoj je med 50 % in 60 % (Benko in sod., 1987).

2.2.1.2 Glive bele trohnobe

Glive bele trohnobe se prehranjujejo predvsem z ligninom, po razgradnji lignina, lahko z encimi začnejo razgrajevati tudi celulozo. Les posvetli in nazadnje razpade v obliki vlaken. Pogosteje jih najdemo na listavcih, kot na iglavcih. Piravost je tip bele trohnobe, ki se pojavlja predvsem na listavcih. Povzroča jo več gliv hkrati, zaradi česar pride do neenakomernega razkroja lesa (Polanc in Leban, 2004).

2.2.1.2.1 Glive bele trohnobe, ki smo jih uporabili v raziskavi

Ogljena kroglica (*Hypoxylon fragiforme*)

Ogljena kroglica je ena redkih vrst gliv, ki povzroča belo trohno in spada med zaprtotrošnice. Je zelo pogost primarni saprofit bukve in drugih listavcev (jelše, breze, gabra, topola, hrasta ali lipe). Na lesu povzroča piravost, obarvanje lesa v pasovih, ki so med seboj ločeni s temnimi črtami. Trosnjaki imajo obliko trdnih kroglic, premera (2-7) mm (Vesel-Tratnik, 1994) (slika 1). Gliva je zelo agresivni primarni kolonizator lesa, ki se zadrži v lesu tudi več let. V laboratorijskih pogojih v 16 tednih razkroji povprečno 40 %

mase bukovine. Zaradi nespecifičnih mehanizmov razgradnje lignina je gliva ogljena kroglica sposobna razkrajati tudi širok spekter organskih onesnažil, zato bi jo lahko uporabili tudi za čiščenje s pesticidi onesnaženih področij (bioremediacija). Prav tako se uporablja tudi v zdravilne namene. Mlada plodišča vsebujejo baktericidne in fungicidne učinkovine. Iz plodišč pa so izolirali tudi fragiformine, ki zavirajo napredovanje AIDS-a pri HIV pozitivnih bolnikih (Humar, 2009).



Slika 1: Mladi trosnjaki ogljene kroglice (Humar, 2009)

Bukov ostrigar (*Pleurotus ostreatus*)

Bukov ostrigar je gliva bele trohnobe in je tipičen saprofit, ki ga najdemo predvsem v lesu listavcev (najpogosteje na bukovini) zelo redko pa tudi na lesu listavcev. Na »okuženem« lesu najdemo bel, usnjat micelij. Trosišča so sestavljena iz klobuka z betom. Klobuk je sivorjave do rumenkasto rjave barve in je tudi zelo okusen, zato ga pogosto gojijo v prehrambene namene. Micelij bukovega ostrigarja pa se uporablja tudi za razstrupljanje zemlje, okužene z odpadnimi olji, pesticidi ali biocidi. Gliva se uporablja tudi v medicinske namene, saj deluje protivnetno, uravnava krvni tlak, znižuje raven sladkorja in holesterola v krvi, pospešuje celjenje ran ter izboljšuje delovanje imunskega sistema (Humar, 2008) (slika 2).



Slika 2: Plodišče bukovega ostrigarja (Humar, 2008)

Bukova kresilka oz. kresilna goba (*Fomes fomentarius*)

Ta lesna goba se pojavlja predvsem na starih bukvah, lahko pa jo najdemo tudi na številnih drugih listavcih (gaber, breza, javor, hrast, sadno drevje). Pojavlja se na stoječih poškodovanih drevesih (uspeva na mrtvem delu živega drevesa) in na posekanem drevju oz. hlodovih. Povzroča belo trohnobo, ob hkratni okužbi z več vrstami gliv povzroča neenakomerno belo trohnobo, imenovano piravost. Ime je goba dobila po uporabi. Arheološki dokazi pričajo o tem, da jo je že pračlovek uporabljal za netenje in vzdrževanje ognja. Našli so jo tudi pri Ötzi. Znana pa je tudi v zdravilstvu. Uporabljali naj bi jo za zaustavljanje krvavitev, razkuževanje (izžiganje) in celjenje ran (Pohleven, 2008). Dandanes jo le redki uporabljajo v zdravilske namene, kljub temu, da vsebuje snovi s protivirusnim delovanjem ter učinkovito preprečuje rast nekaterih vrst bakterij (Gregori, 2013) (slika 3).



Slika 3: Kresilka na bukvi v gozdu na Golovcu (Pohleven, 2008)

2.2.1.3 Glive rjave trohnobe

Glive rjave trohnobe pogostejše okužijo les iglavcev kot listavcev. Razgrajujejo celulozo in hemicelulozo, medtem ko ostane lignin skoraj nerazkrojen - od tod rjava barva (Schmidt, 2006; Polanc in Leban, 2004).

2.2.1.4 Glive plesni

Običajno začnejo uspevati na površini lesa zaradi slabega kroženja zraka. Vlažna površina vsebuje določene količine sladkorja in škroba, kar ugodno vpliva na razvoj in rast plesni (Polanc in Leban, 2004). Povzročajo raznobarvna površinska obarvanja lesa: sivo, črno, rjavo, zeleno, rumeno (Thomasson in sod., 2006).

2.2.1.5 Glive mehke trohnobe (soft rot)

Glive mehke trohnobe (soft rot) so posebna oblika rjave trohnobe. Običajno okužijo les, ki je nasičen z vodo. Povzročajo »mehčanje« lesa iz površine proti notranjosti (Thomasson in sod., 2006). Hranijo se predvsem s celulozo in hemicelulozo, redkeje z ligninom (Schmidt, 2006). Površina lesa se obarva temno in je sluzasta (mehka). Glive vplivajo na fizikalne in kemične lastnosti lesa in zmanjšajo dinamično trdnost. Zmanjšajo se tudi upogibna, natezna in tlačna trdnost.

2.2.2 Pogoji za rast gliv

Glive potrebujejo za ugoden razvoj naslednje pogoje:

- Optimalna lesna vlažnost za razvoj gliv znaša od 35 % do 60 %. Vlažnost, nižja od 20 %, povzroči odmiranje gliv. Tudi previsoka vlažnost preprečuje razvoj gliv.
- Relativna zračna vlažnost nad 85 % glivam že omogoča ugodne življenjske pogoje. Optimalna zračna vlažnost znaša okrog 90 %. Pomembna je za kalitev spor (infekcijo).
- Temperatura, ki je ugodna za rast in razvoj gliv, znaša od 20 °C do 35 °C. Večina gliv propade pri temperaturah nad 50 °C.
- Glive potrebujejo za dihanje (oksidacijo glukoze) in razkroj lignina kisik iz zraka. V lesu mora biti vsaj 15 % zraka glede na volumen por.
- Kisle vrednosti pH med 2 in 7 ugodno vplivajo na rast in razvoj gliv, bolj jim ustreza kislo kot alkalno okolje. Glive lahko tudi same vplivajo na pH s tvorbo različnih kislin (jabolčna, citronska, oksalna ...).
- Hrana: za večino lesnih gliv predstavlja glavno hrano celuloza. Poleg celuloze predstavljajo hrano glivam tudi lignin, hemiceluloza, aromatske in druge snovi.
- Glivam škoduje neposredna sončna svetloba oz. izpostavljenost UV žarkom. Glive najbolje uspevajo na mestih, kjer je prisotno malo svetlobe (Polanc in Leban, 2004). Difuzna svetloba vpliva stimulatивно na kalitev spor in tvorbo klobukov. Direktna svetloba deluje zaviralno na rast micelija in povzroči propad spor.

2.2.3 Posledice delovanja gliv

Glavne posledice razkroja lesa zaradi delovanja gliv so (Benko in sod., 1987):

- zaradi encimske razgradnje lesa pride do razkroja olesenele celične stene,
- masa lesa se manjša, les postaja lažji,
- trdota, trdnost in kalorična vrednost lesa se zmanjšujejo,
- barva in vonj lesa se spremenita.

2.3 LES

Gozdovi so najpomembnejši vir lesa kot surovine. Zaradi svoje zgradbe in široke uporabnosti, spada les med najvažnejše surovine oziroma gradbene materiale. Pohištvo iz lesa ali lesnih tvoriv predstavljata nepogrešljiv element našega bivalnega in delovnega okolja.

Preden se odločimo za uporabo lesa, je potrebno proučiti več kriterijev (Gorišek, 2009):

- mesto vgraditve (predvsem zaradi ustrezne trajnosti ali trdnosti lesne vrste),
- namembnost izdelka,
- tehnološke lastnosti lesne vrste (odpornost proti obrabi, trdota, trdnost, obdelavnost),

- fizikalne lastnosti (dimenzijska stabilnost, toplotna in zvočna izolativnost, elektrostatičnost),
- estetske lastnosti (dekorativnost, barva, tekstura).

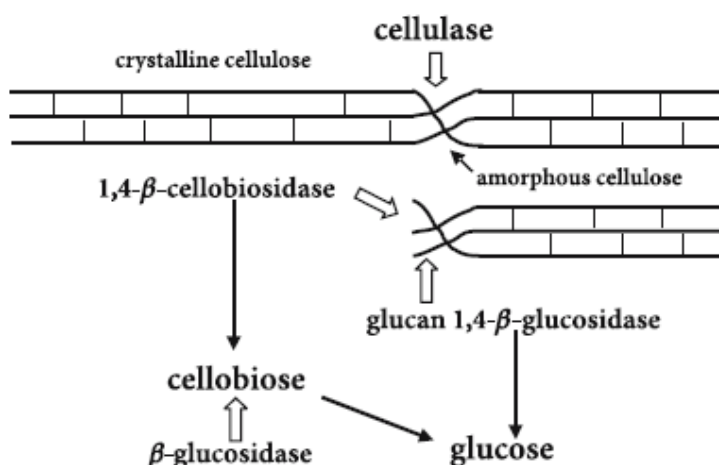
2.3.1 Zgradba lesa

Les vsebuje:

- ~ (40-50) % celuloze,
- ~ (25-35) % polioze/hemiceluloze (galaktini, pektini, manani,...),
- ~ (20-30) % lignina,
- ~ ekstraktivne snovi v odstotkih ne predstavljajo velikega deleža, so pa v marsikaterem pogledu zelo pomembne (tanini, smole, fenoli,...) (Polanc in Leban, 2004).

2.3.1.1 Celuloza

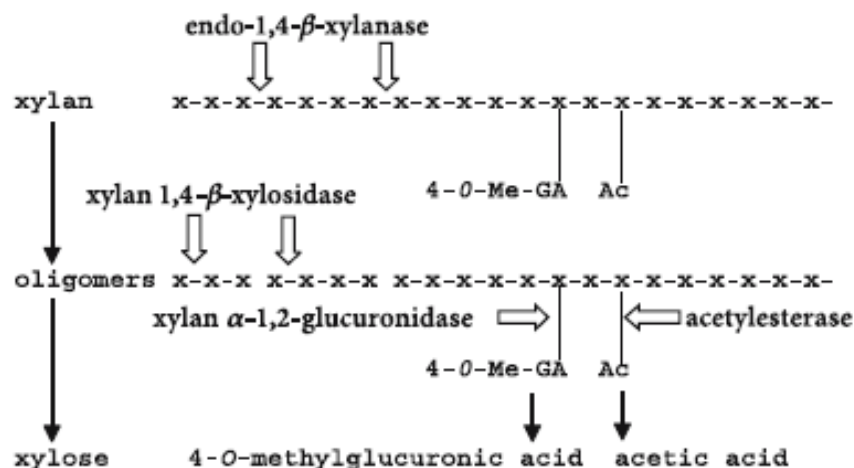
Celuloza je homopolisaharid iz β -D-glukopiranoznih enot, povezanih z (1-4) glikozidnimi vezmi. Sestoji iz zelo dolgih molekulskih verig. Njena kemijska formula je $(C_6H_{10}O_5)_n$ (n pomeni število monomernih enot) (slika 4).



Slika 4: Prikaz encimske razgradnje celuloze (Schmidt, 2006)

2.3.1.2 Hemiceluloza

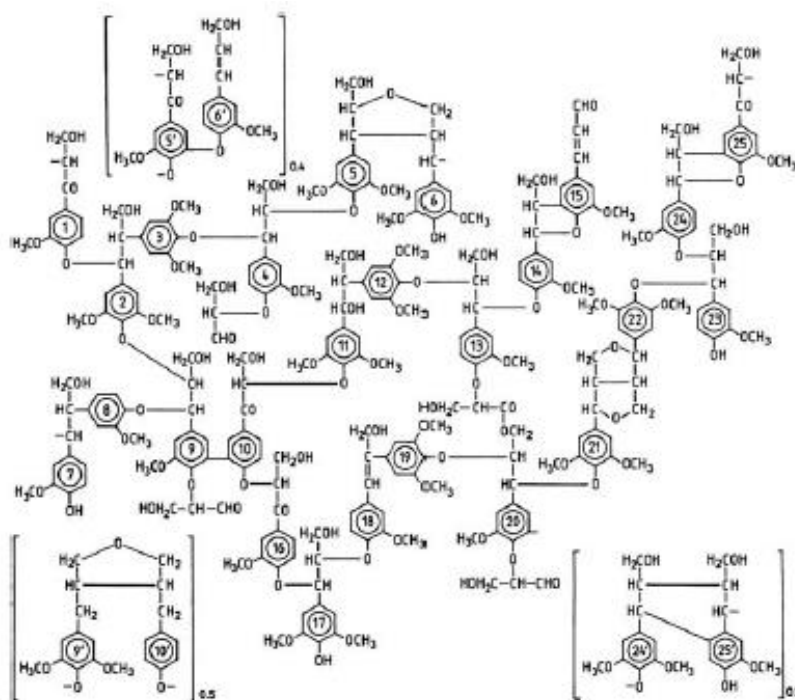
Hemiceluloze so razmeroma kratki in razvejani homo- in heteropolimeri. Sestavljajo jo različni sladkorji (D-glukoza, D-manoza, D-galaktoza, D-ksiloza, L-arabinoza in L-ramnoza) in uronska kislina. Monomeri so povezani z (1-3), (1-6) ali (1-4) glikozidnimi vezmi. V primerjavi s celulozo je bolj razvejan polimer (slika 5).



Slika 5: Prikaz encimske razgradnje hemiceluloze (Schmidt, 2006)

2.3.1.3 Lignin

Največja koncentracija lignina je v srednji lameli. Lignin je polimer aromatskega značaja, ki z ogljikovimi hidrati celične stene tvori olesenel del rastline. Ni kemična spojina v klasičnem smislu, ker nima enotne strukture niti določljive relativne molekularne mase. Na reaktivnost lignina najbolj vplivajo naslednje funkcionalne skupine: fenolne hidroksilne skupine, benzilne hidroksilne skupine in karbonilne skupine (slika 6).



Slika 6: Model ligninske makromolekule (Schmidt, 2006)

2.3.2 Encimski razkroj lesa

Hife gliv prodirajo v les skozi različne odprtine, piknje ter mehansko in z encimi razkrajajo osnovne komponente celične stene (hemiceluloza, celuloza, lignin) (preglednica 1). Razgradnja makromolekul (hemiceluloze, celuloze, lignina) poteka izven hif, saj so te molekule prevelike, da bi jih lahko hifa vsesala. Te molekule gliva razgradi z ekstracelularnimi encimi v manjše dele, ki jih lahko hifa vsrka in jih potem z intracelularnimi encimi razgradi do molekul, ki jih potrebuje za energijo/rast/itd. Da lahko ekstracelularni encimi pridejo do makromolekul, je zelo pomembna vlažnost lesa, saj ta predstavlja medij za prenos (Schmidt, 2006).

Preglednica 1: Razkroj komponent olesenele celične stene (Hill, 2006)

Razkroj komponent olesenele celične stene glede na organizme	hemiceluloza	celuloza	lignin	ekstraktivi	celovit razkroj olesenele celične stene
Bakterije	+	+	-	+	-
Plesni	-	-	-	+	-
Glive modrivke	-	-	-	+	-
Soft rot (glive mehke trohnobe)	+	+	-	+	+
Glive rjave trohnobe	+	+	-	- (+)	+
Glive bele trohnobe	+	+	+	+	+

2.3.3 Barva lesa

Barve so notranja doživetja, so psihična stvarnost, ki obstaja le v nas. V naravi ni rdeče, zelene, rumene ali modre barve, kot jih vidimo mi. So le svetlobni valovi z različnimi valovnimi dolžinami, ki se odbijajo od površin (Pečjak, 2006). Je občutek, ki ga v očesu povzroči elektromagnetno valovanje z valovnimi dolžinami vidne svetlobe (380 nm - 750 nm).

Barva lesa je odvisna od številnih dejavnikov, ki vplivajo na njeno vrsto in izrazitost, zato je različna ne le pri različnih drevesnih vrstah, ampak tudi pri isti vrsti in celo istem drevesu. S starostjo les postaja temnejši (na prostem posivi, v zaprtih prostorih pa postane rumeno rjav). Tudi rastišče in položaj v drevesu pomembno vplivata na barvo lesa. Določene barvne spremembe obravnavamo kot napake in pomenijo odstopanja od naravnega barvnega tona, značilnega za drevesno vrsto. Mnoge se pojavijo že med rastjo drevesa in na njih ne moremo bistveno vplivati (Čermak, 2012).

2.3.4 Drevesne vrste, uporabljene v raziskavi

2.3.4.1 Bukev

Les bukve (*Fagus sylvatica* L.) je rdečkasto-bel, normalno brez obarvane jedrovine (beljava in jedrovina se barvno ne ločita). Pri starejših drevesih se na prečnem prerezu navadno pojavlja nepravilno oblikovan, rdečerjav diskoloriran les, imenovan »rdeče srce«. Branike so razločne. Kasni les z manj trahejami je nekoliko temnejši od ranega (Čufar, 2006).

2.3.4.2 Javor

Les javorja (*Acer pseudoplatanus* L.) je lahko bel preko rumenkasto-bele do rahlo rdečkaste barve, kasneje porumeni. Jedrovina običajno ni obarvana, ali pa je med beljavo in jedrovino vidna le manjša razlika. Letnice so zaradi temnejšega pasu kasnega lesa ostro markirane (Čufar, 2006).

