

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA LESARSTVO

Matija POGLAJEN

**DOLOČANJE MEJNIH FUNGICIDNIH VREDNOSTI
BOROVE KISLINE**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

Ljubljana, 2008

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA LESARSTVO

Matija POGLAJEN

**DOLOČANJE MEJNIH FUNGICIDNIH VREDNOSTI
BOROVE KISLINE**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**DETERMINATION OF FUNGICIDAL MINIMAL
INHIBITORY CONCENTRATIONS OF BORIC ACID**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2008

Diplomsko delo je zaključek Univerzitetnega študija lesarstva. Opravljeno je bilo na Katedri za patologijo in zaščito lesa na Oddelku za lesarstvo, Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani.

Senat Oddelka za lesarstvo je za mentorja določil doc. dr. Miho Humarja, za recenzenta pa prof. dr. Franca Pohlevna.

Mentor: doc. dr. Miha Humar

Recenzent: prof. dr. Franc Pohleven

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Matija POGLAJEN

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 630*841
KG	zaščita lesa/borova kislina/minimalna inhibitorna koncentracija/lesne glive
AV	POGLAJEN, Matija
SA	HUMAR, Miha (mentor)/POHLEVEN, Franc (recenzent)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Rožna dolina, c. VIII/34
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo
LI	2008
IN	DOLOČANJE MEJNIH FUNGICIDNIH VREDNOSTI BOROVE KISLINE
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	XI, 63 str., 14 pregl., 27 sl., 30 vir.
IJ	sl
JJ	sl/en
AI	Za zaščito lesa se v današnjem času pogosto uporabljajo borove spojine. Imajo več dobrih kot slabih lastnosti. Ena izmed odlik je njihova učinkovitost, slabost pa je neustrezna vezava v les. Kljub temu, da se borove spojine že skoraj 100 let uporabljajo v zaščiti lesa, je v literaturi moč zaslediti veliko nasprotujočih podatkov o mejni fungicidni vrednosti. Zato je bil cilj raziskave določiti mejne fungicidne vrednosti za borovo kislino. Le-te smo določali z 2 metodama in sicer mini blok testom ter presejalnim testom na trdnem gojišču. Za testiranje smo uporabili 5 vrst gliv rjave trohnobe (<i>Antrodia vaillantii</i>, <i>Gloeophyllum trabeum</i>, <i>Coniophora puteana</i>, <i>Lentinus lepideus</i> in <i>Serpula lacrymans</i>), 2 vrsti gliv bele trohnobe (<i>Trametes versicolor</i> ter <i>Hypoxylon fragiforme</i>) ter 2 glivi modrivki (<i>Aureobasidium pullulans</i> in <i>Sclerophoma pythiophila</i>). Rezultati testiranja fungicidne učinkovitosti borove kisline so potrdili, da je borova kislina zelo učinkovit fungicid, saj deluje na glive že pri zelo nizkih koncentracijah. Na borovo kislino je najbolj občutljiva gliva <i>Coniophora puteana</i>, najmanj pa gliva <i>Hypoxylon fragiforme</i>.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn
DC UDC 630*841
CX wood preservation/boric acid/minimal inhibitory concentration/wood fungi
AU POGLAJEN, Matija
AA HUMAR, Miha (supervisor)/POHLEVEN, Franc (co-advisor)
PP SI-1000 Ljubljana, Rožna dolina, c. VIII/34
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Wood Science and Technology
PY 2008
TI DETERMINATION OF FUNGICIDAL MINIMAL INHIBITORY CONCENTRATIONS OF BORIC ACID
DT Graduation Thesis (University studies)
NO XI, 63 p., 14 tab., 27 fig., 30 ref.
LA sl
AL sl/en
AB Nowadays boron compounds are widely used for wood preservation. They have several good properties but some weaknesses, too. One of the most important benefits is their efficacy against wood pests, and their weakness insufficient fixation in wood. Despite of the fact, that they are applied for almost 100 years in the field of wood preservation, in literature there are several controversial data about their efficacy. Therefore, minimal inhibitory concentration in nutrient medium and wood blocks were determined. For testing, 5 brown rot (*Antrodia vaillantii*, *Gloeophyllum trabeum*, *Coniophora puteana*, *Lentinus lepideus* and *Serpula lacrymans*), 2 white rot (*Trametes versicolor* and *Hypoxylon fragiforme*) and 2 blue stain fungi (*Aureobasidium pullulans* and *Sclerophoma pithyophila*) were applied. Results of the fungicidal testing of boric acid confirmed that boric acid is a very effective fungicide inhibiting fungal growth at relatively low concentrations. The most boron sensitive fungus was *Coniophora puteana*, and the most resistant one *Hypoxylon fragiforme*.

KAZALO VSEBINE

str.

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
SPLOŠNO KAZALO.....	V
KAZALO PREGLEDNIC.....	IX
KAZALO SLIK.....	X

1	UVOD	1
1.1	OBRAZLOŽITEV PROBLEMA	1
1.2	CILJ DIPLOMSKE NALOGE	2
2	SPLOŠNI DEL	3
2.1	NARAVNA ODPORNOST	3
2.2	RAZGRADNJA LESA	5
2.2.1	Glive	6
2.2.1.1	Delitev gliv glede na spremembo barve lesa, ki jo povzročajo	6
2.2.1.1.1	Rjava ali destruktivna trohnoba	6
2.2.1.1.2	Bela ali korozivna trohnoba	7
2.2.1.1.3	Mehka trohnoba ali soft rot	7
2.2.1.1.4	Modrenje.....	7
2.2.1.1.5	Plesni	8
2.3	TRAJNOST LESA	8
2.4	KEMIJSKA ZAŠČITA LESA	10