2.3.4.3 Smreka

Navadna smreka (*Picea abies* L.) je pri nas zelo razširjena, saj so jo z gozdarskimi ukrepi v zadnjih 200 letih iz njenih naravnih gorskih rastišč razširili tudi v nižje ležeče gozdove. Les smreke je rumeno-bel s svilnatim leskom. Beljava in jedrovina se barvito ne ločita. Branike so razločne, s svetlim ranim in kasnim lesom. Les vsebuje smolne kanale. Pogost je pojav večjih smolnih žepkov, ki predstavljajo napako v lesu (Čufar, 2006).

2.3.4.4 Bor

Barva sveže jedrovine pri rdečem boru (*Pinus sylvestris* L.) je rdečkasto-rumena, kasneje potemni do rjave oziroma do rdeče-rjave barve. Beljava je večinoma široka in je rumenkasto- do rdečkasto-bela. Branike so razločne s temnim kasnim lesom. Smolni kanali so številni in razločni (Čufar, 2006).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 PRIPRAVA VZORCEV

Za izvajanje poizkusa smo uporabili vzorce, izdelane iz lesa javorja, bukve, bora in smreke. Te lesne vrste smo izbrali, ker imajo svetel les, ki je dovzeten na glivni razkroj, saj ne vsebuje večjih koncentracij biološko aktivnih ekstraktivov, ki bi lahko zavirali rast gliv. Vzorci so bili dimenzije 6,5 cm × 2,5 cm × 0,5 cm. Orientacija vzorcev je bila med radialno in polradialno. Izogibali smo se tangencialno orientiranim vzorcem. Za vsako drevesno vrsto smo pripravili po 40 vzorcev, skupaj 160 vzorcev. Vzorce smo oštevilčili. Pred izpostavitvijo vzorcev glivam smo optično prebrali (»poskenirali«) površino vzorcev. Vzorce smo položili na površino za optično branje in jih pokrili s črno tkanino.

Pred izpostavitvijo glivam smo vzorce sušili 24 ur v laboratorijskem sušilniku (Kambič, (103±2) °C) do absolutno suhega stanja in jih nato stehali na elektronski tehtnici (Sartorius) na 0,0001 g natančno, ki je s pomočjo osebne računalnika avtomatično beležila meritve. Maso vzorcev pred izpostavitvijo smo potrebovali, da smo lahko po izpostavljenosti glivam določili izgubo mase z gravimetrično metodo. Suhe vzorce smo sterilizirali s paro 20 min pri tlaku 1,5 bar in temperaturi 121 °C.

3.2 SEZNAM GLIV, KI SMO JIH UPORABILI PRI DELU

Preglednica 2: Seznam gliv, ki smo jih uporabili pri raziskovalnem delu

GLIVA	LATINSKO IME	OZNAKA
Plesen	<i>Ceratocystis picea</i>	Ce pi 2
Plesen	<i>Cladosporium cladosporoides</i>	Karin
Plesen	<i>Sclerophoma pithyophila</i>	Sp
Plesen	<i>Fusarium solani</i>	Fus
Plesen	<i>Gliocladium viride</i>	Glu
Trohnoba (bela)	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Plo
Trohnoba (bela)	<i>Hypoxylon fragiforme</i>	Hf
Trohnoba (bela)	<i>Fomes fomentarius</i>	Ff

Za raziskave smo izbrali glive, za katere je znano, da brez večjih težav rastejo na površini lesa, ter izločajo pigmente (preglednica 2). Glive bele trohnobe so bile izbrane, saj le te intenzivneje obarvajo les, kot glive rjave trohnobe.

Glive, ki smo jih uporabili za test, so shranjeni v banki gliv Biotehniške fakultete, Oddelka za lesarstvo, Delovna skupina za patologijo in zaščito lesa. Iz banke smo glive precepili na predhodno pripravljen steriliziran hranljiv glukozni agar. Inokulacija je potekala v laminariju. Glive smo dva tedna inkubirali v rastni komori (T = 25 °C, RH = 75 %). Po 14 dneh smo glive zopet precepili.

3.3 PRIPRAVA HRANILNIH GOJIŠČ IN IZPOSTAVITEV LESNIH VZORCEV DELOVANJU GLIV

3.3.1 Priprava gojišča za plesni in izpostavitve vzorcev

Za plesni (*Cladosporium cladosporoides* (Karin), *Ceratocystis picea* (Ce pi2), *Fusarium solani* (Fus), *Gliocladium viride* (Glu), *Sclerophoma pithyophila* (Sp) smo pripravili tekočo gojišče. Za 1,5 litra tekočega gojišča smo potrebovali: 18,75 g citronske kisline, 180 ml (1 mol/l) NaOH, 585 ml (0,1 mol/l) HCl, 30 g koncentriranega sladnega ekstrakta (»malt«). Z destilirano vodo smo volumen dopolnili do 1,5 l in umerili na pH 4,2. V vsako erlenmajerico smo natočili po 150 ml (2 erlenmajerici za vsako plesen) in jih sterilizirali (45 minut, 121°C, 1,5 bar). Ko so se gojišča ohladila (naslednji dan) smo vanje nacepili plesni. To smo opravili v brezprašni komori (laminariju) in jih pustili rasti 10 dni na stresalniku pri sobni temperaturi. Tako smo dobili suspenzijo spor.

Čez 10 dni smo vsak vzorec pred izpostavitvijo pomočili v suspenzijo gliv. V vsako petrijevko smo položili sterilni filter papir, nalili 5 ml tekoče kulture gojišča in izpostavili vzorce lesa. Plesnim smo izpostavili 60 vzorcev lesa (5 plesni, 4 drevesne vrste, 3 ponovitve). Naredili smo tudi mešanico vseh petih plesni; od vsake tekoče kulture gojišča smo vzeli po 30 ml in jih zmešali skupaj. Mešanici plesni smo izpostavili 48 vzorcev lesa. Petrijevke smo postavili v rastno komoro ($T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$) in relativni zračni vlažnosti 85 %. Vzorce smo pustili izpostavljene glivam 6 tednov, razen 36 vzorcev, ki smo jih po 5 tednih iz petrijevk, kjer so bili izpostavljeni mešanici plesnim, prestavili v petrijevke, kjer so bili nato izpostavljeni glivam trohnikovkam. S tem smo želeli spodbuditi antagonistično delovanje gliv.

3.3.2 Priprava gojišča za glive trohnikovke in izpostavitve vzorcev

Glive trohnikovke (bukov ostrigar - *Pleurotus ostreatus* (Plo), ogljena kroglica - *Hypoxylon fragiforme* (Hf), bukova kresilna goba - *Fomes fomentarius* (Ff) smo iz banke inokulirali na krompirjev glukozni agar (PDA- potato dextrose agar; Difco). Gojišče smo pripravili po navodilih proizvajalca. V 1 liter destilirane vode smo raztopili 39 g gojišča v prahu. Segrevali smo do vretja, da se gojišče popolnoma raztopi. Hranilno gojišče smo sterilizirali 15 minut pri (121-124)°C. Končni pH gojišča je ($5,6 \pm 0,2$). Po končanem avtoklaviranju smo petrijevke, mrežice in vso potrebno opremo zložili v brezprašno komoro (laminarij) in počakali 24 ur, da se je hranilni medij ohladil in strdil. Naslednji dan smo v petrijevke nacepili glive trohnikovke iz banke in jih pustili rasti 10 dni v rastni komori pri 25 °C in relativni zračni vlažnosti 85 %. Po 10 dneh smo glive ponovno precepili, inokulum ($r = 5\text{ mm}$) izbrane glive trohnikovke smo prestavili na sredino hranilnega gojišča. Postopek je potekal v brezprašni komori. Ves pribor smo sproti razkuževali z alkoholom in plamenom. Petrijevke smo ponovno zaprli za 7 dni in jih postavili nazaj v rastno komoro. Po 7 dneh smo v brezprašni komori v petrijevke namestili mrežice in izpostavili lesne vzorce. 36

lesnih vzorcev smo izpostavili delovanju gliv trohnikov za 8 tednov. 36 lesnih vzorcev pa smo po 5 tednih iz petrijevok, kjer so bile izpostavljene delovanju mešanici plesni, prestavili na glive trohnikovke in jih tam pustili še 5 tednov.

3.4 PO IZPOSTAVITVI

3.4.1 Gravimetrično določanje izgube mase

Pred začetkom poskusa smo stehali vseh 160 absolutno suhih vzorcev lesa. Vzorce, izpostavljene delovanju gliv, smo po izpostavitvi odstranili iz petrijevok, jih obrisali in za 24 ur ponovno postavili v laboratorijski sušilnik (Kambič, (103 ± 2) °C) in jih stehali z elektronsko tehtnico (Sartorius).

Razliko v masi smo določili po enačbi:

$$\Delta m = \frac{m_0 - m_1}{m_1} \cdot 100\% \quad \dots (1)$$

Pri čemer je:

Δm ... sprememba mase [%]

m_0 ... masa absolutno suhega vzorca pred izpostavitvijo delovanju gliv [g]

m_1 ... masa absolutno suhega vzorca po izpostavitvi delovanju glive [g]

3.4.2 Določevanje barvnih sprememb, ki so jih povzročile glive (vizualno in numerično)

Po izpostavitvi delovanju glivam smo lesne vzorce ponovno položili na optični bralnik, jih pokrili s temno tkanino in jih preslikali. Slike vzorcev, ki smo jih dobili, smo primerjali pred izpostavitvijo in po izpostavitvi glivam. Za numerično ovrednotenje barvnih sprememb smo uporabili CIE $L^*a^*b^*$ sistem.

Potrebno je omeniti, da je optični bralnik namenjen drugačni uporabi in da njegove tehnične lastnosti niso prilagojene natančnemu merjenju barve. Za merjenje barve bi bilo bolje uporabiti spektrofotometer (kolorimeter), ki je namenjen prav temu (Noč, 2006). Čeprav bi s kolorimetrom lahko dobili točnejše rezultate, pa bi bila zajeta površina vzorcev veliko manjša. Z optičnim bralnikom smo namreč lahko zajeli celotno površino vzorca.

3.4.2.1 CIE $L^*a^*b^*$

Leta 1931 so v mednarodni organizaciji CIE (Commission Internationale de l'Eclairage) za potrebe standardizacije postavili mejnike v numeričnem vrednotenju barv. V diplomski nalogi smo za numerično določanje barve lesa uporabili sistem CIE $L^*a^*b^*$, ki je bil leta

1976 definiran kot sistem z enakimi prostorskimi razmiki. V tem sistemu je vsaka barva določena s tremi standardnimi barvnimi vrednostmi X, Y, Z (Javoršek, 2012). To so numerične vrednosti, ki se nanašajo na delež primarnih barvnih dražljajev v barvnem učinku. X pove, koliko je rdečih, Y koliko je zelenih, Z pa pove, koliko je modrih. Y je triobmočna komponenta, ki se nanaša tudi na svetlost barve. Standardizirane barvne vrednosti X, Y, Z so osnova za kvantitativno vrednotenje barv, saj je s standardiziranimi barvnimi vrednostmi X, Y, Z vsaka barva matematično določena (Kumar, 2008).

Za celoten spekter vidne svetlobe skrbijo tri skupine fotoreceptorjev, ki tvorijo tribarvni sistem zaznavanja vidne svetlobe, RGB sistem (R-Red/rdeča, G-Green/zelena in B-Blue/modra). Določen je bil matematično s pomočjo aditivnega mešanja treh primarnih barv: R (rdeča - 700 nm), G (zelena - 546 nm) in B (modra - 435 nm). Barvne vrednosti L^* , a^* , b^* so s standardnimi barvnimi vrednostmi X, Y in Z v naslednji zvezi:

$$L^* = 116 \times \sqrt[3]{\frac{Y}{Y_n}} - 16 \quad \dots (2)$$

$$a^* = 500 \times \left(\sqrt[3]{\frac{X}{X_n}} - \sqrt[3]{\frac{Y}{Y_n}} \right) \quad \dots (3)$$

$$b^* = 200 \times \left(\sqrt[3]{\frac{Y}{Y_n}} - \sqrt[3]{\frac{Z}{Z_n}} \right) \quad \dots (4)$$

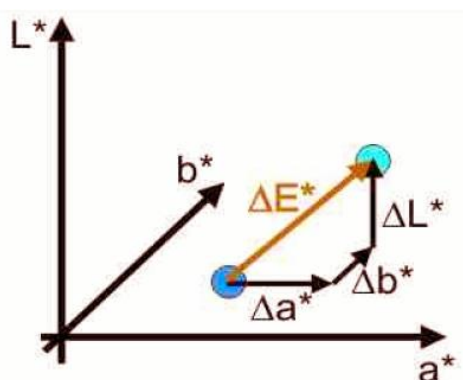
X_n , Y_n in Z_n so standardizirane vrednosti za BaSO_4 in imajo za standardizirano svetlobo D_{65} in zorni kot 10° naslednje vrednosti: $X_n=94,81$, $Y_n=100$ in $Z_n=107,30$.

Barvo določa kombinacija kartezijskega in cilindričnega koordinatnega sistema, kjer pomeni:

- L^* - svetlost barve in zavzema vrednosti od 0 (absolutno črno) do 100 (absolutno belo),
- a^* - določa lego barve na rdeče-zeleni osi ($+a^*$ rdeče, $-a^*$ zeleno),
- b^* - določa lego barve na rumeno-modri osi ($+b^*$ rumeno, $-b^*$ modro).

Barvne razlike med dvema barvama se v CIE $L^*a^*b^*$ sistemu določijo na osnovi razlik koordinat v vseh treh smereh barvnega prostora. ΔE^* je vrednost, ki nam pove, kolikšna je razlika med barvo vzorca in barvo standarda (slika 7).

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad \dots (5)$$

Slika 7: Grafični prikaz razlik ΔE^* , ΔL^* , Δa^* in Δb^* (Scott, 1997)

ΔL^* , Δa^* in Δb^* nam povedo za koliko se razlikujejo vrednosti L^* , a^* in b^* med standardom (vzorci lesnih vrst pred izpostavitvijo glivam) in vzorcem (po izpostavitvi glivam) (slika 8) (preglednica 3).

$$\Delta L^* = \Delta L^*_{vzorec} - \Delta L^*_{standarda} \quad \dots (6)$$

+ ΔL^* pomeni, da je vzorec svetlejši od standarda

- ΔL^* pomeni, da je vzorec temnejši od standarda

$$\Delta a^* = \Delta a^*_{vzorec} - \Delta a^*_{standarda} \quad \dots (7)$$

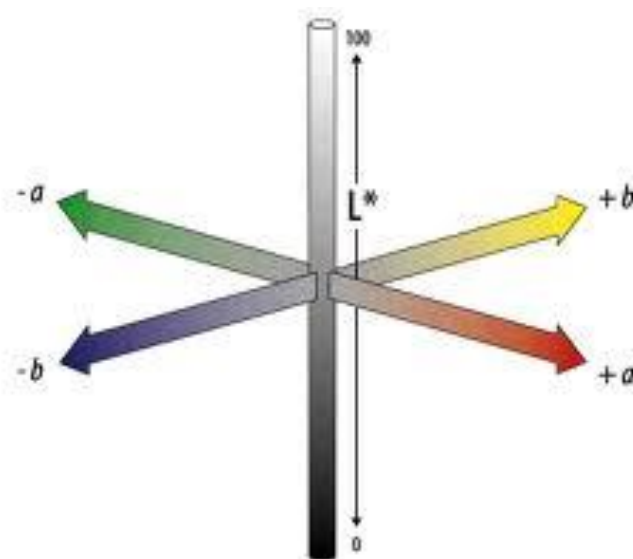
+ Δa^* pomeni, da je vzorec bolj rdečkast kot standard

- Δa^* pomeni, da je vzorec bolj zelenkast kot standard

$$\Delta b^* = \Delta b^*_{vzorec} - \Delta b^*_{standarda} \quad \dots (8)$$

+ Δb^* pomeni, da je vzorec bolj rumenkast kot standard

- Δb^* pomeni, da je vzorec bolj modrikast kot standard (HunterLab, 2008).

Slika 8: Barvni prostor CIE $L^*a^*b^*$ (Molek in Golob, 2010)Preglednica 3: Pomen vrednosti ΔE^*_{ab} glede na barvne razlike (Kumar, 2008)

ΔE^*	Zaznavanje barvne razlike
$< 0,2$	Barvna razlika ni vidna
$< 0,5$	Preciznost instrumentov, zanemarljiva razlika
$0,2-1,0$	Barvna razlika je opazna, zelo majhna razlika
$1,0-3,0$	Barvna razlika je vidna, majhna razlika
$3,0-6,0$	Barvna razlika je dobro vidna, očitna razlika
$6,0-12,0$	Barvna razlika je zelo dobro vidna, izjemno velika razlika
> 12	Barvna razlika je moteča, nedopustna razlika

3.4.3 Določanje kemičnih sprememb, ki so nastale v lesu zaradi delovanja gliv

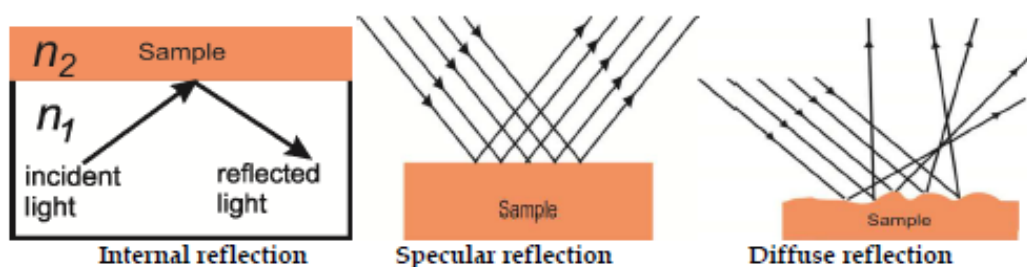
Po izpostavitvi vzorcev delovanju gliv smo z brusnim papirčkom, okrogle oblike premera 10 mm, trikrat previdno in enakomerno potegnili po površini vzorca. Pri tem smo pazili, da površine papirčka nismo kontaminirali z nečistočami. Brusni papirček smo položili na plastični vložek, s katerim smo ga vstavili v FTIR spektrometer.