2.5	BOR – KEMIJSKI ELEMENT	10
2.6	ZGODOVINA UPORABE BOROVIH SPOJIN ZA ZAŠČITO LESA.....	13
2.7	TOKSIČNOST BORA	13
2.8	BIOCIDNE LASTNOSTI	15
2.8.1	Delovanje bora proti glivam razkrojevalkam, modrivkam ter plesnim	15
2.8.2	Insekticidno delovanje borovih spojin	17
2.9	DIFUZIVNOST TER IZPIRANJE BORA V LESU	18
2.10	BOROV PRIPRAVKI V ZAŠČITI LESA	18
2.11	METODE ZA DOLOČANJE FUNGICIDNIH LASTNOSTI KEMIKAJIJ	19
2.11.1	Presejalni ali preliminarni testi	19
2.11.2	Standardni laboratorijski testi	21
2.11.3	Terenski testi	21
2.11.4	»Service« testi	22
3	MATERIALI IN METODE	23
3.1	MATERIALI	23
3.1.1	Uporabljen les	23
3.1.2	Uporabljena kemikalija	24
3.1.3	Testne glive	24
3.1.4	Opis gliv	25
3.1.4.1	<i>Trametes versicolor</i> – pisana ploskocevka	25
3.1.4.2	<i>Antrodia vaillantii</i> – bela hišna goba	26
3.1.4.3	<i>Gloeophyllum trabeum</i> – navadna tramovka	26
3.1.4.4	<i>Hypoxylon fragiforme</i> – ogljena kroglica	27

3.1.4.5	<i>Lentinus lepideus</i> – žvepleni luknjičar	27
3.1.4.6	<i>Serpula lacrymans</i> – siva hišna goba	27
3.1.4.7	<i>Coniophora puteana</i> – kletna goba	28
3.1.4.8	<i>Sclerophoma pythiophila</i> in <i>Aureobasidium pullulans</i> - glivi modrivki	29
3.2	METODE	30
3.2.1	Presejalni test	30
3.2.1.1	Priprava raztopin	30
3.2.1.2	Priprava hranilnega gojišča	31
3.2.1.3	Inokulacija gliv in spremljanje rasti	32
3.2.2	Mini blok metoda	33
3.2.2.1	Izdelava preizkušancev	33
3.2.2.2	Priprava raztopin, impregnacija ter določanje navzema	33
3.2.2.3	Inokulacija hranilnega gojišča	35
3.2.2.4	Vstavljanje vzorcev na z glivami preraslo gojišče	35
4	REZULTATI	38
4.1	REZULTATI PRESEJALNEGA TESTA	38
4.1.1	Povprečna prirast micelija gliv, povzročiteljic rjave trohnobe v odvisnosti od koncentracije H_3BO_3	41
4.1.1.1	<i>Gloeophyllum trabeum</i>	41
4.1.1.2	<i>Antrodia vaillantii</i>	42
4.1.1.3	<i>Coniophora puteana</i>	43
4.1.1.4	<i>Lentinus lepideus</i>	44
4.1.1.5	<i>Serpula lacrymans</i>	45

4.1.2	Povprečna prirast micelija gliv, povzročiteljic bele trohnobe v odvisnosti od koncentracije H_3BO_3	46
4.1.2.1	<i>Trametes versicolor</i>	46
4.1.2.2	<i>Hypoxylon fragiforme</i>	47
4.1.3	Povprečna prirast micelija gliv, povzročiteljic modrivosti v odvisnosti od koncentracije H_3BO_3	48
4.1.3.1	<i>Aureobasidium pullulans</i>	48
4.1.3.2	<i>Sclerophoma pythiophila</i>	49
4.2	REZULTATI MINI BLOK METODE	50
4.2.1	Suhi navzem	50
4.2.2	Izguba mase kontrolnih vzorcev	51
4.2.3	Izguba mase impregniranih vzorcev	54
5	RAZPRAVA	56
6	SKLEPI	59
7	POVZETEK	60
8	VIRI	61
	ZAHVALA	

KAZALO PREGLEDNIC

str.

Preglednica 1:	Naravna trajnost jedrovine različnih lesnih vrst. Les je glede na relativno življenjsko dobo razvrščen v 5 razredov (SIST EN 350 – 2, 1995). Beljava vseh lesov je razvrščena v 5 razred.	4
Preglednica 2:	Evropski razredi izpostavitve lesa glede na mesto uporabe (SIST EN 335 – 1/2, 1996)	9
Preglednica 3:	Evropski razredi izpostavitve lesa glede na povzročitelje (SIST EN 335 – 1/2, 1992)	9
Preglednica 4:	Splošne ter fizikalne lastnosti bora	11
Preglednica 5:	Akutne toksičnost izbranih spojin LD ₅₀ , oralno, podgane	14
Preglednica 6:	Mejna vrednost borove (H ₃ BO ₃) kisline za različne glive	16
Preglednica 7:	Glive razkrojevalke lesa, uporabljene pri metodah testiranja.....	25
Preglednica 8:	Koncentracija bora v hranilnem gojišču ter pripadajoče oznake	30
Preglednica 9:	Ciljni navzemi ter koncentracije borove kisline v vodnih raztopinah	34
Preglednica 10:	Razporeditev impregniranih in kontrolnih vzorcev glivam razkrojevalkam.....	36
Preglednica 11:	Številčni prikaz dejanskega ter predvidenega navzema	51
Preglednica 12:	Izgube mas kontrolnih vzorcev izpostavljenih glivam rjave in bele trohnobe v samostojnem kozarcu (kontrola-A) in neimpregniranih vzorcem, ki smo jih glivam izpostavili poleg impregniranih vzorcev (kontrola-B).	52
Preglednica 13:	Izgube mas impregniranih vzorcev izpostavljenih glivam rjave in bele trohnobe... ..	54
Preglednica 14:	Zaustavitev rasti posameznih vrst gliv v odvisnosti od koncentracije B	56

KAZALO SLIK

str.