3.4.3.1 FTIR (Fourier Transform Infra Red) spektroskopija

FTIR je infrardeča spektroskopija, pri kateri vzorec izpostavimo svetlobi z valovnim številom med 400 cm^{-1} in 4000 cm^{-1} (v srednjem IR območju) ter merimo prepustnost oziroma količino absorbirane svetlobe v odvisnosti od valovnega števila. Svetloba pri točno določeni valovni dolžini interagira z določenimi kemijskimi vezmi in se absorbira. Kemijske vezi zaradi tega zanihajo (vibrirajo, se raztegnejo, itd.). Na ta način dobimo informacijo o prisotnosti določenih funkcionalnih skupin v molekuli (Introduction to

Fourier Transform Infrared Spectrometry, 2001). Tako lahko z nihanjsko spektroskopijo FTIR opazujemo spremembe v lesu, ki nastanejo zaradi delovanja gliv.

V našem primeru smo spektre posneli v DRIFT (Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy) tehniki (slika 9). DRIFT ni transmissijska tehnika, ampak je refleksijska tehnika, zato se na y osi spektra označi refleksija oziroma reflektanca (odboj svetlobe od vzorca). DRIFT oziroma brusna tehnika nam omogoča, da pridobimo vzorce tudi iz trdnih snovi, ki imajo hrapavo površino (papir, oblačila, spomeniki, itd.). Vzorce lahko analiziramo v obliki prahu (običajno se doda material KBr ali KCl) ali pa uporabimo brusni papir za zbiranje delcev iz vzorca, običajno je to silicijev karbid.



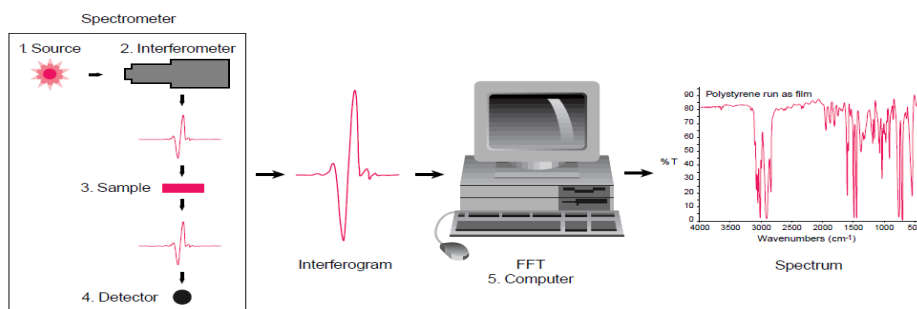
Slika 9: Grafični prikaz odbitja svetlobe pri difuzivni refleksiji (Khoshhesab, 2012)

Prednost tehnike DRIFT (Smith, 2011) je v tem, da je hitra, enostavna in jo lahko uporabimo za vzorčenje velikih težkih snovi. Slabost pa je v tem, da je šum (razmerje med ozadjem in signalom) pri teh spektrih pogosto precej velik. Problem je v tem, da je IR žarek razpršen, saj se odbija v mnoge smeri. IR žarek se odbija od delčkov vzorca v različne smeri in tako zmanjša intenziteto signala, ki ga merimo in povzroča neželene motnje. Zaradi tega je potrebno pri tej tehniki pogosto narediti več meritev, da dobimo uporaben spekter (Khoshhesab, 2012).

Proces analize v FTIR spektrometru:

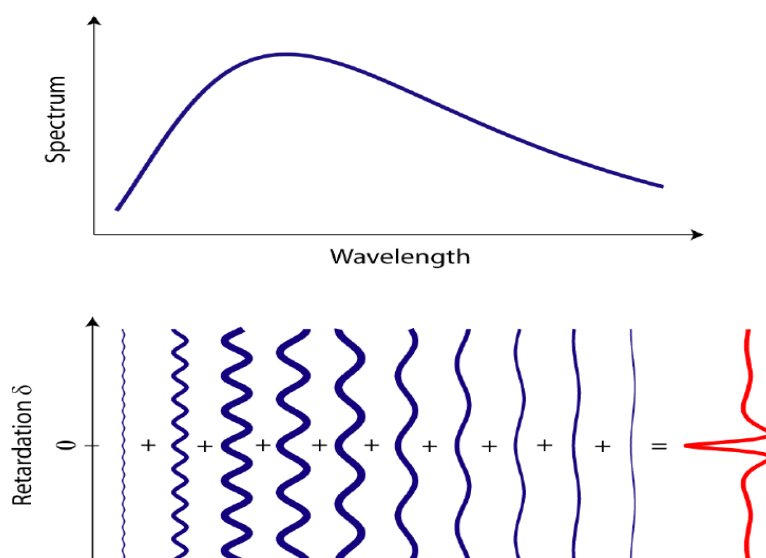
1. Vir: infrardeča energija se oddaja skozi vir sevanja. Ta žarek gre skozi odprtino, ki nadzira količino energije, ki potuje do vzorca (in končno do detektorja).
2. Interferometer: žarek vstopi v interferometer, kjer poteka "spektralno kodiranje". Iz interferometra izstopi interferogram signalov.
3. Vzorec: žarek vstopi v prostor vzorca, kjer ga vzorec prepusti ali pa se odbije od površine vzorca, odvisno od vrste analize. Tu se absorbira specifična frekvenca energije, ki je edinstvena značilnost vzorca.
4. Detektor: žarek na koncu preide v detektor na končno meritev.
5. Računalnik: izmerjeni signal se digitalizira in pošlje v računalnik, kjer poteka Fourierova transformacija. Končni infrardeči spekter je nato predstavljen uporabniku za

tolmačenje in nadaljnjo uporabo (Introduction to Fourier Transform Infrared Spectrometry, 2001) (slika 10).



Slika 10: Proces analize v FTIR spektrometru (Introduction ..., 2001)

Vsaka spektralna komponenta vira svetlobe lahko ustvarja interferogram z značilno obliko in katerega amplituda je izražena z relativno spektralno intenzivnostjo. Interferogram, ki ga zabeleži detektor, je preprosto seštevek vseh teh različnih interferogramov (Basics: fourier transform spectrometry) (slika 11).



Slika 11: Shematski prikaz nastajanja interferograma širokega spektra (Basics ..., 2012)

Preglednica 4: Trakovi v nihajnih (FTIR) spektrih lesa

Valovno število [cm ⁻¹]	Prisoja	Vir
680	Upogibno nihanje skupine COH pri celulozi	3
775	Nihanja v galaktanu pri hemicelulozi	4
809	Nihanja v mananu pri hemicelulozi	2
810	Upogibno nihanje v 1,3,4 substituiranih benzenovih obročih lignina	2, 7
870	Upogibno nihanje v 1,3,4 substituiranih benzenovih obročih lignina	2, 7
895	Nihanja skupin na atomih C1 v celulozi in hemicelulozi	2, 3, 5
1050	Valenčno nihanje C-O pri celulozi in hemicelulozi	2, 3, 5
1110	Trak skupin O-H pri celulozi in hemicelulozi	2, 5
1160	asimetrično nihanje C-O-C pri celulozi in hemicelulozi	2, 5
1230	Nihanje v siringilnih enotah lignina ali nihanje C=O skupin ksilana	5, 6, 7
1263	valenčno nihanje C-O pri ligninu in hemicelulozi	4, 7
1275	Nihanje v gvajacilnih enotah lignina	6
1315	Kolebno nihanje skupin CH ₂ pri celulozi	2
1325	Kolebno nihanje skupin CH ₂ pri celulozi	3, 5
1330	deformacijsko nihanje OH pri celulozi in hemicelulozi	2
1370	upogibno nihanje CH ₂ pri celulozi in hemicelulozi	2, 3, 5, 7
1425	strižno nihanje CH ₂ pri celulozi, nihanje C=C pri aromatskih skupinah lignina	2, 3, 4, 5, 7
1453	Valenčno nihanje aromatskega obroča in nihanja CH ₂ pri celulozi	2, 7
1460	Deformacijsko nihanje CH ₃ pri ligninu in upogibno nihanje CH ₂ pri ksilanu	2, 3, 5, 7
1505	Valenčno nihanje aromatskega obroča pri ligninu	1, 2, 3, 5, 7
1600	Valenčno nihanje aromatskega obroča pri ligninu	1, 2, 3, 5, 7
1643	Deformacijsko nihanje H-O-H v absorbirani vodi	2
1660	Nihanje keto-karbonilne skupine, konjugirane z benzenovim obročem	1, 7
1730	Valenčno nihanje C=O pri ksilanu	3, 5, 7
2900	Valenčno nihanje C-H	2, 3, 5, 7
3300	Valenčno nihanje skupin O-H	2, 3, 5, 7

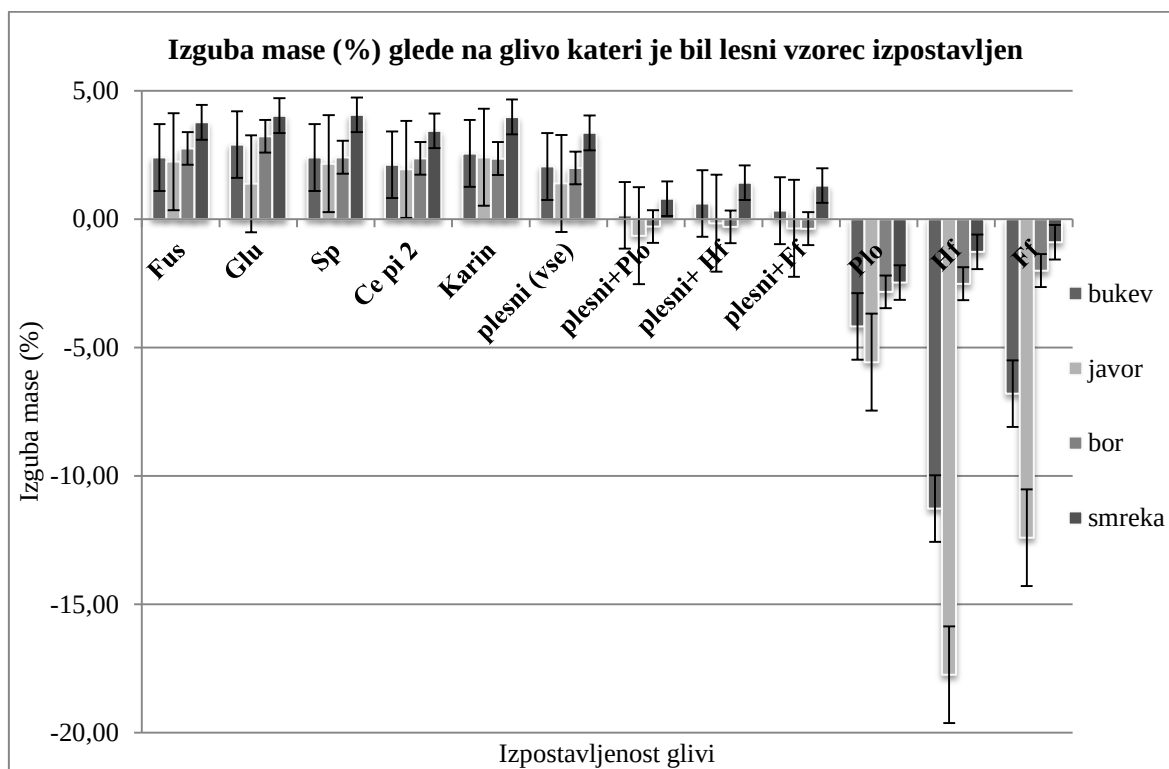
* Viri podatkov: 1- (Harrington in sod., 1964), 2- (Michell, 1989), 3- (Bolker in Somerville, 1963), 4- (Liang in sod., 1960), 5- (Michell in sod., 1965), 6- (Sarkanen in sod., 1967), 7- (Bykov, 2008)

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1 IZGUBA MASE

Preglednica 5: Izguba mase (%) lesnih vzorcev po izpostavitvi glivam. V oklepajih so podani standardni odkloni

Glive		Čas izpostavljenosti lesa glivam (tedni)	Izguba mase (%)			
			bukev	javor	bor	smreka
Plesni	Fus	6	2,40 (±0,02)	2,24 (±0,08)	2,75 (±0,02)	3,77 (±0,10)
	Glu	6	2,90 (±0,10)	1,38 (±0,02)	3,23 (±0,04)	4,03 (±0,02)
	Sp	6	2,40 (±0,01)	2,16 (±0,04)	2,41 (±0,01)	4,06 (±0,05)
	Ce pi 2	6	2,12 (±0,12)	1,94 (±0,00)	2,37 (±0,01)	3,44 (±0,03)
	Karin	6	2,56 (±0,00)	2,41 (±0,01)	2,36 (±0,09)	3,98 (±0,15)
	plesni (vse)	6	2,05 (±0,02)	1,39 (±0,01)	1,99 (±0,04)	3,36 (±0,43)
Plesni in trohnivke	plesni+Plo	5+5	0,15 (±0,07)	-0,64 (±0,78)	-0,29 (±0,01)	0,80 (±0,61)
	plesni+ Hf	5+5	0,61 (±0,06)	-0,16 (±0,07)	-0,30 (±0,21)	1,42 (±0,07)
	plesni+Ff	5+5	0,33 (±0,10)	-0,36 (±0,14)	-0,37 (±0,12)	1,31 (±0,30)
Trohnivke	Plo	8	-4,18 (±6,61)	-5,57 (±2,18)	-2,83 (±1,00)	-2,47 (±0,21)
	Hf	8	-11,27 (±20,22)	-17,74 (±27,69)	-2,51 (±0,18)	-1,27 (±0,15)
	Ff	8	-6,80 (±12,34)	-12,40 (±5,60)	-2,00 (±0,10)	-0,90 (±0,01)



Slika 12: Grafični prikaz izgube mase v % glede na glivo, kateri so bili izpostavljeni lesni vzorci

Na lesnih vzorcih, ki so bili izpostavljeni glivam plesnim in modrivkam, nismo zaznali izgube mase, pravzaprav smo dobili pri izračunu izgube mase pozitivne rezultate. To bi lahko pripisali prirastku gliv, saj je bila raziskava opravljena z majhnimi vzorci in zelo natančno tehniko. Dodatno maso, ki smo jo zaznali, bi pripisali prirastku hif. Poleg tega je k pribitku prispevalo še dejstvo, da so vzorci med izpostavitvijo vpili del sladnega medija, v katerega smo jih namočili. Do podobnih rezultatov je prišel tudi Vek s sodelavci (2009). Med vsemi vzorci, ki so bili izpostavljeni plesnim in modrivkam, se je masa najbolj povečala na vzorcih smrekovine, tako da bi lahko sklepali, da so glive plesni (modrivke) najbolj uspevale na teh vzorcih. Po drugi strani pa so bili vsi vzorci namočeni v primerljivo količino sladnega medija. Ker je bila gostota, ter tudi masa smrekovih vzorcev najnižja, se je pribitek mase najbolj izrazil pri smrekovem lesu (preglednica 5).

Na vzorcih, ki so bili prvo izpostavljeni glivam plesnim (modrivkam) za 5 tednov in kasneje za 5 tednov še glivam bele trohnobe, nismo zaznali izrazite izgube mase (preglednica 5). Glive bele trohnobe so »izničile« povečanje mase, ki je bila posledica rasti gliv plesni, po drugi strani pa je predhodna kolonizacija substrata z glivami plesnimi povsem preprečila delovanje gliv razkrojevalk. Ta rezultat kaže na močno antagonistično delovanje gliv plesni. Opozoriti pa velja na dejstvo, da vzorci, ki so jih prerasle plesni pred izpostavitvijo razkrojevalkam niso bili sterilizirani, zato je prišlo do aktivne interakcije

med različnimi glivami. Ravno to pa navadno vodi do pojava intenzivnejših obarvanj (Schmidt, 2006).

Pri vzorcih, ki so bili izpostavljeni samo glivam bele trohnobe za 8 tednov, smo zaznali močno zmanjšanje mase. Najbolj se je masa zmanjša pri vzorcih listavcev, pri iglavcih pa veliko manj. To je razumljivo, saj se glive bele trohnobe v naravi navadno pogosteje pojavljajo na lesu listavcev. Iglavci so že po naravi manj dovzetni za okužbo z glivami bele trohnobe (Schmidt, 2006). Največjo izgubo mase je povzročila gliva ogljena kroglica (Hf) na vzorcih iz lesu javorja (17,74 %) in bukovine (11,27 %) (preglednica 4). Opazili smo, da sta glivi bele trohnobe ogljena kroglica (Hf) in bukova kresilna goba (Ff) na vzorcih iz lesu bukve povzročili večjo izgubo mase, kot bukov ostrigar (Plo). Na vzorcih iglavcev je največjo izgubo mase povzročil bukov ostrigar (Plo) (Slika 12).

4.2 VIZUALNO PRIMERJANJE VZORCEV

Primeri optično prebranih (skeniranih) vzorcev so priloženi v Prilogi A.

Obarvanje lesnih vzorcev je posledica interakcij med lesom in glivo oziroma glivami. Vrsta lesa ima izrazit vpliv na pojav obarvanj. Zato v nadaljevanju opisujemo vizualno oceno obarvanja za vsako lesno vrsto posebej.