Slika 1:	Popolnoma razkrojena beljava in dobro ohranjena jedrovina borovega štora.....	3
Slika 2:	Biotični ter abiotični dejavniki razkroja lesa (Kervina – Hamovič, 1990).....	5
Slika 3:	Presejalni test v epruveti ter v petrijevki.....	20
Slika 4:	Prikaz testa z filtrirnim papirjem	20
Slika 5:	Prikaz testa na dejanski vzorcih.....	21
Slika 6:	Prikaz terenskega testa v Hamburgu.....	22
Slika 7:	Prikaz mešanja hranilnega gojišča PDA z destilirano vode	31
Slika 8:	Prazne epruvete in epruveti napolnjeni s še nestrjenim hranilnim gojiščem	31
Slika 9:	Miceliji testnih gliv ter prikaz inokulacije gliv na hranilno gojišče v petrijevki.....	32
Slika 10:	Dimenzioniran smrekov vzorček	33
Slika 11:	Primer razporeditve vzorčkov v gojitvenem kozarcu.....	36
Slika 12:	Prikaz rasti micelija gliv Tv in Hf po 6 dneh rasti na gojišču brez dodanega bora.....	38
Slika 13:	Tipična rast micelija kontrol gliv Aup in Cp po 9 dneh.....	38
Slika 14:	Grafični prikaz povprečne prirasti micelija gob na gojišču brez dodanih biocidov	39
Slika 15:	Grafični prikaz povprečne prirasti micelija gob pri koncentraciji 100 ppm B v hranilnem gojišču.....	40
Slika 16:	Povprečna prirast glive Gt (<i>Gloeophyllum trabeum</i>) v odvisnosti od koncentracije H_3BO_3	41
Slika 17:	Povprečna prirast glive Pv (<i>Antrodia vaillantii</i>) v odvisnosti od koncentracije H_3BO_3	42
Slika 18:	Povprečna prirast glive Cp (<i>Coniophora puteana</i>) v odvisnosti od koncentracije H_3BO_3	43
Slika 19:	Povprečna prirast glive Lel (<i>Lentinus lepideus</i>) v odvisnosti od koncentracije H_3BO_3	44
Slika 20:	Povprečna prirast glive Sl (<i>Serpula lacrymans</i>) v odvisnosti od koncentracije H_3BO_3 ..	45
Slika 21:	Povprečna prirast glive Tv (<i>Trametes versicolor</i>) v odvisnosti od koncentracije H_3BO_3	46

Slika 23:	Povprečna prirast glive Aup (<i>Aureobasidium pullulans</i>) v odvisnosti od koncentracije H_3BO_3	48
Slika 24:	Povprečna prirast glive Scp (<i>Sclerophoma pythiophila</i>) v odvisnosti od koncentracije H_3BO_3	49
Slika 25:	Razmerje med dejanskim ter predvidenim navzemom	50
Slika 26:	Smrekovi vzorci po 12 tednih izpostavitve glivam rjave trohnobe	53
Slika 27:	Bela trohnoba na nezaščenih kontrolnih vzorcih	54

1 UVOD

1.1 OBRAZLOŽITEV PROBLEMA

Les je zelo pomemben naravni material, ki ima v svetu ponovno večji ekonomski pomen. V zgodovini človeštva je predstavljal enega izmed glavnih obnovljivih materialov, kar velja še danes. Njegove izjemne lastnosti in naravna odpornost nekaterih vrst, so človeku zagotavljali material za najrazličnejšo uporabo, kot npr. kurjava, orodje, orožje, gradbeni izdelki, izdelki za transport po kopnem in morju (Eaton in Hall, 1993).

Kot naravni material, je les izpostavljen različnim biotičnim ter abiotičnim dejavnikom razkroja. V naravi je razkroj lesa nujno potreben, za gospodarsko uporabo, pa je ta proces nezaželen, zato ga poizkušamo čim bolj upočasniti ali pa celo preprečiti.

Na področju Slovenije ima večina drevesnih vrst slabo odporen les, zato njegovo trajnost poskušamo podaljšati z najrazličnejšimi kemičnimi postopki. Ob tem pa se moramo zavedati, da ima lahko kemična zaščita negativne posledice tako na okolje, kot na ljudi. Zato jo poizkušamo uporabljati čim manj, le kadar lesa ni mogoče zaščititi na drug, okolju prijaznejši način.

Začetke zaščite lesa najdemo že pri starih civilizacijah na Kitajskem in pri starih Egipčanih. Primerljivo, kot na drugih področjih, so tema civilizacijama bolj ali manj sledile nadaljnje civilizacije. V novejši zgodovini zaščite lesa pa je potrebno omeniti potapljanje lesa v živosrebrno raztopino, ki ga je leta 1832 uvedel Kyan. Med najpomembnejše zaščite uvrščamo Bethel-ov postopek impregniranja s katranskim oljem leta 1838, ter Boucherie-jev postopek zaščite svežega lesa. Metoda je potekala na sveže posekani hlodovini, pri kateri je vodo v beljavi zamenjal z vodno raztopino bakrovega(II) sulfata (Eaton in Hale, 1993). To sredstvo pa ima veliko pomanjkljivost in sicer slabo fiksacija ter s tem povezana veliko izperljivost. Kasneje, in sicer leta 1850, so za tiste čase iznašli najzanesljivejšo zaščitno sredstvo - kreozotno olje, ki so ga pridobivali s suho destilacijo premoga. V novejši zgodovini, je pomembno še leto 1907, ko je Wolman patentiral zaščitno sredstvo »multi sol«, in pa leto 1933, ko je Kamesan razvil zmes CCA soli oziroma pripravek na osnovi kromovih, bakrovih ter arzenovih spojin (Richardson, 1993).

V zadnjih letih pa se je na področju zaščite lesa zgodilo več sprememb kot prej v 150 letih. Uporaba številnih klasičnih biocidov je prepovedana ali pa je njihova uporaba močno

omejena. Zato na pomenu pridobivajo zaščitne učinkovine z minimalnim okoljskim tveganjem. V to skupino biocidov spadajo tudi borove spojine.

1.2 CILJ DIPLOMSKE NALOGE

Ob uvedbi direktive o biocidih je bilo s trga umaknjenih veliko število obstoječih aktivnih učinkovin za zaščito lesa. Borove učinkovine so zaenkrat še obstale na seznamu dovoljenih biocidov. Borove spojine smo do nedavnega uporabljali predvsem kot insekticide, fungicidnosti pa smo pripisovali drugotno vlogo. Navadno so jih v zaščitne pripravke dodajali le kot sekundarne fungicide. Najpogosteje se še danes uporabljajo v kombinaciji z bakrovimi pripravki, kjer povečujejo zanesljivost zaščite proti na baker tolerantnimi glivnimi izolati. V literaturi ni zaslediti zanesljivih podatkov o fungicidnih lastnosti borovih učinkovin, niti osnovnih podatkov o minimalnih inhibitornih koncentracijah za lesne glive. Zato smo v diplomski nalogi določili koliko bora moramo vnesti v les, da ga zaščitimo pred najpogostejšimi lesnimi glivami.

2 SPLOŠNI DEL

2.1 NARAVNA ODPORNOST

Naravna odpornost je lastnost, ki jo ima les v naravnem, zdravem stanju, torej takrat, ko nanj še niso vplivali razni okoljski dejavniki. Naravna odpornost je odvisna zlasti od anatomske zgradbe ter kemičnih sestavin, ki jim pravimo ekstraktivne oz. akcesorne sestavine. To so snovi, ki se iz lesa lahko ekstrahirajo z različnimi topili. Ekstraktivne sestavine lesa so: škrob, sladkorji, beljakovine, smole, tanin, barve, pektini, alkaloidi, glikozidi, fenoli, pigmenti...

Vsebnost ekstraktivov v lesu sezonsko niha. Do največjih razlik prihaja med beljavo ter jedrovino. Beljava je zaradi prisotnosti škroba, sladkorjev in beljakovin veliko manj odporna kot jedrovina, ki vsebuje večji delež fenolov, alkaloidov, ter drugih podobno delujočih snovi. V naravi pogosto najdemo lesene konstrukcije, ki neposredno potrjujejo to teorijo, in sicer vidimo močno poškodovano beljavo ter popolnoma nedotaknjeno jedrovino (Kervina – Hamovič, 1990) (slika 1).



Slika 1: Popolnoma razkrojena beljava in dobro ohranjena jedrovina borovega štora (foto: Miha Humar)

Zaradi naravne odpornosti jedrovine, imamo pri nas veliko dobro ohranjenih starih lesenih hiš, ki so bile zgrajene iz kvalitetnega, zdravega lesa s pretežnim deležem jedrovine. Žal je naravno odpornega lesa v našem delu Evrope manj, kot na drugih celinah. Največ naravno odpornih drevesnih vrst je v Afriki. Narava je poskrbela, da ga je največ prav tam, kjer je

tudi največ lesnih škodljivcev. Tako je opisano približno 200 drevesnih vrst, ki imajo les odporen proti termitom. Znan naravno odporen je na primer les afriškega tika (*Tectona grandis*), ker vsebuje tektokinin, nekaj vrst cipres, ki vsebujejo seskviterpen alkohol in geranijevo kislino. Med zelo odporne lesne vrste uvrščamo še ebenovino, cedrovino ter druge. Les z visoko naravno odpornostjo imajo tudi nekatere vrste evkaliptusa, ki se prav zaradi te lastnosti veliko uporablja v Avstraliji, kjer je ravno tako veliko število agresivnih vrst lesnih škodljivcev.

Žal pa ima večina slovenskih drevesnih vrst malo odporen oz. neodporen les (preglednica 1), kar pomeni, da je tak les močno dovzeten za škodljivce (Kervina – Hamovič, 1990).

Preglednica 1: Naravna trajnost jedrovine različnih lesnih vrst. Les je glede na relativno življenjsko dobo razvrščen v 5 razredov (SIST EN 350 – 2, 1995). Beljava vseh lesov je razvrščena v 5 razred.

RAZRED ODPORNOSTI	OPIS	RELATIVNA DOBA V STIKU Z ZEMLJO (leta)	LESNA VRSTA
1	Zelo odporen	Več kot 5,0	robinija, iroko, tik
2	Odporen	3,0 - 5,0	tisa, kostanj, dob, robinja
3	Zmerno odporen	2,0 - 3,0	macesen, bor, duglazija, oreh, cer
4	Malo odporen	1,2 - 2	jelka, bor, smreka, brest
5	Neodporen	1 - 1,2	javor, jelša, breza, gaber, bukev, jesen, topol

2.2 RAZGRADNJA LESA

Les je ena najpomembnejših surovin v Sloveniji. Je naravni material, ki je podvržen razkroju, ki ga povzročajo biotični in abiotični dejavniki (slika 2). Biotični so dejavniki žive narave, zlasti glive in insekti, abiotični pa nežive narave, kot so vremenski in kemični vplivi.

Abiotični dejavniki delujejo na mehanske, kemične in fizikalne lastnosti lesa relativno počasi. Najpomembnejši so: veter, visoke in nizke temperature, led, sneg, voda, vlaga, UV žarki, kemikalije, plini... Najhujši abiotični destruktor lesa je ogenj, ki pri nas in v svetu zelo hitro uničuje ogromne količine lesa.

Biotični dejavniki pa so dejavniki žive narave. Mednje prištevamo bakterije, insekte, glive, morske škodljivce pa tudi človeka. Najpomembnejši biotični škodljivci so glive. Razumevanje razkroja lesa z lesnimi škodljivci je zelo kompleksen proces, zato pri tem potrebujemo znanje iz prepoznavanja škodljivcev ter biokemijskih procesov razvoja in sprememb, ki pri tem nastajajo (Kervina – Hamovič, 1990; Podlesnik, 2007).



Slika 2: Biotični ter abiotični dejavniki razkroja lesa (Kervina – Hamovič, 1990)

2.2.1 Glive

Glive (Fungi) so sistemsko samostojno kraljestvo živih organizmov, ki se po svojih značilnostih razlikujejo tako od živali, kot tudi od rastlin. Preživljajo se lahko na račun živih organizmov kot zajedavke (paraziti), simbionti (mikoriza) ali pa se hranijo s snovmi mrtvih organizmov, kot gniloživke (saprofiti) (Benko in sod., 1987). Glive najdemo prav v vseh ekosistemih od kopnega, vode in celo v zraku, kot spore.