4.2.1 Vizualna ocena obarvanosti vzorcev bukovine

Pri vizualnem opazovanju sprememb s prostim očesom, lahko pri vzorcih, ki so bili izpostavljeni delovanju gliv *Ceratocystis picea* (Ce pi2), *Cladosporium cladosporoides* (Karin), *Gliocladium viride* (Glu) in *Fusarium solani* (Fus) opazimo rahlo potemnitev lesa. Pri tem je gliva *Fusarium solani* (Fus) povzročila tudi malce rumenkastega obarvanja, ki je zaznaven že s prostim očesom. Med glivami plesnimi je najmočnejše obarvanje povzročila gliva modrivka *Sclerophoma pithyophila* (Sp). Ta je obarvala lesne vzorce tudi če je bila v interakciji z drugimi plesnimi, tako da so tudi vzorci, ki so bili izpostavljeni vsem 5 plesnim, obarvani zelo močno. Lesni vzorci bukve, ki so bili izpostavljeni glivam trohnikovkam (bukov ostrigar (Plo), ogljena kroglica (Hf), bukova kresilna goba (Ff)) so s prostim očesom postali bolj rumenkasti. Vzorci, izpostavljeni 5 plesnim in kasneje še glivam trohnikovkam so vsi zelo temni. Mogoče bi s prostim očesom lahko zaznali, kot da sta vzorca, ki sta bila izpostavljena 5 plesnim in trohnikovki bukovega ostrigarja (Plo) in ogljene kroglice (Hf) malce bolj rumenkasta, kot vzorec, izpostavljen 5 plesnim in trohnikovki bukove kresilne gobe (Ff) (Priloga A).

4.2.2 Vizualna ocena obarvanosti vzorcev javorjevine

Les javorja ima izrazito svetlo barvo, zato pričakujemo, da se bodo na njem barvne spremembe jasno izrazile. Pri vzorcih javorjevine smo opazili zanimiv pojav, saj so se na vzorcu, ki je bil izpostavljen plesni *Cladosporium cladosporoides* (Karin), pojavile pikice.

Vsaka pikica predstavlja sporo, iz katere se razvija gliva. Najtemnejši so bili vzorci, izpostavljeni glivi modrivki *Sclerophoma pithyophila* (Sp). Temnejši je tudi vzorec, izpostavljen vsem 5 plesnim, ampak je približno za polovico svetlejši kot vzorec, izpostavljen samo *Sclerophoma pithyophila* (Sp). Pri vzorcih, izpostavljenih *Ceratocystis picea* (Ce pi2) in *Gliocladium viride* (Glu) lahko zaznamo rahlo porumenitev, podobno, kot smo opisali pri lesu javorja. Pri vzorcu, izpostavljenem plesni *Fusarium solani* (Fus), je rumena barva še bolj izrazita. Na vzorcih, ki so bili izpostavljeni glivam trohnikovkam (bukov ostrigar (Plo), ogljena kroglica (Hf), bukova kresilna goba (Ff)), lahko zaznamo porumenitev. Vzorci, ki so bili izpostavljeni 5 plesnim in glivam trohnikovkam so vsi temni, ampak bi lahko rekli, da se s prostim očesom da zaznati malce rumene barve. Opaziti je, da je med glivami najbolj prevladala gliva modrivka *Sclerophoma pithyophila* (Sp) (Priloga A).

4.2.3 Vizualna ocena obarvanosti vzorcev borovine

Beljava borovine sodi med najbolj občutljive lesne vrste. Na beljavi borovine se v naravi prve glive pojavijo že v nekaj tednih. Na vzorcih borovine, ki so bili izpostavljeni plesnim *Ceratocystis picea* (Ce pi 2), *Cladosporium cladosporoides* (Karin), *Fusarium solani* (Fus) in *Gliocladium viride* (Glu) lahko s prostim očesom opazimo, da so malce porumeneli. Vzorec, izpostavljen glivi modrivki *Sclerophoma pithyophila* (Sp), je obarvan zelo temno, prav tako tudi vzorec, ki je bil izpostavljen vsem 5 plesnim. To nakazuje na visoko dovzetnost te lesne vrste na glive modrivke in plesni. Vzorci, ki so bili izpostavljeni glivam trohnikovkam so malce porumeneli. Zelo temna obarvanja smo opazili tudi na vzorcih, ki so bili izpostavljeni 5 plesnim in kasneje še glivam trohnikovkam. Opazili smo, da se vzorci v notranjosti niso obarvali tako močno, tega sicer ne vemo, ampak mogoče bi na teh vzorcih v daljšem časovnem obdobju dobili tudi primerek piravosti (Priloga A).

4.2.4 Vizualna ocena obarvanosti vzorcev smrekovine

Smrekovina sodi med najpomembnejše lesne vrste v Srednji Evropi. Prav tako kakor pri javorjevini, smo tudi pri smrekovini naleteli na podoben pojav, saj so se tudi vzorci smrekovine, izpostavljeni plesni *Cladosporium cladosporoides* (Karin) obarvali pikčasto. Pri vzorcih, izpostavljenih *Ceratocystis picea* (Ce pi 2) in *Gliocladium viride* (Glu), s prostim očesom ni mogoče zaznati sprememb. Vzorci, izpostavljeni *Fusarium solani* (Fus) so malce porumeneli. Modrivka *Sclerophoma pithyophila* (Sp) je povzročila močno obarvanje, mogoče malce manj temno so obarvani vzorci, ki so bili izpostavljeni 5 plesnim. Vzorci, izpostavljeni trohnikovkam so porumeneli, mogoče najmočnejše vzorec, ki je bil izpostavljen trohnikovki bukovega ostrigarja (Plo). Temna obarvanja smo dobili tudi na vzorcih, ki so bili izpostavljeni 5 plesnim in kasneje še glivam trohnikovkam. Tako glive razkrojevalke s svojimi oksidativnimi sistemi v tako kratkem času niso uspele posvetliti melanina, ki ga izločajo glive modrivke in plesni (Priloga A).

4.3 DOLOČANJE BARVNIH SPREMEMB V CIE L*A*B* SISTEMU

4.3.1 Barvne spremembe, določene v CIE L*a*b* sistemu, na vzorcih bukovine

Preglednica 6: Barvne spremembe ΔL^* , Δa^* , Δb^* in ΔE^* , določene v skladu s CIE L*a*b* sistemom na lesnih vzorcih buke po izpostavitvi lesnim glivam

	Lesna gliva	Barvna sprememba			
		ΔL^*	Δa^*	Δb^*	ΔE^*
Bukev	5 plesni	-64,6	-1,9	-3,8	64,8
	5 plesni+Plo	-63,8	2,8	-2,9	64,1
	5 plesni+Hf	-70,6	2,9	-4,8	70,9
	5 plesni+Ff	-75,4	-2,1	-9,8	76,1
	Fus	-16,1	1,7	1,7	16,3
	Glu	-9,6	0,9	0,3	9,7
	Sp	-66,0	-3,5	-6,0	66,4
	Ce pi 2	-10,5	0,9	0,2	10,5
	Karin	-10,3	0,4	0,5	10,4
	Plo	-14,1	2,8	9,5	17,4
	Hf	-9,6	2,5	8,8	13,4
	Ff	-16,1	2,3	5,2	17,2
	kontrola	0,0	0,0	0,0	0,1

Ovrednotenje barvnih sprememb v CIE L*a*b* sistemu je veliko bolj natančno kot ovrednotenje barvnih sprememb s prostim očesom. Na vzorcih bukovine lahko vidimo, da so vsi vzorci potemneli, saj je ΔL^* negativen pri vseh vzorcih, razen pri kontroli, ki ni bila izpostavljena delovanju gliv. Temno obarvanje je v največji meri posledica izločanja melanina. Pri vzorcih, ki so bili izpostavljeni 5 plesnim, 5 plesnim in glivi trohnikovki bukove kresilne gobe (Ff) ter vzorci, izpostavljeni modrivki *Sclerophoma pithyophila* (Sp) so spremenili barvo v zelenkaste odtenke, saj so vrednosti Δa^* pri teh vzorcih negativne. Pri ostalih vzorcih se je barva spremenila v rdečkaste odtenke. Pri vzorcih, izpostavljenim 5 plesnim, 5 plesnim in glivam trohnikovkam (bukov ostrigar (Plo), ogljena kroglica (Hf), bukova kresilna goba (Ff)) ter pri vzorcih, izpostavljenih plesni modrivki *Sclerophoma pithyophila* (Sp), se je barva spremenila v modrikasto. Modra barva je značilna za melanin, ki ga izločajo glive. Po tej značilnosti jih tudi imenujemo glive modrivke. Vzorci, izpostavljeni na glive trohnikovke (bukov ostrigar (Plo), ogljena kroglica (Hf), bukova kresilna goba (Ff)), pa so spremenili barvo na proti rumenim vrednostim v koordinatnem sistemu CIEL*a*b*, saj so vrednosti Δb^* zelo pozitivne. Največja barvna sprememba je bila zabeležena na vzorcih, ki so bili izpostavljeni 5 plesnim in glivi trohnikovki bukove kresilne gobe (Ff). Za bukovo kresilno gobo je značilno, da v stresnih pogojih relativno hitro tvori melanin in podobne glivne pigmente. Pri vseh vzorcih, razen pri kontroli, je vrednost ΔE^* tako velika, da smo spremembo barve lahko zaznali tudi s prostim očesom (preglednica 6), kar je že opisano v predhodnih podpoglavjih. Po drugi strani pa stabilna

barva kontrolnih vzorcev nakazuje, da s sterilizacijo in sušenjem nismo vplivali na barvo lesa.

4.3.2 Barvne spremembe, določene v CIE L*a*b* sistemu, na vzorcih javorjevine

Preglednica 7: Barvne spremembe ΔL^* , Δa^* , Δb^* in ΔE^* , določene v skladu s CIE L*a*b* sistemom, na lesnih vzorcih javorja po izpostavitvi lesnim glivam

	Lesna gliva	Barvna sprememba			
		ΔL^*	Δa^*	Δb^*	ΔE^*
Javor	5 plesni	-71,5	0,6	-0,4	71,5
	5 plesni+Plo	-72,5	7,7	3,8	73,1
	5 plesni+Hf	-67,3	7,7	5,7	68,0
	5 plesni+Ff	-77,8	2,7	-2,7	77,9
	Fus	-22,4	6,5	9,0	25,0
	Glu	-6,3	0,9	2,7	6,9
	Sp	-79,3	-1,0	-4,7	79,5
	Ce pi 2	-10,3	2,4	2,8	11,0
	Karin	-28,6	0,5	1,0	28,7
	Plo	-21,4	4,7	11,8	24,9
	Hf	-13,2	3,0	8,3	15,9
	Ff	-20,1	3,2	7,2	21,8
	kontrola	-0,1	0,0	0,0	0,1

Tudi na vseh vzorcih javorjevine smo zabeležili temno obarvanje, saj so vrednosti ΔL^* negativne pri vseh vzorcih. Spremembe v smeri zelenkastega obarvanja smo opazili samo na vzorcih, ki so bili izpostavljeni glivi modrivki *Sclerophoma pithyophila* (Sp), na vseh ostalih vzorcih se je barva na osi a^* spremenila proti rdečkasti, kar smo opazili že s prostim očesom. Barva vzorcev se je na osi b^* spremenila proti modrikastim odtenkom pri vzorcih, ki so bili izpostavljeni 5 plesnim, 5 plesnim in glivi trohnikovki bukove kresilne gobe (Ff) ter na vzorcih, izpostavljenim glivi modrivki *Sclerophoma pithyophila* (Sp). Pri ostalih vzorcih se je barva spremenila v smeri rumenkastih odtenkov, najbolj na vzorcih, ki so bili izpostavljeni delovanju glive trohnikovke bukovega ostrigarja (Plo), saj je pri tem zabeležena največja pozitivna vrednost Δb^* . Največja barvna sprememba ja bila zaznana pri vzorcih, ki so bili izpostavljeni delovanju glive modrivke *Sclerophoma pithyophila* (Sp). Prav tako so spremembe barve na vseh vzorcih tako velike, da jih lahko zaznamo tudi s prostim očesom (preglednica 7).

4.3.3 Barvne spremembe, določene v CIE L*a*b* sistemu, na vzorcih borovine

Preglednica 8: Barvne spremembe ΔL^* , Δa^* , Δb^* in ΔE^* , določene v skladu s CIE L*a*b* sistemom, na lesnih vzorcih bora po izpostavitvi lesnim glivam

	Lesna gliva	Barvna sprememba			
		ΔL^*	Δa^*	Δb^*	ΔE^*
Bor	5 plesni	-65,0	-1,4	-5,4	65,2
	5 plesni+Plo	-78,0	1,8	-10,1	78,7
	5 plesni+Hf	-79,2	0,5	-11,0	80,0
	5 plesni+Ff	-83,3	-3,2	-14,2	84,6
	Fus	-13,9	3,5	3,3	14,7
	Glu	-9,0	2,5	5,0	10,6
	Sp	-73,8	-2,3	-7,4	74,2
	Ce pi 2	-11,1	2,5	4,4	12,2
	Karin	-10,9	2,0	2,8	11,4
	Plo	-18,4	3,2	7,9	20,4
	Hf	-10,9	2,4	4,5	12,1
	Ff	-10,0	3,3	7,6	13,0
	kontrola	-0,1	0,1	0,3	0,4

Vsi vzorci beljave borovine izpostavljeni glivam so potemneli, saj so vse vrednosti ΔL^* negativne, podobno, kot pri drugih lesnih vrstah. Barva se je spremenila v smeri zelenih vrednosti na barvni koordinatni osi pri vzorcih, ki so bili izpostavljeni delovanju 5 plesnim, 5 plesnim in trohnikovki bukove kresilne gobe (Ff) ter glivi modrivki *Sclerophoma pithyophila* (Sp), saj je pri teh vrednost Δa^* negativna. Na ostalih vzorcih se je barva spremenila v rdečkasto. Proti modrikastim odtenkom na osi b^* se je barva spremenila pri vzorcih, ki so bili izpostavljeni 5 plesnim, 5 plesnim in glivam trohnikovkam (bukov ostrigar (Plo), ogljena kroglica (Hf), bukova kresilna goba (Ff)) ter pri plesni modrivki *Sclerophoma pithyophila* (Sp). Pri ostalih vzorcih se je barva po izpostavitvi glivam spremenila v smeri rumenih vrednosti na barvni koordinatni osi. Najmočnejše barvne spremembe smo zaznali na vzorcih, ki so bili izpostavljeni 5 plesnim in glivi trohnikovki bukove kresilne gobe (Ff) (preglednica 8).

4.3.4 Barvne spremembe, določene v CIE L*a*b* sistemu na vzorcih smrekovine

Tudi na vseh vzorcih smrekovine smo zabeležili temno obarvanje. Spremembo barve proti zelenim vrednostim smo zaznali samo pri vzorcih, ki so bili izpostavljeni delovanju gliv *Sclerophoma pithyophila* (Sp) in *Cladosporium cladosporoides* (Karin), pa še pri teh je bila sprememba barve v smeri zelene zelo rahla, saj so negativne vrednosti Δa^* zelo majhne. Vzorci, izpostavljeni glivam, so postali bolj rdečkasti kot standard. Obarvanje v modro smo zaznali pri vzorcih, izpostavljenim 5 plesnim in glivi trohnikovki bukove kresilne gobe (Ff) ter pri plesni *Sclerophoma pithyophila* (Sp) in *Cladosporium cladosporoides* (Karin),

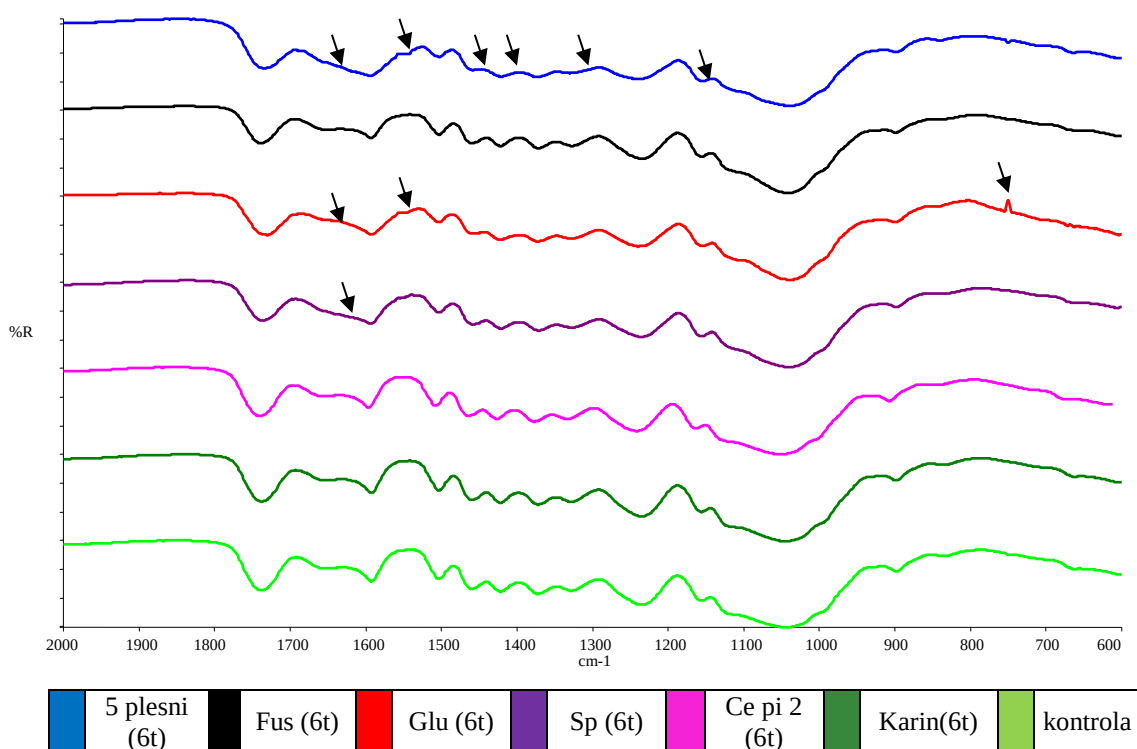
saj smo pri teh vzorcih zabeležili negativne vrednosti Δb^* . Ostali vzorci so se obarvali bolj rumenkasto kot kontrola. Najbolj rumenkasto spremembo smo zaznali na vzorcih, ki so bili izpostavljeni glivi trohnikovki bukovega ostrigarja (Plo). Največja barvna sprememba je bila zaznana na vzorcih smrekovine, ki so bili izpostavljeni 5 plesnim in glivi trohnikovki bukovega ostrigarja (Plo). Če primerjamo spremembo barve na vzorcih smrekovine z ostalimi lesnimi vzorci, lahko opazimo, da so bile barvne spremembe najmanjše na vzorcih smrekovine (preglednica 9).

Preglednica 9 : Barvne spremembe ΔL^* , Δa^* , Δb^* in ΔE^* , določene v skladu s CIE $L^*a^*b^*$ sistemom, na lesnih vzorcih smreke po izpostavitvi lesnim glivam

	Lesna gliva	Barvna sprememba			
		ΔL^*	Δa^*	Δb^*	ΔE^*
Smreka	5 plesni	-47,9	1,1	1,0	47,9
	5 plesni+Plo	-65,5	5,6	0,3	65,9
	5 plesni+Hf	-64,8	5,4	1,6	65,1
	5 plesni+Ff	-59,6	1,7	-0,6	59,8
	Fus	-10,5	3,2	2,7	11,4
	Glu	-5,2	1,1	3,3	6,4
	Sp	-53,8	-0,5	-0,9	53,8
	Ce pi 2	-4,9	0,8	2,6	5,7
	Karin	-30,5	-0,2	-0,8	30,5
	Plo	-19,1	5,0	9,1	21,8
	Hf	-13,2	3,2	5,5	14,7
	Ff	-4,6	1,8	5,2	7,2
	kontrola	0,0	0,0	0,0	0,0

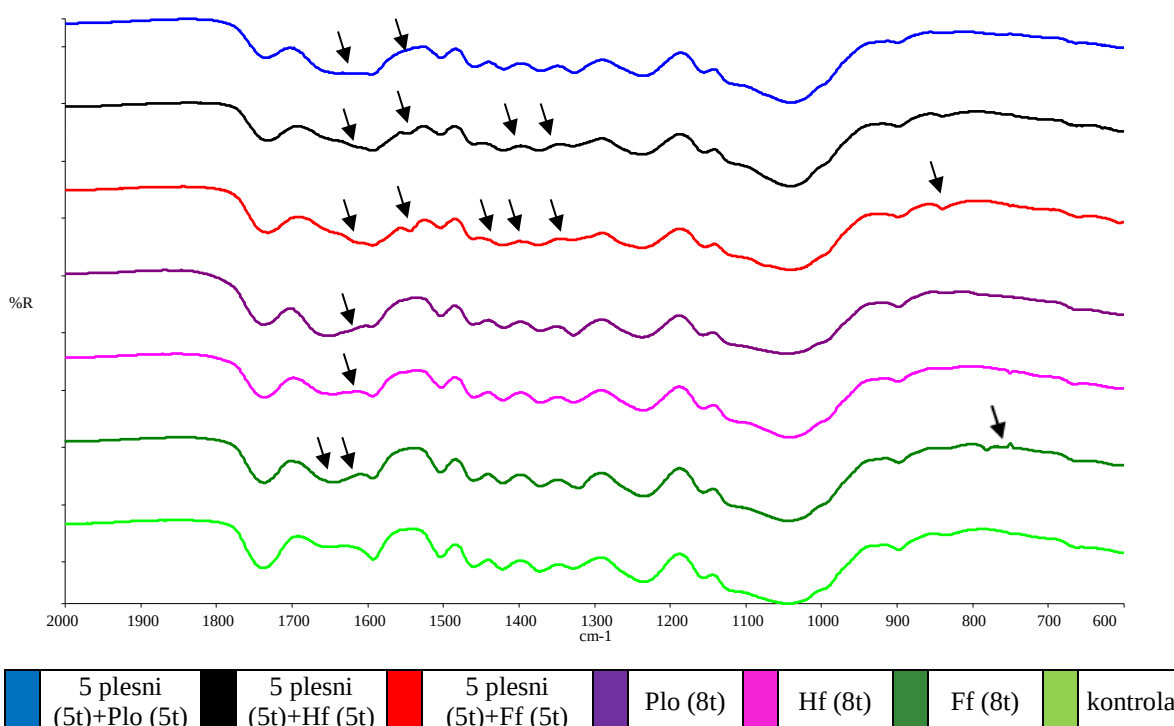
4.4 DOLOČANJE KEMIČNIH SPREMEMB, KI SO NASTALE V LESU ZARADI DELOVANJA GLIV (FTIR)

FTIR spektroskopija je zelo uporabna tehnika, ki na relativno enostaven način nakaže na kemijske spremembe v preiskovanem materialu. Seveda metoda ni absolutna, z dobro analizo spektrov pa lahko sklepamo na najpomembnejše spremembe. Zaradi kompleksne naravne sestave lesa in množice kemičnih reakcij med osnovnimi sestavinami lesa (lignin, hemiceluloza, celuloza ter ekstraktivne snovi), točna razlaga podatkov iz spektrov ni lahka. Infrardeči spekter lignina je prvič zabeležil in delno interpretiral Johnson leta 1948 (Bykov, 2008).



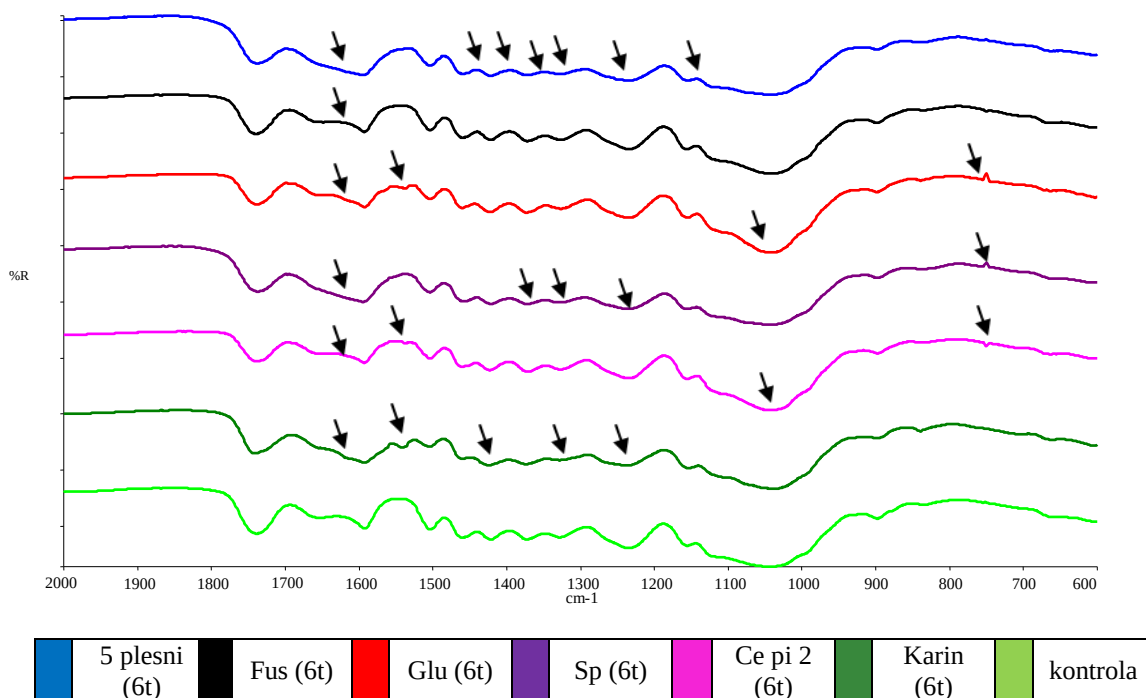
Slika 13: spektri FTIR: reflektanca v odvisnosti od valovne dolžine na lesu bukve, ki je bil izpostavljen glivam plesni

Na zgornji sliki (slika 13) lahko vidimo, da je največ sprememb nastalo na vzorcu lesa bukve, ki je bil izpostavljen vsem petim plesnim skupaj (modra barva). Vidimo, da je prva večja sprememba med kontrolo in vzorcem pri 1643 cm^{-1} , kar prisojamo deformacijskemu nihanju H-O-H v absorbirani vodi (preglednica 4). Naslednja sprememba je vidna pri 1540 cm^{-1} . Ivan Bykov omenja, da so trakovi med 1600 cm^{-1} in 1500 cm^{-1} zaznani zaradi nihanj aromatskih obročev v ligninu. Sprememba pri 1449 cm^{-1} nakazuje na spremembe na skupinah CH_2 celuloze (valenčno nihanje aromatskega obroča in CH_2 nihanja pri celulozi). Spremembo pri 1410 cm^{-1} prisojamo CH_2 strižnemu nihanju pri celulozi in nihanju $\text{C}=\text{C}$ pri aromatskih skupinah lignina. Pri 1285 cm^{-1} je sprememba nastala zaradi dogajanja v gvajacilnih enotah lignina. Naslednja sprememba je vidna pri traku pri 1150 cm^{-1} , ki ga prisojamo na asimetričnemu nihanju C-O-C pri celulozi in hemicelulozi (preglednica 4). Plesen *Sclerophoma pithyophila* (Sp) (vijolična barva) je povzročila spremembe pri 1643 cm^{-1} , kar prisojamo deformacijskemu nihanju H-O-H v absorbirani vodi (preglednica 4). Tudi plesen *Gliocladium viride* (Glu) (rdeča barva) je povzročila podobne spremembe kot *Sclerophoma pithyophila* (Sp), le da je poleg spremembe pri 1643 cm^{-1} , povzročila spremembe tudi pri 1540 cm^{-1} , kar prisojamo nihanjem aromatskih obročev v ligninu. Na ostalih vzorcih, ki so bili izpostavljeni glivam *Fusarium solani* (Fus) (črna barva), *Ceratocystis picea* (Ce pi2) (roza barva) in *Cladosporium cladosporioides* (Karin) (temno zelena barva) ni zaznati večjih sprememb spektrov, ki bi nastali zaradi delovanja plesni.



Slika 14: spektri FTIR: reflektanca v odvisnosti od valovne dolžine na lesu bukve, ki je bil izpostavljen glivam trohnikovkam

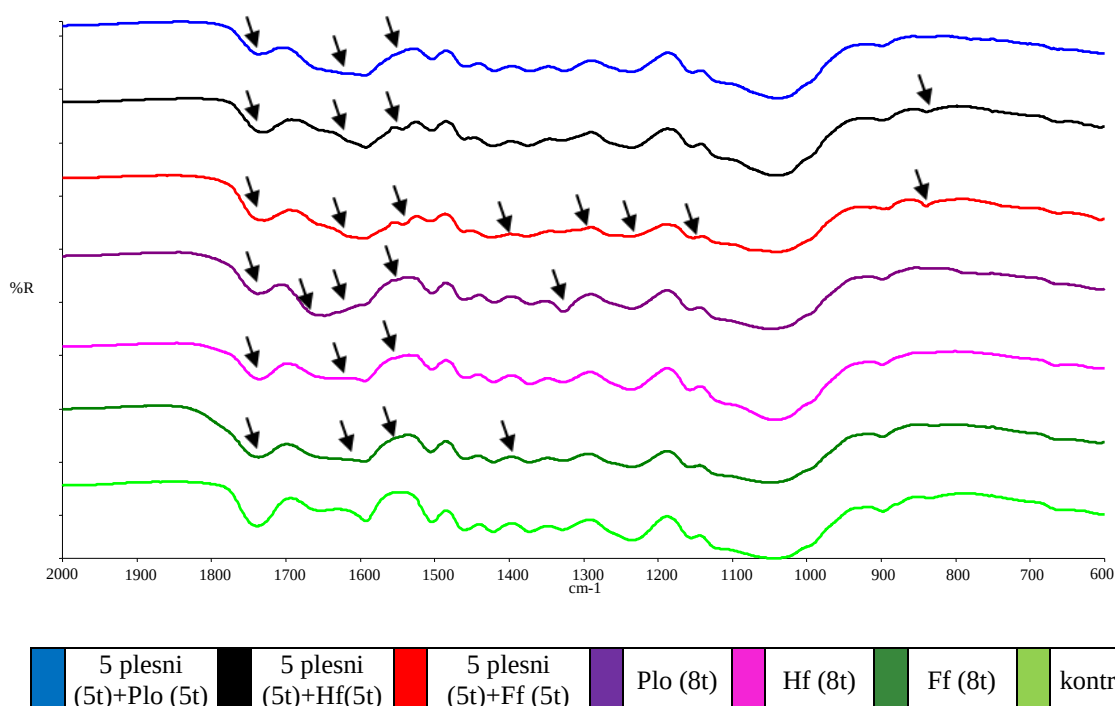
Na sliki 14 vidimo spremembe spektrov, ki so nastali na lesu bukve, ki je bil izpostavljen 5 plesnim ter kasneje še glivam trohnikovkam, ter samo trohnikovkam. Vidimo, da je na tem lesu nastalo več sprememb kot pa na lesu, ki je bil izpostavljen samo plesnim. Na vzorcu, ki je bil izpostavljen 5 plesnim in glivi trohnikovki bukovega ostrigarja (Plo) (modra barva) opazimo spremembe pri 1643 cm^{-1} , kar prisojamo deformacijskemu nihanju v absorbirani vodi H-O-H (preglednica 4), ter spremembo pri 1540 cm^{-1} , ki nakazuje na spremembe na aromatskih obročev v ligninu (Bykov, 2008). Na krivulji črne barve opazimo spremembe, ki so jih povzročile spremembe 5 plesnih in gliva trohnikovka ogljena kroglica (Hf), opazimo lahko podobne spremembe kot pri vzorcu, ki je bil izpostavljen 5 glivam in glivi trohnikovki bukovega ostrigarja (Plo). Poleg tega pa so nastale spremembe tudi pri 1449 cm^{-1} (valenčno nihanje aromatskega obroča in CH_2 nihanja pri celulozi). Sprememba pri 1410 cm^{-1} pa nakazuje na dogajanje na CH_2 pri celulozi (strižno nihanje CH_2 pri celulozi) in na aromatskih skupinah lignina (nihanje $\text{C}=\text{C}$ pri aromatskih skupinah lignina). Na krivulji temno zelene barve opazimo spremembe, ki so nastale zaradi delovanja glive trohnikovke bukove kresilne gobe (Ff). Pri 1660 cm^{-1} opazimo spremembo, ki nakazuje na dogajanje na keto-karbonilnih skupinah, konjugiranih z benzenovim obročem, ter pri traku 1643 cm^{-1} , ki je posledica deformacijskih nihanj H-O-H v absorbirani vodi. Sprememba je vidna tudi pri 775 cm^{-1} (nihanje galaktana pri hemicelulozi) (preglednica 4).



Slika 15: spektri FTIR: reflektanca v odvisnosti od valovne dolžine na lesu javorja, ki je bil izpostavljen glivam plesni

Na sliki 15 vidimo spremembe spektrov lesa javorja, ki so nastale zaradi delovanja gliv plesni. Največ sprememb je opaziti na vzorcih, ki so bili izpostavljeni vsem 5 plesnim skupaj (modra barva krivulje), *Sclerophoma pithyophila* (Sp) (vijolična barva krivulje) in *Cladosporium cladosporoides* (Karin) (temno zelena barva krivulje). Najmanj sprememb pa je opaziti na vzorcu, ki je bil izpostavljen delovanju glive *Fusarium solani* (Fus) (črna barva krivulje). Sprememba je opazna samo pri 1643 cm^{-1} (deformacijsko nihanje H-O-H v absorbirani vodi). Spremembe na vzorcu javorja, ki je bil izpostavljen delovanju glive *Gliocladium viride* (Glu) (rdeča barva krivulje) in glive *Ceratocystis picea* (Ce pi 2) (roza barva krivulje) so enake. Spremembo opazimo pri 1643 cm^{-1} (deformacijsko nihanje H-O-H v absorbirani vodi), pri 1540 cm^{-1} (vibracije aromatskih obročev v ligninu (Bykov, 2008)), pri 1050 cm^{-1} (valenčno nihanje C-O pri celulozi in hemicelulozi), ter pri 775 cm^{-1} , zaradi nihanja v galaktanu pri hemicelulozi (preglednica 4). Na vzorcu, ki je bil izpostavljen glivi *Cladosporium cladosporoides* (Karin) (krivulja temno zelene barve), opazimo spremembo pri 1643 cm^{-1} , kar prisojamo deformacijskemu nihanju H-O-H v absorbirani vodi. Zelo izrazita je sprememba pri 1540 cm^{-1} (vibracije aromatskih obročev v ligninu (Bykov, 2008)). Nanj izrazite pa so spremembe pri 1410 cm^{-1} (strižno nihanje CH_2 pri celulozi in nihanja C=C pri aromatskih skupinah lignina) ter pri 1315 cm^{-1} (kolebno nihanje skupin CH_2 pri celulozi). Malce bolj opazna je tudi sprememba pri 1230 cm^{-1} (nihanje v siringilnih enotah lignina ali nihanje skupin C=O ksilana (preglednica 4). Na vzorcu lesa javorja, ki je bil izpostavljen glivi *Sclerophoma pithyophila* (Sp), na krivulji vijolične barve, opazimo spremembe pri 1643 cm^{-1} , 1370 cm^{-1} , 1315 cm^{-1} , 1230 cm^{-1} , ter

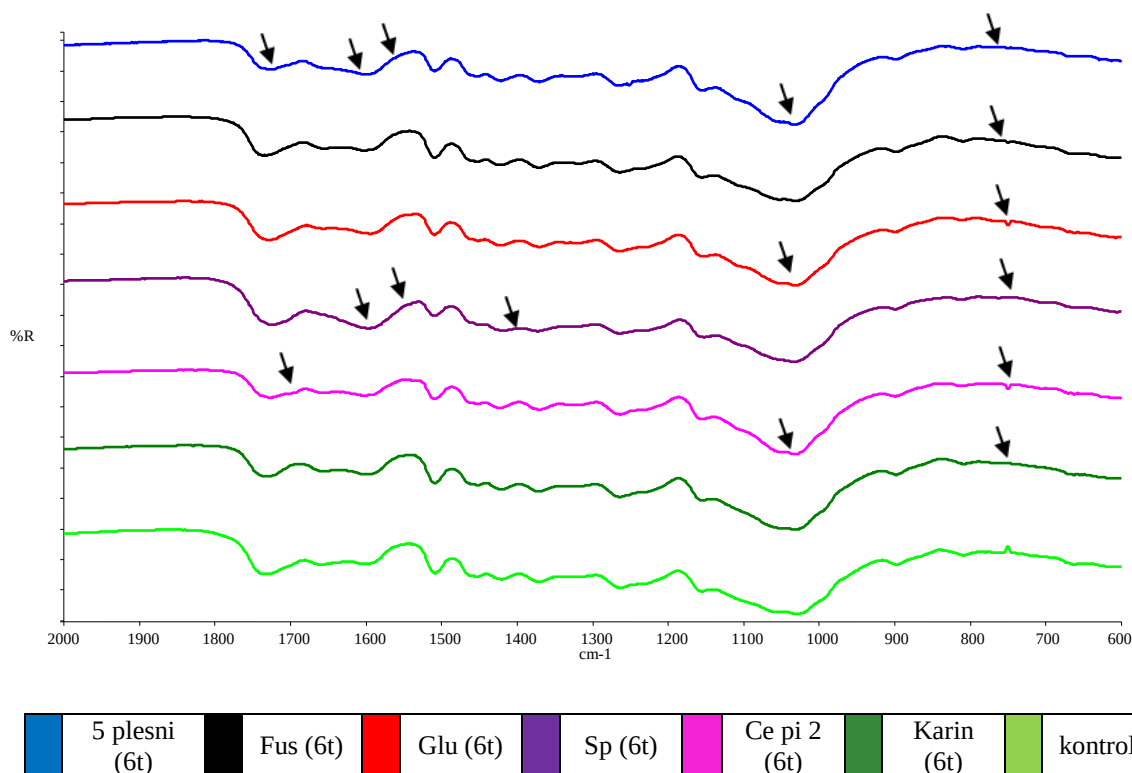
pri 775 cm^{-1} (preglednica 4). Največ sprememb opazimo na vzorcu, ki je bil izpostavljen vsem 5 glivam plesnim skupaj. Opazimo lahko tudi antagonistično delovanje gliv, saj lahko opazimo, da določene spremembe, ki so pri posamezni glivi zelo izrazite, pri mešanici vseh petih gliv niso tako izrazite, na primer pri 1540 cm^{-1} . Spremembe opazimo pri 1643 cm^{-1} , tako kot pri ostalih vzorcih. Pri 1449 cm^{-1} zaradi valenčnega nihanja aromatskega obroča in nihanja CH_2 pri celulozi, pri 1410 cm^{-1} , pri 1370 cm^{-1} , pri 1315 cm^{-1} , pri 1230 cm^{-1} in pri 1110 cm^{-1} , kar prisojamo skupinam O-H pri celulozi in hemicelulozi (preglednica 4).