Sestavljene so iz prehranjevalnega in razmnoževalnega dela, ki sta ločena, čeprav sta oba sestavljena iz hif. Prehranjevalni ali vegetativni del tvorijo hife, ki se sčasoma pričnejo med seboj prepletati in na ta način tvoriti podgobje oziroma micelij. Na njem se razvije razmnoževalni del ali trosnjak, ki je velikokrat viden kot klobuk oziroma goba, dejansko pa imamo tudi tukaj preplet hif. Goba je splošno razširjen izraz za trosnjak (plodišče) višjih gliv (Pohleven in Petrič, 2002).

2.2.1.1 Delitev gliv glede na spremembo barve lesa, ki jo povzročajo

Sprememba barve lesa je eden najvidnejših znakov, ki ga opazimo ob glivni okužbi. V kasnejši fazi razkroja lahko mnogokrat že po barvi lesa določimo, katera skupina lesnih gliv ga je okužila. Vendar moramo biti pri tem določanju zelo pazljivi, saj lahko podobne barvne spremembe povzročijo tudi abiotični dejavniki, kot npr. sonce, svetloba, prisotnost kovin...

2.2.1.1.1 Rjava ali destruktivna trohnoba

Glive, ki povzročajo rjavo trohnobo, označujemo kot prave razkrojevalke lesa in spadajo v pododdelek *Basidiomycotina*. Pogosteje okužijo les iglavcev, kot listavcev. Razgrajujejo celulozo in hemicelulozo, medtem ko ostane lignin skoraj nerazkrojen. Pri tem les, zaradi prebitka oksidirane lignina, postane rdečkasto rjave barve (Benko in sod., 1987).

Mehanizmi, vključeni v razkroj celuloze, še niso povsem znani. Znano pa je, da so tudi najmanjše molekule encima celuloze prevelike, da bi prodrle v kompleksne celične stene. Na podlagi teh dognanj se sklepa, da je začetni razkroj celične stene neencimski (Humar in sod., 2000).

Študije so pokazale, da obstaja vsaj 106 vrst gliv, ki povzročajo rjavo trohnobo. Najpogostejše prihajajo iz skupine bele hišne gobe (*Antrodia* sp.) ostale pa so še: kletna

goba (*Coniophora puteana*), siva hišna goba (*Serpula lacrymans*), luskasta nazobčenka (*Lentinus lepideus*), tramovki (*Gloeophyllum trabeum* in *Gloeophyllum saepiarium*) in *Oligoporus placenta* (Eaton in Hale, 1993; Humar in sod., 2000).

2.2.1.1.2 Bela ali korozivna trohnoba

Glive, ki povzročijo belo trohnobo so sposobne razgradnje lignina. Zaradi tega les postaja vse svetlejši in se pričenja vlaknasto cepiti. Na mikromorfološkem in kemijskem nivoju bi lahko ločili glive povzročiteljice bele trohnobe ter glive povzročiteljice sočasne trohnobe. Glive bele trohnobe razgradijo sprva le lignin in hemicelulozo, medtem ko povzročiteljice sočasne trohnobe hkrati v enakem obsegu razgradijo lignin, hemicelulozo in celulozo (Eaton in Hale, 1993).

Glive bele trohnobe pogosteje okužijo listavce kot iglavce. Med najpogostejšimi so: pisana ploskocevka (*Trametes versicolor*), grbasta ploskocevka (*Trametes gibbosa*), kosmata ploskocevka (*Trametes hirsuta*), dlakava slojevka (*Stereum hirsutum*), škrlatnordeča slojevka (*Chondrostereum purpureum*), pahljačica (*Schizophyllum commune*), ostrigarji (*Pleurotus* sp.) ter tudi štorovka (*Armillariella mellea*).

2.2.1.1.3 Mehka trohnoba ali soft rot

Glive mehke trohnobe sodijo v skupino zaprtotrošnic (*Ascomycotina*) in pa skupino nepopolnih gliv (*Fungi imperfecti*). Hranijo se s celulozo ter hemicelulozo (Pohleven, 2000). Glive so sposobne razkrajati polisaharide in lignin, pri čemer se zmanjšujejo tudi nekatere mehanske lastnosti. Razkroj se najprej začne na površini in se širi proti notranjosti. Les postaja vse bolj mehak, pričenja pa se tudi cepiti, tako kot pri beli trohnobi (Benko in sod., 1987).

Nekateri predstavniki gliv, kateri povzročajo mehko trohnobo so: *Cheatomium globosum*, *Lecythophora hoffmannii*, *Monodictys putredinis*...

2.2.1.1.4 Modrenje

Glive modrivke povzročajo globinsko obarvanje beljave iglavcev in listavcev. Najpogosteje okužijo les smreke, bora, topola, breze, lipe... Trosi gliv modrivk se razvijejo le, če padejo direktno na beljavo. Tudi nekateri insekti, najpogosteje podlubniki, lahko

prinesejo trose v les. Modrivke se hranijo s škrobom, beljakovinami in sladkorji, zato ne vplivajo na mehanske lastnosti lesa. Vendar pomodrel les izgubi estetskeo vrednost. Ta globinska obarvanja povzroča okoli 200 vrst gliv, med njimi sta najpomembnejši: *Aureobasidium pullans* ter *Sclerophoma pythiophila*.

2.2.1.1.5 Plesni

Plesni povzročajo le površinska obarvanja lesa. Okužen les je najrazličnejših barv. Obarvanja, ki nastanejo zaradi plesni, so največkrat neenakomerna. Le-ta so lahko pikčasta, pegasta ali razporejena v madežih. Le redko se zgodi, da bi bila obarvana celotna površina. Plesni ne predstavljajo velike ekonomske škode, saj je les tudi po njihovi okužbi še vedno uporaben. Te madeže na lesu se lahko odstrani z brušenjem. Plesni, ki povzročajo ta obarvanja, spadajo predvsem v skupine *Mucor* spp., *Rhizopus* spp., *Alternaria* spp., *Cladosporium* spp., *Fusarium* spp.,...

2.3 TRAJNOST LESA

Trajnost je čas, v katerem les ohrani svoje naravne lastnosti in je odvisna od naravne odpornosti, od načina ter mesta uporabe. Trajnost lesa lahko povečamo s tem, da se pravilno odločimo o drevesni vrsti in s tem pripomoremo k naravni zaščiti. Največji vpliv na trajnost lesa ima mesto in način uporabe, kar je lepo razvidno v preglednici 2.