Slika 16: spektri FTIR: reflektanca v odvisnosti od valovne dolžine na lesu javorja, ki je bil izpostavljen glivam trohnikovkam

Na zgornji sliki 16 vidimo spremembe spektrov lesa javorja, ki je bil izpostavljen 5 plesnim, ter kasneje še glivam bele trohnobe, ter lesa, ki je bil izpostavljen samo glivam bele trohnobe. Na vseh krivuljah lahko opazimo, da so nastale spremembe pri absorpciji pri 1730 cm^{-1} (valenčno nihanje $\text{C}=\text{O}$ pri ksilanu), spremembo pri 1643 cm^{-1} (deformacijsko nihanje H-O-H v absorbirani vodi), ter spremembo pri 1540 cm^{-1} (vibracije aromatskih obročev v ligninu (Bykov, 2008)). Na vzorcu, ki je bil izpostavljen glivi trohnikovki bukovega ostrigarja (Plo) (vijolična barva krivulje), opazimo spremembe pri 1660 cm^{-1} ter pri 1330 cm^{-1} . Prva sprememba je povezana z nihanjem keto-karbonilne skupine, konjugirane z benzenskim obročem, druga pa na z deformacijskim nihanjem OH pri celulozi in hemicelulozi (preglednica 4). Manjša sprememba je vidna tudi pri 1425 cm^{-1} (strižno nihanje CH_2 pri celulozi in nihanje $\text{C}=\text{C}$ pri aromatskih skupinah lignina (preglednica 4). Na vzorcu lasa javorja, ki je bil izpostavljen 5 plesnim in glivi trohnikovki

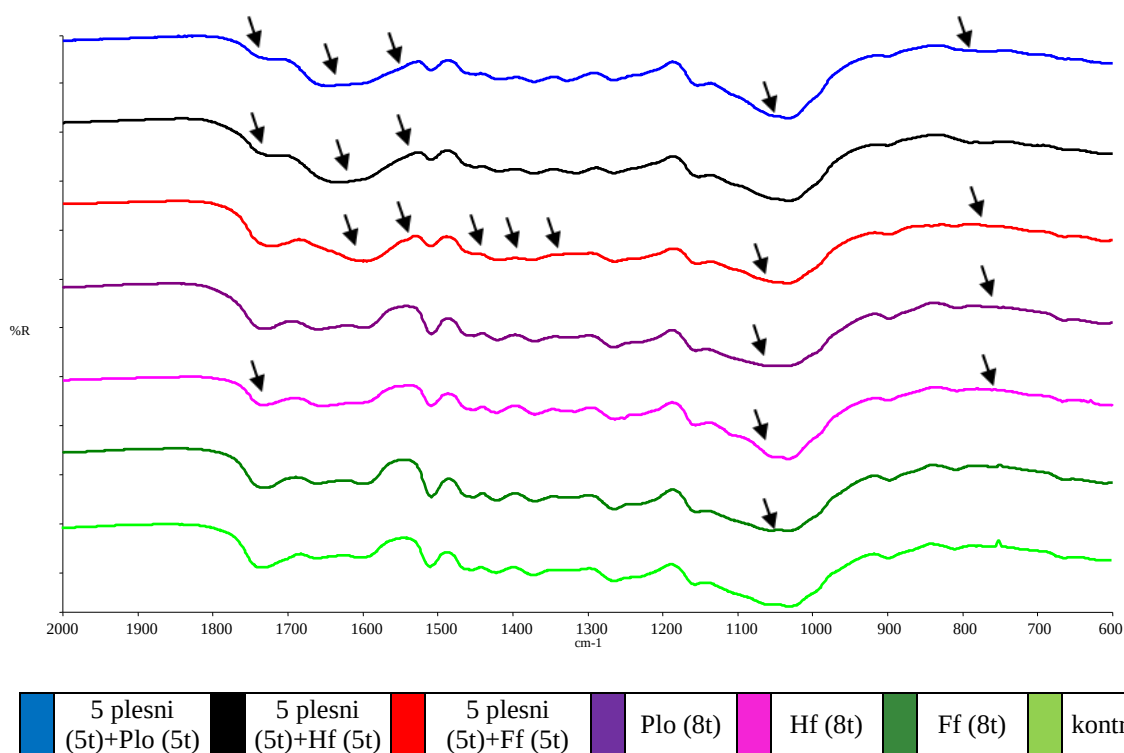
ogljene kroglice (Hf) (črna krivulja) lahko opazimo, da je sprememba pri 1540 cm^{-1} malce bolj izrazita, kot pri ostalih vzorcih, ter da je nastala sprememba tudi pri 870 cm^{-1} (upogibno nihanje v 1,3,4-substituiranih benzenskih obročih lignina (preglednica 4)). Na krivulji rdeče barve lahko opazimo največ sprememb, kar nakazuje, da je največ sprememb na vzorcu javorja sprožila izpostavljenost 5 plesnim ter kasneje še glivi trohnikovki bukove kresilne gobe (Ff). Opazimo, da je sprememba pri 1540 cm^{-1} , podobna kot na vzorcu, ki je bil izpostavljen 5 plesnim in glivi trohnikovki ogljene kroglice (Hf). Spremembe opazimo tudi pri 1425 cm^{-1} (strižno nihanje CH_2 pri celulozi in nihanje $\text{C}=\text{C}$ pri aromatskih skupinah lignina), pri 1315 cm^{-1} (kolebno nihanje skupin CH_2 pri celulozi). Sprememba je vidna tudi pri 1230 cm^{-1} (nihanje v siringilnih enotah lignina ali nihanje skupin $\text{C}=\text{O}$ ksilana). Sprememba, ki pri ostalih krivuljah ni tako izrazita, je tudi pri 1160 cm^{-1} (asimetrično nihanje $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ pri celulozi in hemicelulozi). Sprememba je opazna tudi pri 870 cm^{-1} (upogibno nihanje v 1,3,4-substituiranih benzenskih obročih lignina, preglednica 4).



Slika 17: spektri FTIR: reflektanca v odvisnosti od valovne dolžine na lesu bora, ki je bil izpostavljen glivam plesni

Na sliki 17 lahko vidimo spremembe, ki so nastale na lesu bora, ki je bil izpostavljen glivam plesni. Vidimo lahko, da je največ sprememb nastalo na vzorcu, ki je bil izpostavljen *Sclerophoma pithyophila* (Sp) (vijolična barva krivulje), ter na vzorcu, ki je bil izpostavljen vsem 5 plesnim skupaj (modra barva krivulje). Na vzorcu, ki je bil izpostavljen glivi *Sclerophoma pithyophila* (Sp) lahko vidimo spremembe pri 1600 cm^{-1} in

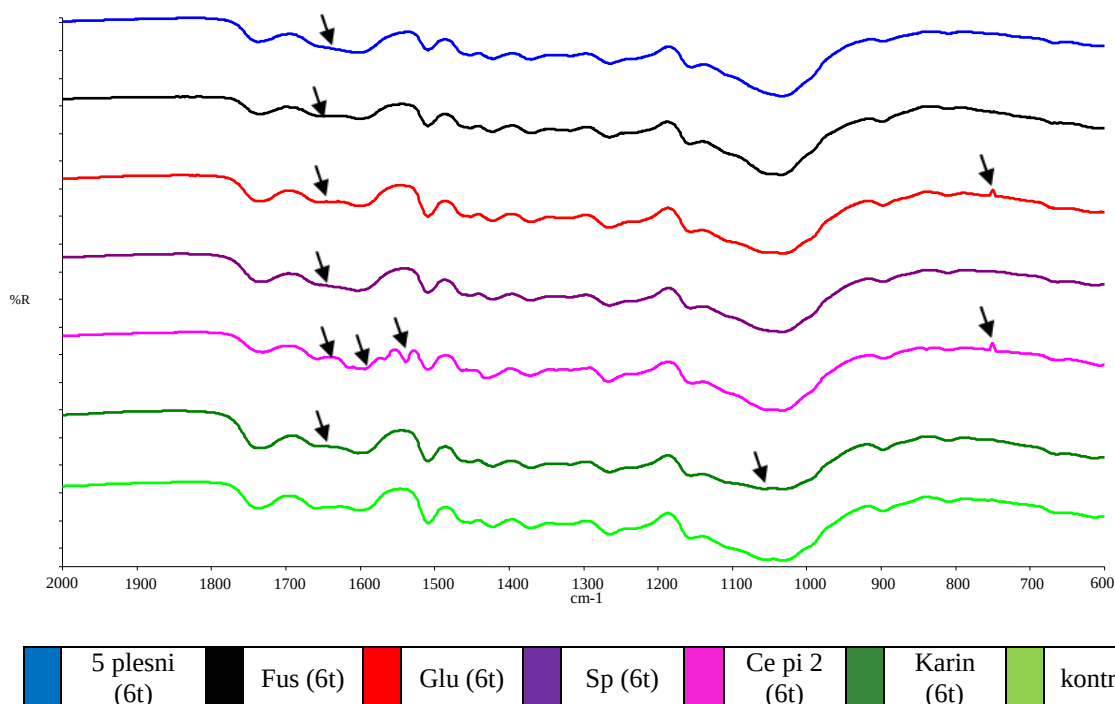
1540 cm^{-1} ; te spremembe vidimo tudi na vzorcu, ki je bil izpostavljen vsem petim glivam plesni. Ta trakova prisojamo valenčnemu nihanju aromatskega obroča pri ligninu. Malce manj opazna je sprememba pri 1425 cm^{-1} (strižno nihanje CH_2 pri celulozi ter nihanja $\text{C}=\text{C}$ pri aromatskih skupinah lignina). Spremembo smo opazili tudi pri 775 cm^{-1} (nihanje galaktana pri hemicelulozi). To spremembo lahko opazimo pri vseh vzorcih bora, ki so bili izpostavljeni glivam plesnim. Na vzorcu, ki je bil izpostavljen delovanju gliv *Glilocladium viride* (Glu) (rdeča barva krivulje), opazimo spremembo tudi pri 1050 cm^{-1} (valenčno nihanje $\text{C}-\text{O}$ pri celulozi in hemicelulozi). Podobno spremembo opazimo tudi na vzorcu lesa bora, ki je bil izpostavljen glivi *Ceratocystis picea* (Ce pi 2) (roza barva krivulje), ter na vzorcu, ki je bil izpostavljen vsem petim glivam plesni. Na obeh vzorcih opazimo tudi spremembo pri 1730 cm^{-1} (valenčno nihanje $\text{C}=\text{O}$ pri ksilenu, preglednica 4).



Slika 18: spektri FTIR: reflektanca v odvisnosti od valovne dolžine na lesu bora, ki je bil izpostavljen glivam trohnikam

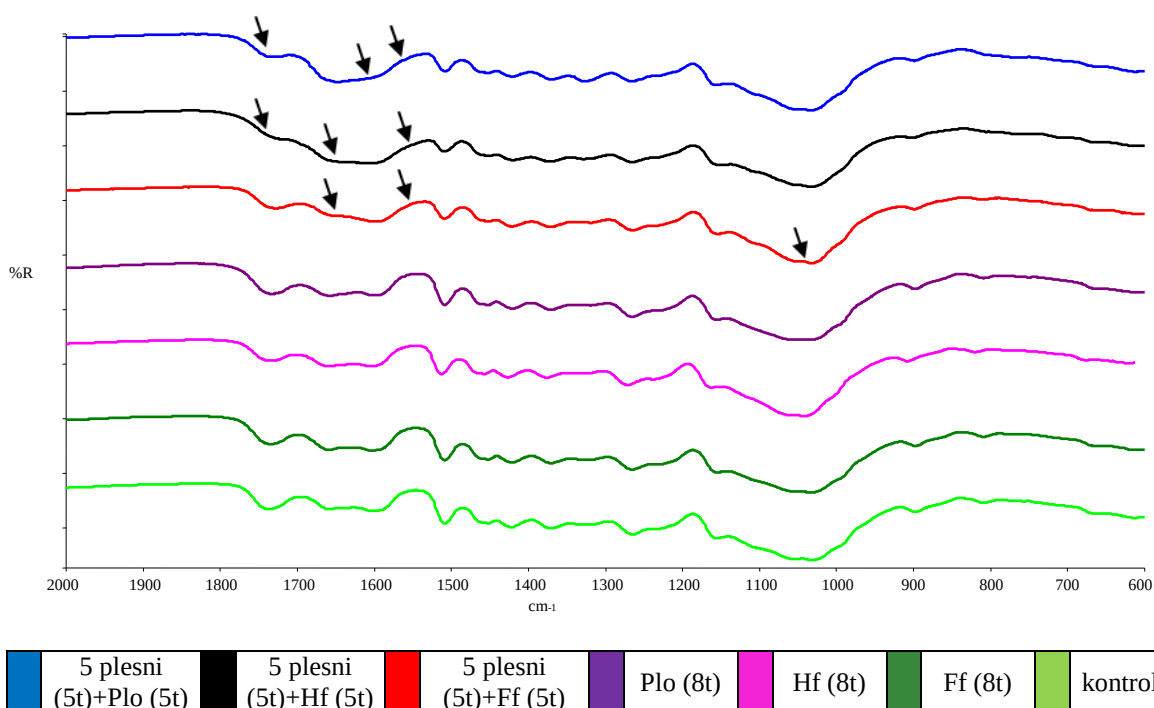
Na prvih treh krivuljah (modre, črne in rdeče barve) lahko opazimo veliko več sprememb, kot na ostalih krivuljah. Te imajo skupno to, da so bili vzorci bora prvo izpostavljeni 5 plesnim za 5 tednov ter kasneje še 5 tednov glivam trohnikam. Iz tega lahko sklepamo, da je izpostavljenost 5 plesnim spodbudila povečano delovanje in rast gliv trohnik (bukovega ostrigarja (Plo), ogljene kroglice (Hf) ter bukove kresilne gobe (Ff)). Na vseh treh krivuljah zaznamo spremembe pri 1600 cm^{-1} in 1540 cm^{-1} (valenčno nihanje aromatskega obroča pri ligninu (preglednica 4)). Največ sprememb je na vzorcu bora, ki je bil izpostavljen 5 plesnim ter kasneje še bukovi kresilni gobi (Ff) (rdeča krivulja). Poleg že

opisanih sprememb opazimo razlike še pri 1425 cm^{-1} (strižno nihanje CH_2 pri celulozi ter nihanje $\text{C}=\text{C}$ pri aromatskih skupinah lignina). Sprememba pri 1370 cm^{-1} nakazuje na dogajanje na skupinah CH_2 pri celulozi in hemicelulozi (upogibno nihanje CH_2 pri celulozi in hemicelulozi). Spremembo pri 1330 cm^{-1} pa bi lahko pripisali dogajanju na OH deformacijskemu nihanju pri celulozi in hemicelulozi. Opazimo lahko še spremembo pri 1050 cm^{-1} , ter pri 775 cm^{-1} (v prvem primeru gre za valenčno nihanje C-O pri celulozi in hemicelulozi, v drugem primeru pa za nihanje v galaktanu pri hemicelulozi (preglednica 4)). Na vzorcu, ki je bil izpostavljen petim glivam plesni in glivi trohnikovki ogljene kroglice (Hf) (črna krivulja), lahko poleg sprememb pri 1160 in 1540 cm^{-1} opazimo tudi spremembo pri 1730 cm^{-1} , ki je posledica $\text{C}=\text{O}$ valenčnega nihanja pri ksilanu. Podobne spremembe so vidne tudi na vzorcu lesa bora, ki je bil izpostavljen 5 plesnim in glivi trohnikovki bukovega ostrigarja (Plo). Tukaj je prišlo poleg prej opisanih sprememb tudi do sprememb pri 1050 cm^{-1} , ter pri 775 cm^{-1} (prvi trak pripisujemo valenčnemu nihanju C-O pri celulozi in hemicelulozi, drugi trak pa nihanju v galaktanu pri hemicelulozi (preglednica 4)). Na vzorcu, ki je bil izpostavljen samo bukovi kresilni gobi (Ff) (temno zelena barva krivulje) je nastala le ena sprememba pri 1050 cm^{-1} , kar nakazuje na spremembe C-O (valenčno nihanje pri celulozi in hemicelulozi). Na vzorcu, ki je bil izpostavljen glivi bukovega ostrigarja (Plo) (vijolična barva krivulje) lahko opazimo spremembo pri 1050 cm^{-1} , ter pri 775 cm^{-1} . Na vzorcu, ki je bil izpostavljen glivi ogljene kroglice (Hf), pa lahko opazimo spremembe pri 1730 cm^{-1} , 1050 cm^{-1} ter pri 775 cm^{-1} (preglednica 4).



Slika 19: spektri FTIR: reflektanca v odvisnosti od valovne dolžine na lesu smreke, ki je bil izpostavljen glivam plesni

Na sliki 19 lahko vidimo FTIR spektre, ki smo jih posneli na vzorcih lesa smreke, ki je bila izpostavljena delovanju gliv plesni. Na vseh krivuljah lahko vidimo, da je prišlo do spremembe pri 1660 cm^{-1} , kar nakazuje na vpliv delovanja gliv plesni na keto-karbonilne skupine, konjugirane z benzenskim obročem. Na vzorcu lesa, ki je bil izpostavljen delovanju glive *Glilocladium viride* (Glu) (rdeča barva krivulje), lahko opazimo še spremembo pri 775 cm^{-1} (nihanje v galaktanu pri hemicelulozi). Na spektru vzorca, ki je bil izpostavljen delovanju *Ceratocystis picea* (Ce pi 2) (roza barva krivulje), je vidnih še največ sprememb, poleg zgoraj že naštetih, so spremembe vidne še pri 1600 cm^{-1} in 1540 cm^{-1} (valenčno nihanje aromatskega obroča pri ligninu (preglednica 4)). Na splošno lahko sklepamo, da je na vzorcih lesa smreke malo sprememb, ki so jih povzročile glive plesni.



Slika 20: spektri FTIR: reflektanca v odvisnosti od valovne dolžine na lesu smreke, ki je bil izpostavljen glivam trohnikovkam

Na sliki 20 lahko vidimo, da so skoraj vse spremembe na lesu smreke nastale na vzorcih, ki so bili prvo 5 tednov izpostavljeni delovanju 5 glivam plesni, potem pa še 5 tednov delovanju glivam trohnikovkam. Na vzorcih, ki so bili izpostavljeni samo glivam trohnikovkam skoraj ni zaznani sprememb. Vzorec, ki je bil izpostavljen petim plesnim in trohnikovki bukovega ostrigarja (Plo) (modra krivulja) izkazuje na spektru spremembe pri 1730 cm^{-1} (valenčno nihanje $\text{C}=\text{O}$) pri ksilanu, ter pri 1600 cm^{-1} in 1540 cm^{-1} (valenčno nihanje aromatskega obroča pri ligninu). Vzorec, ki je bil izpostavljen petim plesnim in trohnikovki ogljene kroglice (Hf) (črna krivulja), na spektru prav tako kaže spremembe pri 1730 cm^{-1} ter pri 1540 cm^{-1} . Poleg teh sprememb pa je vidna sprememba tudi pri 1660 cm^{-1} . ta trak prisojamo nihanjem keto-karbonilne skupine, konjugirane z benzenskim obročem. Na

vzorcu lasa smreke, ki je bil izpostavljen petim plesnim in bukovi kresilni gobi (Ff), pa lahko vidimo spremembe pri 1660 cm^{-1} , 1540 cm^{-1} ter pri 1050 cm^{-1} , ki nakazuje spremembe na C-O (valenčno nihanje pri celulozi in hemicelulozi (preglednica 4)).

Pri analizi kemijskih sprememb je treba upoštevati, da so bili vzorci za analize z FTIR spektrometrom odvzeti s površine lesa. Površina je najbolj izpostavljena delovanju gliv in najbolj prispeva k vizualnemu izgledu površine. Po drugi strani pa se je treba zavedati, da so posledice delovanja gliv v sredici manj izrazite.

5 SKLEPI

Pri izgubi mase (slika 12) lahko vidimo, da smo pri plesnih dobili pozitivne vrednosti iz tega lahko sklepamo, da plesni niso povzročile razgradnje. Masa se je povečala zaradi glivne kolonizacije in dejstva, da smo vzorce namočili v sladni agar, ki se je vpil v les. Na vzorcih, ki so bili izpostavljeni glivam plesnim in trohnikovkam, lahko vidimo, da se vrednosti izgube mase gibljejo okoli ničle. Večina vzorcev ima vrednost malce nad ali pod ničlo. Iz tega lahko sklepamo, da so glive trohnikovke povzročile nekaj razkroja, saj smo pri vzorcih, ki so bili izpostavljeni samo plesnim, zaznali pozitivne vrednosti. Pri vzorcih, ki so bili izpostavljeni samo glivam trohnikovkam, zaznamo večjo izgubo mase. Največjo izgubo mase zaznamo pri lesu javorja in bukve, manjšo izgubo pa pri iglavcih (boru in smreki). Manjša izguba na lesu iglavcev je pričakovana, saj glive bele trohnobe v naravi razkrajajo predvsem les listavcev.

Najtemnejša obarvanja, ki smo jih opazili že s prostim očesom, je povzročila gliva plesen *Sclerophoma pithyophila* (Sp), prav tako so se temno obarvali tudi vsi vzorci, ki so bili izpostavljeni mešanici plesni, v kateri se je nahajala tudi ta gliva. Z natančnejšim merjenjem z optičnim bralnikom, v CIE L*a*b* sistemu, lahko pri iglavcih (smreki in boru) vidimo, da so se temnejše obarvali vzorci, ki so bili prvo izpostavljeni 5 plesnim za 5 tednov, ter kasneje še glivam trohnikovkam za 5 tednov. Z analizo barve v CIE L*a*b* sistemu lahko vidimo, da so vsi izpostavljeni vzorci malce potemneli. Vseeno pa lahko vidimo, da je na vseh lesnih vzorcih najsvetlejša obarvanje povzročila gliva plesni *Gliocladium viride* (Glu).

Piravost je tip bele trohnobe, ki jo povzroča več gliv hkrati. Zanja so značilne conske linije, ki razmejujejo predele različno razkrojenega lesa. Pojava piravosti oziroma conskih linij nismo zasledili. Smo pa pri lesu smreke in javorja, ki sta bila izpostavljena plesni *Cladosporium cladosporoides* (Karin) zasledili pojav »pikic« iz katerega bi se lahko ob daljši izpostavljenosti mogoče lahko razvile conske linije.

Z nihajno spektroskopijo FTIR smo ugotavljali kemijske spremembe lesa. Največ kemijskih sprememb smo zaznali pri lesu javorja tako pri delovanju gliv plesni (Slika 15), kot tudi pri delovanju gliv trohnikovk (Slika 16). Na lesu bukve (Slika 13 in Slika 14) je bilo kemijskih sprememb manj kot pri javorju, vendar vseeno malce več kot pri iglavcih (smreki in boru). Pri iglavcih po bile spremembe, ki so jih povzročile plesni zelo majhne. Malce večje kemijske spremembe smo zaznali na vzorcih, ki so bili prvo izpostavljeni plesnim ter kasneje še glivam trohnikovkam, medtem ko na vzorcih, ki so bili izpostavljeni samo glivam trohnikovkam nismo zaznali sprememb.

6 POVZETEK

Glive modrivke še danes predstavljajo velike probleme v lesarski industriji in gozdarstvu. Velja namreč prepričanje, da glive modrivke les samo obarvajo, s čimer ga estetsko razvrednotijo, vendar pa to naj ne bi vplivalo na mehanske lastnosti lesa. V raziskavo smo vključili 5 gliv plesni (*Cladosporium cladosporoides* (Karin), *Ceratocystis picea* (Ce pi2), *Fusarium solani* (Fus), *Gliocladium viride* (Glu), *Sclerophoma pithyophila* (Sp) ter 3 glive bele trohnobe (bukov ostrigar - *Pleurotus ostreatus* (Plo), ogljena kroglica - *Hypoxylon fragiforme* (Hf), bukova kresilna goba - *Fomes fomentarius* (Ff).

V diplomskem delu smo želeli videti, kako različne kombinacije gliv plesni in trohnikov vplivajo na vizualno (barvno) spremembo lesa. To spremembo smo prvo ocenili vizualno (z očmi), ter nato tudi numerično v CIE L*a*b* sistemu. Ugotovili smo, da s prostim očesom zelo težko ocenimo barvne spremembe (slike vzorcev so priložene v Prilogi A). Zato se bolj zanašamo na numerično ovrednotenje barvnih sprememb. Zagotovo lahko trdimo, da je najmočnejše obarvanje povzročila gliva *Sclerophoma pithyophila* (Sp), močno pa so bili obarvani tudi vzorci, ki so bili izpostavljeni vsem petim plesnim skupaj. Vidimo tudi, da ostale glive niso zatrle rasti glive *Sclerophoma pithyophila* (Sp).

Določali smo tudi izgubo mase, saj nas je zanimalo, če glive plesni resnično ne spreminjajo mehanskih lastnosti lesa. Obenem pa smo preverili, kako na izgubo mase delujejo še glive trohnikov, ter kombinacija gliv plesni in gliv trohnikov. Pri plesnih smo dobili pozitivno izgubo mase, saj smo delali z majhnimi vzorci, tako da k doprinosu mase lahko prinese tudi micelij plesni, ter potrdili, da plesni niso povzročile izgube mase. Rezultati vzorcev ki so bili izpostavljeni glivam plesni ter kasneje še glivam trohnikom so se gibali okoli ničle (večina vzorcev je imela zanemarljivo izgubo ali doprinos k masi). Medtem pa smo pri vzorcih, ki so bili izpostavljeni samo glivam trohnikom, zaznali izgubo mase. Največja izguba mase je bila pri javorju, najmanjša pa pri smreki.

Eksperimentalni del smo zaključili z analizo FTIR spektrov, s katero smo ugotavljali kemijske spremembe lesa. Največ kemijskih sprememb smo zaznali pri lesu javorja tako pri delovanju gliv plesni, kot tudi pri delovanju gliv trohnikov. Na lesu bukve je bilo kemijskih sprememb manj kot pri javorju, vendar vseeno malce več kot pri iglavcih (smreki in boru). Pri lesu bora smo pri delovanju gliv plesni zaznali samo majhne kemijske spremembe, malce več smo jih zaznali na vzorcih, ki so bili prvo izpostavljeni plesnim ter kasneje še glivam trohnikom. Podobno smo opazili tudi na vzorcih lesa smreke: opazili smo manjše spremembe pri delovanju plesni, malce večje spremembe pa na vzorcih, ki so bili izpostavljeni glivam plesnim, ter kasneje še glivam trohnikom. Medtem pa na vzorcih, ki so bili izpostavljeni samo glivam trohnikom, nismo zaznali sprememb.

7 VIRI

- A history of the battle against the mountain pine beetle: 2000 to 2012. Ministry of Forests, Lands and Natural Resource Operations.
http://www.for.gov.bc.ca/hfp/mountain_pine_beetle/Pine%20Beetle%20Response%20Brief%20History%20May%2023%202012.pdf (11.junij 2012)
- Basics: Fourier transform spectrometry. Arcoptix S.A.
<http://www.arcoptix.com/Fourier%20transform%20spectrometer%20tutorial.pdf> (30. Junij 2012)
- Benko R., Kervina-Hamović L., Gruden M. 1987. Patologija lesa, lesna fitopatologija. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta: 122 str.
- Bolker N.I., Somerville N.G. 1963. Infrared spectroscopy of lignins. Part II. Lignins in unbleached pulp. *Pulp and Paper Canada*, 4, 4: 187-193
- Bykov I. 2008. Characterization of natural and technical lignins using FTIR spectroscopy. Luleå, Luleå University of Technology, Department of Chemical Engineering and Geosciences, Division of Chemical Technology: 41 str.
- Christiansen E. 1991. Ips typographus and ophiostoma polonicum versus Norway spruce: joint attack and host defense. V: Forest insect guilds: patterns of interaction with host trees. Baranchikov, Y. N. in sod. (ur.). 1989 August 13-17; Abakan, Siberia, U.S.S.R. Gen. Tech. Rep. NE-153. Radnor, PA. U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Northeastern Forest Experiment Station: 321-334
- Cullingham C.I., Cooke J.E.K., Dang S., Davis C.S., Cooke B.J., Coltman D.W. 2011. Mountain pine beetle host-range expansion threatens the boreal forest. *Molecular Ecology*, 20: 2157-2171
- Čermak M. 2012. Kaj vpliva na spremembo barve lesa.
<http://www.gradimo.com/nasveti/vodic-gradnja/kaj-vpliva-na-spremembo-barve-lesa> (5. junij 2012)
- Čufar K. 2006. Anatomija lesa. Univerzitetni učbenik. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo: 185 str.
- Giordano L., Garbelotto M., Nicolotti G., Gonthier P. 2013. Characterization of fungal communities associated with the bark beetle Ips typographus varies depending on

detection method, location, and beetle population levels. *Mycological Progress*, 12,1: 127-140

Gorišek Ž. 2009. Les: zgradba in lastnosti: njegova variabilnost in heterogenost. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo: 178 str.

Grech R. Denim pine sounds better than bug-stained wood. *The working forest newspaper*. 2009. (6. November 2009).
<http://www.workingforest.com/denim-pine-sounds-better-than-bug-stained-wood/>
(10. junij 2012)

Gregori A. 2013. Zdravilne gobe rastejo predvsem na lesu. *Les*, 65, 1-2: 37-40

Harrington K.J., Higgins H.G., Michell A.J. 1964. Infra red spectra of *Eucalyptus regnans* F. Muell. and *Pinus radiata* D. Dan. *Holzforschung*, 18, 2: 108-113

Hill C.A.S. 2006. Wood modification: chemical, thermal and other processes. Chichester, John Wiley & Sons: 239 str.

Himelick E.B. 1982. Pine blue-stain associated with the pine wilt syndrome. *Journal of Arboriculture*, 8: 212-216

Hubbard S., Bowe S., Mace T., Koning J., Cummings-Carlson J. 2005. Blue stain: is it coloring your bottom line red? A guide to the causes, identification and prevention of blue stain damage in cut logs. Wisconsin, University of Wisconsin Extension: 11 str.

Humar M. 2008. Bukov ostrigar- užitna goba, ki jo lahko gojimo tudi doma. *Les*, 60, 9: 353

Humar M. 2009. Ogljena kroglica ali jagodasti skorjeder. *Les*, 61, 9-10: 429

Humar M., Pohleven F. 2005. Biotehnologija v lesarstvu= Biotechnology in wood industry. *Les*, 57, 11: 316-321

HunterLab. 2008. CIE L*a*b* Color scale. Insight on color.
http://www.hunterlab.com/appnotes/an07_96a.pdf (13. junij 2012)

Introduction to Fourier transform infrared spectrometry. 2001. Thermo Nicolet Corporation.
<http://mmrc.caltech.edu/FTIR/FTIRintro.pdf> (30. junij 2012)

- Javoršek D. 2012. Od CIE kolorimetrije do modelov barvnega zaznavanja. *Tekstilec*, 55, 3: 176-183
- Jurc M., Urek G., Širca S., Mikulič V., Glavan B. 2003. Borova ogorčica, *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner & Buhrer, 1934) Nickle, 1970 – Nova nevarnost za slovenske gozdove? *Zbornik gozdarstva in lesarstva*, 72: 121-156
- Kervina-Hamović L. 1990. *Zaščita lesa*. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo: 126 str.
- Khoshhesab Z.M. 2012. Reflectance IR spectroscopy. V: *Infrared spectroscopy-materials science, engineering and technology*. Theophenides T. (ur.). Rijeka, InTech Europe: 233-244
- Kirisits T. 2004. Fungal associates of european bark beetles with special emphasis on the ophiostomatoid fungi. V: *Bark and Wood boring insects in living trees in Europe, a Synthesis*. Lieutier F. in sod. (ur.). Dordrecht, Kluwer Academic Publishers: 181-235
- Kolšek M. 2011. Vpliv naravnih nesreč na sečnjo v povezavi s podnebnimi spremembami. V: *Izkoriščanje gozdnih proizvodov v slovenskem gospodarstvu*. Ljubljana, 16. nov. 2011. Ljubljana, Zveza gozdarskih društev Slovenije in Zveza lesarjev Slovenije: 7-8
- Kumar M. 2008. *Tehnologija grafičnih procesov*. 3. izdaja. Ljubljana, Center RS za poklicno izobraževanje: 480 str.
- Leach J.G., Orr L.W., Christensen C. 1934. The interrelationships of bark beetles and blue-staining fungi in felled Norway pine timber. *Journal of Agriculture Research*, 49: 315-341
- Lewis K.J., Hartley I.D. 2006. Rate of deterioration, degrade, and fall of trees killed by mountain pine beetle. *BC Journal of Ecosystems and Management*, 7, 2: 11-19
- Liang C.Y., Bassett K.H., McGinnes E.a., Marchessault R.H. 1960. Infrared Spectra of Cristalline Polysaccharides. VIII Thin Wood Sections. *Tappi*, 43, 13: 1017-1024
- Mali B., Torelli N., Piškur M., Levanič T., Kraigher H. 2009. Rdeče srce kot dejavnik kakovosti bukovine ne treh rastiščih v Sloveniji. V: *Trajnostna raba lesa v kontekstu sonaravnega gospodarjenja z gozdovi*. Humar M., Kraigher H. (ur.). Ljubljana, Gozdarski inštitut Slovenije, Silva Slovenica: 79-88