Preglednica 2: Evropski razredi izpostavitve lesa glede na mesto uporabe (SIST EN 335 – 1/2, 1996)

RAZRED IZPOSTAVITVE	MESTO UPORABE	VLAŽENJE	VSEBNOST VLAGE
I.	nad tlemi, pokrito	stalno suho	pod 20 %
II.	nad tlemi, pokrito, nevarnost močenja	občasno močenje	občasno nad 20 %
III.	nad tlemi, nepokrito	pogosto močenje	pogosto nad 20 %
IV.	v tleh ali vodi	stalno izpostavljen močenju	stalno nad 20 %
V.	v morski vodi	stalno izpostavljen močenju morske vode	stalno nad 20 %

Z namenom poenostaviti izbiro zaščitnega pripravka, pa so strokovnjaki pripravili tudi preglednico 3, kjer lahko glede na razred izpostavitve določimo potencialne možne škodljivce in s tem tudi obliko preventivne zaščite.

Preglednica 3: Evropski razredi izpostavitve lesa glede na povzročitelje (SIST EN 335 – 1/2, 1992)

RAZRED	MESTO UPORABE	POVZROČITELJI OGROŽENOSTI				
		INSEKTI	GLIVE	IZPIRANJE	MODRIVKE	TERMITI
I	nad tlemi, pokrito	+	-	-	-	*
II	nad tlemi, pokrito, nevarnost močenja	+	+	-	-	*
III	nad tlemi, nepokrito	+	+	+	+/-	*
IV	na tleh ali v vodi	+	+	+	+	*
V	v morski vodi	+	-	+	-	*

* lokalno na termitskih področjih

Iz preglednice 3 je razvidno, da višji kot je razred izpostavitve, večja je možnost za delovanje posameznega škodljivca. Tako imamo pri lesu v stiku s tlemi in vodo, ne glede na to ali je morska ali sladka, največ dejavnikov, ki ogrožajo les. V III in IV razredu moramo biti pri zaščiti zato zelo previdni. Izbrati moramo rešitve, ki so okolju prijazne. V primeru da, za zaščito v III in IV razredu uporabljamo biocidne pripravke, moramo

zagotoviti, da se ne izpirajo iz lesa. Termiti pa so posebno poglavje. Nevarnost predstavljajo predvsem na območjih, kjer so že naravno prisotni.

2.4 KEMIJSKA ZAŠČITA LESA

Kadar delovanja škodljivcev ne moremo preprečiti na drugi okolju prijaznejši način, moramo uporabiti biocidne pripravke. Zaščitne pripravke lahko uporabljamo v preventivni, naknadni kot tudi kurativni zaščiti lesa. Uporabo biocidnih učinkovin v EU obravnava Direktiva o biocidih (BPD, 1998). Ta direktiva natančno predpisuje katere aktivne učinkovine lahko uporabljamo v zaščiti lesa. Veliko klasičnih učinkovin, ki so se več desetletij uporabljale v zaščiti lesa, je danes umaknjenih s trga. Med 35 dovoljenimi biocidi so tudi borove učinkovine; borova kislina, boraks in trimetilborat (Leithoff in Blancquaert, 2006).

2.5 BOR – KEMIJSKI ELEMENT

Bor je zelo razširjen kemijski element. V naravi ga najdemo v spojinah, in sicer največkrat v spojinah s kisikom ($B[OH]_3$), pa tudi z nekaterimi drugimi elementi. Najpogosteje se pojavlja, kot boraks in pa borova kislina.

Borova kislina je brez barve in vonja, pri normalnih pogojih je v obliki kristalov ali belega prahu. Je dobro topna v etanolu ter glicerolu, slabše pa v vodi. Njeno 1 % raztopino uporabljamo, kot izredno zanesljiv insekticid ter fungicid (Voh, 2001).

Boraks je v naravi v obliki belih kristalov, ki so slabo topni v vodi in netopni v alkoholu. Je brez barve in vonja ter manj škodljiv za človeka in okolje. Je odličen insekticid, fungicid, zadrževalec ognja in baktericid. Uporabljamo ga za zaščito lesa za I in II razred izpostavitve, v kombinaciji z bakrovimi učinkovinami in etanolaminom, pa tudi impregnacijo lesa v III in IV razredu izpostavitve. V samem pripravku se boraks razlikuje po mineralnih tipih strukture, katere jih poznamo več kot 80 vrst. Najpogostejši med njimi je tinkal ($Na_2 B_4O_7 \cdot 10H_2O$). Ta spojina se ne uporablja za zaščito svežega lesa (Voh, 2001).

Zgradba bora je zelo zanimiva. Je nekovina z nenavadno obliko. Poznanih je več alotropskih oblik. Najenostavnejša je zgrajena iz dvanajstih borovih atomov, razvrščenih v ogliščih pravilnega ikozaedra. Ti B_{12} -ikozaedri se nalagajo v mrežasto zgradbo, zaradi tega

ima visoko temperaturo tališča. Ta znaša 2365 K (preglednica 4). Razen pri visokih temperaturah kemijsko ni reaktiven.

Preglednica 4: Splošne ter fizikalne lastnosti bora

SIMBOL - slo. ime / ang. ime	B - Bor / Boron
Vrstno število	5
Molska masa	10,811 g/mol
Skupina / Perioda	III. S./2. P.
Agregatno stanje	Trden
Opis izgleda	Amorfen bor je rjav, netopen prah, brez vonja
Gostota	2,34 g/cm ³
T tališče	2365 K
T vrelišče	4275 K
Entalpija uparevanja	507,8 kJ/mol
Toplotna prevodnost	27,0 W/mK (pri 300 K)
Električna prevodnost	12 x 10 ⁶ om/gcm
Specifična toplotna kapaciteta	1,026 J/gK (pri 300 K)
Ionizacijska energija	800 kJ/mol
Elektroafiniteta	-23 kJ/mol

Borove spojine imajo danes velik pomen v našem prostoru. Prisotne so praktično povsod. Najdemo jih v rastlinah, prehrambeni industriji, gospodinjstvu... V vsakdanjem življenju so borove spojine prisotne v različnih kozmetičnih ter farmacevtskih izdelkih, kot npr. milu, kreme po britju, pralni praški,... Izredno velik pomen imajo tudi v transportni industriji, kot dodatek gorivu oz. olju. Njihova uporaba je prisotna v športu in v proizvodnji steklenih vlaken. Velik delež borovih spojin se porabi tudi za zaščito lesa in lesnih tvoriv.

Borove spojine v zaščitnih pripravkih imajo naslednje prednosti (Voh, 2001; Enviroteh Ventures International, 2006):

- ⇒ že v majhnih količinah so učinkovite za večino lesnih škodljivcev;
- ⇒ učinkovito deluje proti termitom ter glivam, ki povzročajo belo in rjavo trohnobo;
- ⇒ so nehlapne, brezbarvne, kar omogočajo nadaljnjo površinsko obdelavo;
- ⇒ barva lesa po impregniranju ostane naravna;
- ⇒ ob primerni površinski zaščiti je impregniran les uporaben tudi za večino izdelkov na prostem, ki niso v stiku z zemljo;
- ⇒ borove spojine ne vplivajo na mehanske lastnosti lesa, na lepljenje ter nadaljnjo obdelavo;
- ⇒ zmanjšujejo korozivnost kovinskih materialov;
- ⇒ so učinkovit zadrževalec gorenja lesa;
- ⇒ pri uporabljenih koncentracijah so precej manj škodljive od drugih zaščitnih sredstev;

Pomanjkljivost borovih spojin (Voh, 2001):

- ⇒ bor se slabo fiksira v lesu, se iz njega izpira ali zaradi visoke zračne vlage prihaja na površino;
- ⇒ borove spojine ne ščitijo lesa pred plesnimi, zato se velikokrat uporablja v kombinaciji z ostalimi zaščitnimi sredstvi;
- ⇒ borove spojine so slabo topne v vodi, zato je potrebno pri razredčevanju segrevanje;
- ⇒ odslužen zaščiten les je težko gorljiv;

2.6 ZGODOVINA UPORABE BOROVIH SPOJIN ZA ZAŠČITO LESA

Že zgodovina je pokazala, da borove spojine spadajo med najvarnejše biocide za zaščito lesa. Leta 1913 se je pričela industrijska uporaba borovih soli. Prvi jih je uporabil Wollman. V Evropi so se prve resne raziskave uporabe borovih spojin pričele, ko so les pričeli ogrožati napadi insektov iz skupine kozličkov (*Hylotrupes* sp.) in skupine trdoglavcev (*Anobium* sp.). Takrat so prvič potrdili, da je učinkovitost bora podobna učinkovitosti fluoridov (Freitag in Morell, 2005).

Okoli leta 1950 so razvili zaščitno sredstvo na osnovi bakrovih, kromovih in borovih spojin (CCB). Pripravek CCB je bil razvit za impregnacijo slabo impregnabilnih lesnih vrst, kot je smrekovina, kajti borove spojine dobro difundirajo v les. V tem sistemu sta bor in baker aktivni učinkovini, krom pa deluje kot vezivo. To sredstvo se še dandanes uporablja za kotelsko impregnacijo lesa. Predvsem za les, ki se uporablja v III in IV razredu izpostavitve. CCB se je uveljavil, kot nadomestek za pripravek CCA (baker, krom, arzen), ki so ga zaradi toksičnosti arzena umaknili iz uporabe. Zaradi težav povezanih z ravnanjem z odsluženim impregniranim lesom, se tudi pripravek CCB počasi umika iz uporabe. Uporaba zaščitnih pripravkov, ki vsebujejo kromove spojine, je dovoljena le še za globinsko impregnacijo v registriranih obratih.

2.7 TOKSIČNOST BORA

Bor je trivalenten kemijski element, ki je zelo razširjen po vsej zemeljski obli. Najdemo ga tako v zemlji, vodi, rastlinah in živalih. Po nekaterih podatkih je njegov delež v okolju okoli 0,001 % (The Merck Index, 1989).

Povprečna koncentracija bora v zemlji znaša med 3 in 10 mg/kg zemlje (Adams, 1964; Muetterties, 1967). Pitna voda vsebuje med 0,05 in 0,3 mg/L, morska pa okoli 4,5 mg/kg bora (Weast, 1983; Jenkins, 1980). Povprečne koncentracije bora v vodi so lahko v največji meri odvisne od lokacije. To je dobro razvidno iz podatkov, ki so jih dobili v bližini rudnikov bora v Turčiji. V teh predelih je koncentracija bora v pitni vodi med 21 in 29 mg/L.

Bor se uporablja tudi kot dodatek in sicer ga poznamo kot konzervans pri prehrabnih izdelkih. Dovoljeni dnevni navzem bora se močno razlikuje od posameznika. Strokovnjaki imajo že o povprečnem dnevnem vnosu bora v telo različne vrednosti. Povprečni dnevni

navzem bora v telo človeka s prehrano v ZDA po navedbah Murraya (1995) znaša 1,5 mg/dan. Rainer (1992) ocenjuje, da je povprečni dnevni vnos še nekoliko višji, in sicer od 1 do 3 mg/dan. Roper (1992) navaja še višje koncentracije, ki jih dnevno vnesemo v telo in to so od 10 do 25 mg/dan. Uporabniki zaužijejo bor predvsem z uživanjem sadja in zelenjave (Lesar in Humar, 2007a).

Akutna oralna toksičnost (LD_{50}) borove kisline je primerljiva s toksičnostjo kuhinjske soli. Pri podganah LD_{50} znaša med 3000 in 4000 mg/kg telesne teže, boraksa pa 4500-6000 mg/kg telesne teže (Weir in Fisher, 1972). V preglednici 5 so podane akutne oralne toksičnosti (LD_{50} , oralno, podgane) izbranih spojin, ki se uporabljajo za zaščito lesa in še nekatere običajne snovi.