- Michell A.J. 1989. Second derivate FTIR spectra of woods. V: Wood and cellulosic chemistry. Hon, D.N.S. in Shiraishi, N. (ur.). New York, Marcel Dekker, Inc.: 3-395
- Michell A.J., Wetson A.J., Higgins H.G. 1965. An infrared spectroscopic study of delignification of *Eucalyptus regnans*. Tappi, 48, 6: 520-532
- Molek I., Golob L. Barve, barvna metrika in barvno upravljanje. 2010. Kranj-konzorcij šolskih centrov (september 2010)
https://munus2.scng.si/files/2009/09/barvno_upravljanje_popravljeno1.pdf (7. junij 2012)
- Noč L. 2006. Merjenje barve s kolorimetrom in z optičnim čitalcem. Diplomsko delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, oddelek za lesarstvo: 47 str.
- Pečjak V. 2006. Psihološka podlaga vizualne umetnosti. Ljubljana, Debora: 221 str.
- Pohleven F. 2008. Kresilna goba ali bukova kresilka. Les 60, 7-8: 310.
- Polanc J., Leban I. 2004. Les-zgradba in lastnosti. Ljubljana, Zveza lesarjev Slovenije, Lesarska založba: 176 str.
- Rice A.V., Thormann M.N., Langor D.W. 2007. Virulence of, and interactions among, mountain pine beetle associated blue-stain fungi on two pine species and their hybrids in Alberta. Canadian Journal of Botany, 85, 316-323
- Safranyik L., Carroll A.L. 2006. The biology and epidemiology of the mountain pine beetle in lodgepole pine forests. V: The mountain pine beetle: a synthesis of its biology, management and impacts on lodgepole pine. Safranyik, L. in Wilson, B. (ur.). Canada, Government of Canada, Natural Resources Canada, Canadian Forest Service, Pacific Forestry Centre, Victoria, BC.: 3-66
- Sarkanen K.V., Cheang H.M., Ericsson B. 1967. Species variation in lignins. I. Infrared spectra of Guaiacyl and Syringyl models. Tappi, 50, 6: 572-575
- Schmidt O. 2006. Wood and tree fungi: biology, damage, protection, and use. Heidelberg, Springer: 334 str.
- Scott E., Bewley H. 1997. Spectral selectivity. Luminal Path, Inc., Charlesle.
<http://www.photo.net/learn/optics/edscott/spectsel.htm> (13. junij 2012)

- Six D.L., Klepzig K.D. 2004. Dendroctonus bark beetles as model systems for the study of symbiosis. *Symbiosis*, 37: 207-232
- Smith B.C. 2011. Fundamentals of Fourier transform infrared spectroscopy. 2. izdaja. Boca Raton, CRC Press, Taylor & Francis Group: 182 str.
- Thomasson G., Capizzi J., Dost F., Morrell J., Miller D. 2006. Wood preservation and wood products treatment: training manual. Corvallis, Oregon State University Extension Service: 18 str.
- Torelli N., Sinjur I., Piškur M. 2009. Lastnosti in kakovost jelovine (*Abies alba* Mill.). V: Trajnostna raba lesa v kontekstu sonaravnega gospodarjenja z gozdovi. Humar M., Kraigher H. (ur.). Ljubljana, Gozdarski inštitut Slovenije, Silva Slovenica: 69-78
- Vek V., Humar M., Bučar B. 2009. Mehanske in kemijske spremembe lesa, diskoloriranega zaradi delovanja gliv modrivk. *Les*, 61, 3: 90-95.
- Vesel-Tratnik N. 1994. Interakcija in encimska aktivnost gliv pri piravosti bukve. Magistrsko delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, oddelek za lesarstvo: 161 str.

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorju, prof. dr. Mihi Humarju, za prevzem mentorstva, svetovanje, napotke, kritiko in pomoč pri diplomski nalogi.

Hvala tudi Boštjanu Lesarju in Nejcu Thalerju za vso pomoč pri izvedbi eksperimentalnega dela, za vse nasvete pri pisanju naloge ter za budno spremljanje poteka diplomske naloge.

Tehnični sodelavki Andreji Žagar se zahvaljujem za pomoč pri laboratorijskem delu.

Za vso pomoč, podporo in vzpodbudne besede se najlepše zahvaljujem staršem in ostalim družinskim članom.

Za finančno podporo tekom študija se zahvaljujem tudi babici in stricu.

Aniti in Katji se zahvaljujem za urice, ki smo jih preživele skupaj pred izpiti. Zaradi vaju je bilo učenje lažje.

Najgloblja zahvala pa je namenjena Njemu, ki mi daje moč (Flp 4,13).

PRILOGE

Priloga A

Bukev



Slika 1: les bukve, izpostavljen glivi Sp (6 tednov)



Slika 2: les bukve, izpostavljen glivi Glu (6 tednov)



Slika 3: les bukve, izpostavljen glivi trohnikovki Plo (8 tednov)



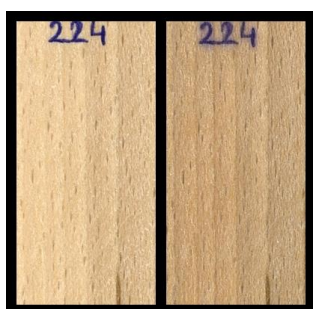
Slika 4: les bukve, izpostavljen glivi Fus (6 tednov)



Slika 5: les bukve, izpostavljen glivi Karin (6 tednov)



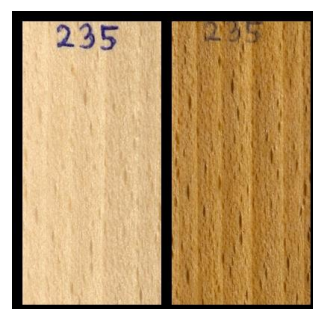
Slika 6: les bukve, izpostavljen glivi trohnikovki Hf (8 tednov)



Slika 7: les bukve, izpostavljen glivi Ce pi 2 (6 tednov)



Slika 8: les bukve, izpostavljen 5 plesnim (6 tednov)



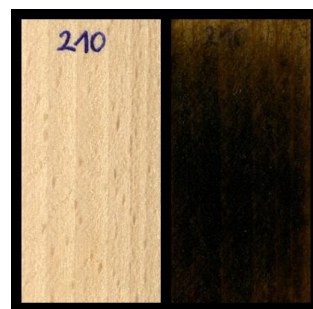
Slika 9: les bukve, izpostavljen glivi trohnikovki Ff (8 tednov)



**Slika 10: les bukve,
izpostavljen 5 plesnim (5
tednov) in glivi trohnivki Plo (5
tednov)**



**Slika 11: les bukve,
izpostavljen 5 plesnim (5
tednov) in glivi trohnivki Hf (5
tednov)**



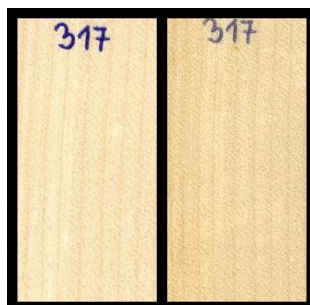
**Slika 12: les bukve,
izpostavljen 5 plesnim (5
tednov) in glivi trohnivki Ff (5
tednov)**

Priloga B

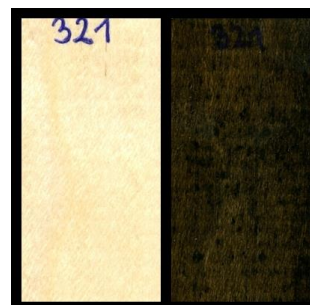
Javor



Slika 13: les javorja,
izpostavljen glivi Ce pi 2 (6
tednov)



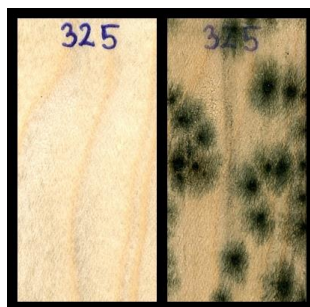
Slika 14: les javorja,
izpostavljen glivi Glu (6
tednov)



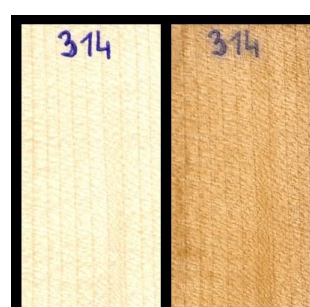
Slika 15: les javorja,
izpostavljen glivi Sp (6 tednov)



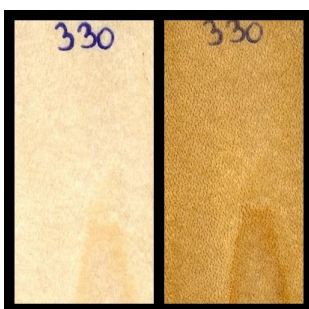
Slika 16: les javorja,
izpostavljen 5 plesnim (6
tednov)



Slika 17: les javorja,
izpostavljen glivi Karin (6
tednov)



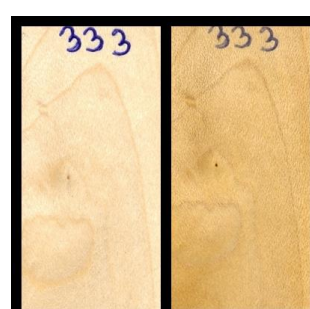
Slika 18: les javorja,
izpostavljen glivi.Fus (6
tednov)



Slika19: les javorja,
izpostavljen glivi trohnikovki Plo
(8 tednov)



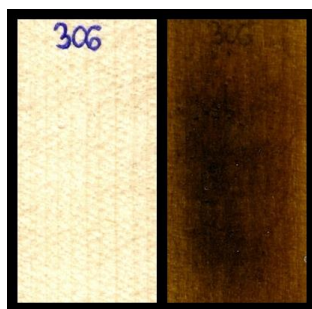
Slika 20: les javorja,
izpostavljen glivi trohnikovki Ff
(8 tednov)



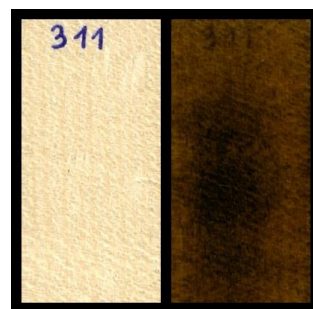
Slika 21: les javorja,
izpostavljen glivi trohnikovki Hf
(8 tednov)



**Slika 22: les javorja,
izpostavljen 5 plesnim (5
tednov) in glivi trohnivki Hf (5
tednov)**



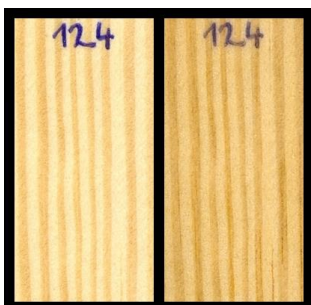
**Slika 23: les javorja,
izpostavljen 5 plesnim (5
tednov) in glivi trohnivki Plo (5
tednov)**



**Slika 24: les javorja,
izpostavljen 5 plesnim (5
tednov) in glivi trohnivki Ff (5
tednov)**

Priloga C

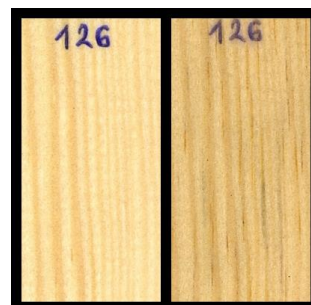
Bor



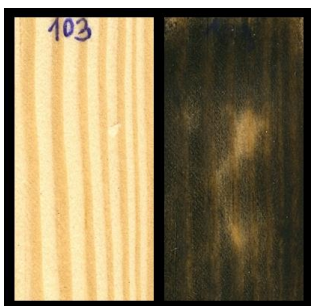
Slika 25: les bora, izpostavljen
glivi *Ce pi* 2 (6 tednov)



Slika 26: les bora, izpostavljen
glivi *Glu* (6 tednov)



Slika 21: les bora, izpostavljen
glivi *Karin* (6 tednov)



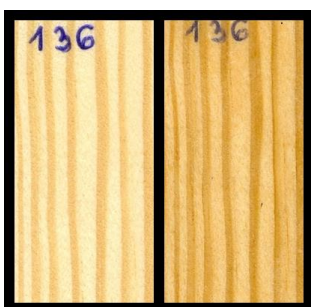
Slika 28: les bora, izpostavljen
5 plesnim (6 tednov)



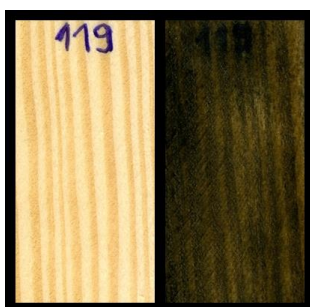
Slika 29: les bora, izpostavljen
glivi trohnikovki *Hf* (8 tednov)



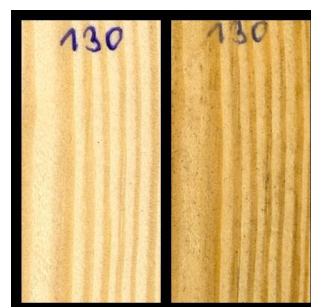
Slika 30: les bora, izpostavljen
glivi *Fus* (6 tednov)



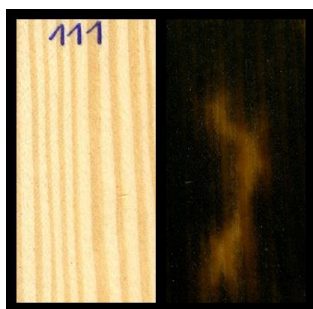
Slika 31: les bora, izpostavljen
glivi trohnikovki *Ff* (8 tednov)



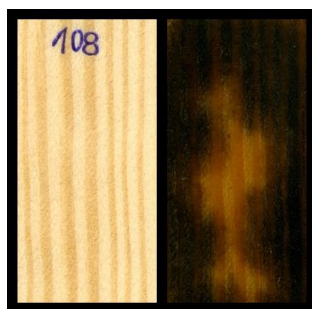
Slika 32: les bora, izpostavljen
glivi *Sp* (6 tednov)



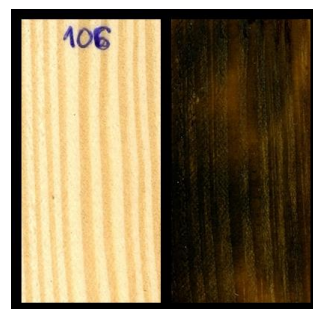
Slika 33: les bora, izpostavljen
glivi trohnikovki *Plo* (8 tednov)



Slika 34: les bora, izpostavljen 5 plesnim (5 tednov) in glivi trohnikovki Ff (5 tednov)



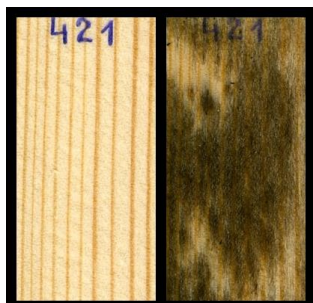
Slika 35: les bora, izpostavljen 5 plesnim (5 tednov) in glivi trohnikovki Hf (5 tednov)



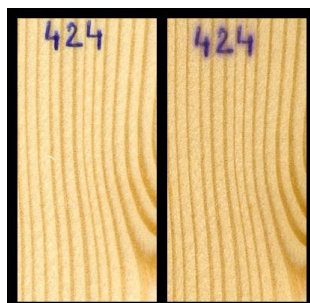
Slika 36: les bora, izpostavljen 5 plesnim (5 tednov) in glivi trohnikovki Plo (5 tednov)

Priloga D

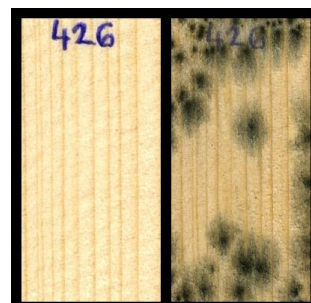
Smreka



Slika 37: les smreke,
izpostavljen glivi Sp (6 tednov)



Slika 38: les smreke,
izpostavljen glivi Ce pi 2 (6
tednov)



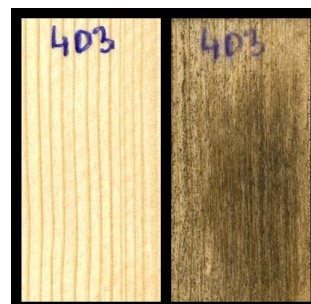
Slika 39: les smreke,
izpostavljen glivi Karin (6
tednov)



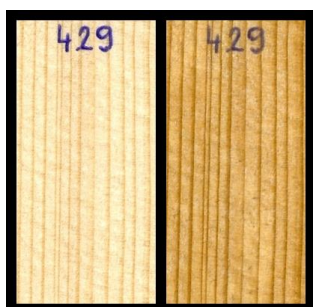
Slika 40: les smreke,
izpostavljen glivi Fus (6
tednov)



Slika 41: les smreke,
izpostavljen glivi Glu (6
tednov)



Slika 42: les smreke,
izpostavljen 5 plesnim (6
tednov)



Slika 43: les smreke,
izpostavljen glivi trohnivki Plo
(8 tednov)



Slika 44: les smreke,
izpostavljen glivi trohnivki Hf
(8 tednov)



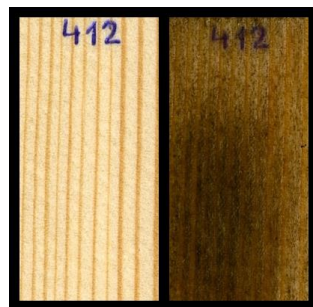
Slika 45: les smreke,
izpostavljen glivi trohnivki Ff
(8 tednov)



**Slika 46: les smreke,
izpostavljen 5 plesnim (5
tednov) in glivi trohnivki Plo (5
tednov)**



**Slika 47: les smreke,
izpostavljen 5 plesnim (5
tednov) in glivi trohnivki Hf (5
tednov)**



**Slika 48: les smreke,
izpostavljen 5 plesnim (5
tednov) in glivi trohnivki Ff (5
tednov)**