Preglednica 5: Akutne toksičnosti izbranih spojin LD_{50} , oralno, podgane (Rainer, 1993. Borates as wood preservatives-an environmental, health and safety perspective)

SPOJINA /KEMIKALIJA	LD_{50} (mg/kg telesne teže)	UPORABA
Absolutni alkohol	10600	Pijača, dezinfekcija
Aceton	10,7	Topilo
Aspirin	1000	Zdravilo
Kofein	355	Poživilo
Nikotin	0,3	Tobak
NaCl	3750	Sol
Vitamin A	323	Vitaminski pripravek
PCP*	27	Fungicid
Boraks	4500 - 6000	Insekticid
Borova kislina	3000 - 4000	Insekticid
Cianid	6	Strup
DDT*	113	Insekticid
Arzen (III) oksid	48	Insekticid, fungicid

* DDT – diklordifeniltrikloreten; včasih se je uporabljal za zaščito lesa, danes je v EU prepovedan

* PCP – pentaklorfenol; včasih se je uporabljal za zaščito lesa, danes je v EU prepovedan

Iz podatkov navedenih v preglednici 5 je razvidno, da je akutna toksičnost borovih spojin primerljiva s toksičnostjo kuhinjske soli (NaCl). V primerjavi z ostalimi vsakodnevno uporabljenimi kemikalijami, je akutna toksičnost borovih spojin najnižja.

Neproblematični so tudi podatki o rakotvornosti borovih spojin. Študije so izvajali na podganah, ki so jih dve leti hranili z borati, so pokazale, da borova kislina, kot tudi boraks

nista kancerogena (Weir in Fisher, 1972). Tudi eksperimenti z borovo kislino na miših so pokazali, da borova kislina ni mutagena ali genotoksična. Na podlagi dostopnih podatkov lahko borove spojine uvrščamo v skupino varnih kemikalij. Bor postane strupen za sesalce šele pri koncentracijah, ki so nekajkrat višje od tistih, ki jim je izpostavljen povprečen uporabnik.

2.8 BIOCIDNE LASTNOSTI

Borove spojine so že pri nizkih koncentracijah učinkoviti fungicidi ter insekticidi. Do sedaj so dodobra spoznali in raziskali delovanje bora proti glivam, insektom in tudi termitom. Po zbranih in znanih podatki še nobena gliva razkrojevka ni izkazala tolerance na borove spojine, niti ne sposobnosti razkroja z borovimi spojinami zaščenega lesa (Dickinson in Murphy, 1989). To tezo smo poskušali v nadaljevanju potrditi.

2.8.1 Delovanje bora proti glivam razkrojevalkam, modrivkam ter plesnim

Laboratorijski testi so pokazali, da je mejna vrednost za različne glive primerljiva in znaša $2,0 \text{ kg/m}^3$ BAE (boric acid equivalent) (Beachler in Roth, 1956; Becker, 1959; Carr, 1964; Drysdale, 1994). Nekateri avtorji, kot na primer Jonge (1987) navajajo, da je pisana pleskevka (*Trametes versicolor*) relativno odporna na borove pripravke in da je mejna vrednost pri tej glivi med $1,8$ in $3,0 \text{ kg/m}^3$ BAE. Freitag in Morrell (2005) poročata, da mejne vrednosti za to glivo ni mogoče dokazati, kajti izguba mase naj bi bila zanemarljivo majhna. Rezultat poizkusa pa je v veliki meri odvisen od lastnosti uporabljene lesne vrste. Na primer Freitag in Morrell (2005) sta teste izvajala na vzorčkih jelke, medtem ko je Jonge (1987) preizkušance izdelal iz hrastovine. Pregled posameznih mejnih vrednosti, glede na tip testa in glive je prikazan v preglednici 6. Iz prikazanih rezultatov je dobro razvidno, da so mejne vrednosti pri testih, kjer so bili testirani vzorci v stiku z zemljo, višje kot pri testih, ki so potekali na hranilnem gojišču. Verjetno se je pri vzorcih, ki so bili v stiku z zemljo, del borovih učinkovin med izpostavitvijo izpral iz lesa, kar je navidezno zmanjšalo njegovo učinkovitost.

Preglednica 6: Mejna vrednost borove (H_3BO_3) kisline za različne glive

Gliva	Koncentracija (%)	Navzem (kg/m^3) BAE*	Vrsta lesa	Test	Vir***
Navadna tramovka (<i>Gloeophyllum trabeum</i>)	0,075 - 0,1	0,52 - 0,72	-	razkroj lesa na agarju	Becker (1959)
	0,1 - 0,13	0,52 - 0,72	-	**	Carr (1964)
	0,17 - 0,27	0,80 - 1,28	bor	v kozarcu z zemljo	Beachler in Roth (1956)
	0,23 - 0,60	1,12 - 2,88	hrast	v kozarcu z zemljo	Beachler in Roth (1956)
	0,48	2,0	bor	v stiku z zemljo	Harrow (1950)
	< 0,3	< 1,6	bor	v kozarcu z zemljo	Findlay (1956)
		0,40 - 0,44	jelka	razkroj lesa na agarju	Freitag in Morrell (2005)
Bela hišna goba (<i>Antrodia vaillantii</i>)	0,3	1,60	bor	v kozarcu z zemljo	Findlay (1956)
			-		
Bela hišna goba (<i>Postia placenta</i>)	0,24	1,0	bor	v stiku z zemljo	Harrow (1950)
	0,1	0,5	bor	v kozarcu z zemljo	Findlay (1956)
	0,07 - 0,17	0,32 - 0,80	bor	v kozarcu z zemljo	Beachler in Roth (1956)
	0,10 - 0,13	0,48 - 0,64	hrast	v kozarcu z zemljo	Beachler in Roth (1956)
Pisana ploskocevka (<i>Trametes versicolor</i>)	0,10 - 0,20	1	bukev	v kozarcu z zemljo	Findlay (1956)
	0,23 - 0,40	1,12 - 1,92	hrast	v kozarcu z zemljo	Beachler in Roth (1956)
Kletna goba (<i>Coniophora puteana</i>)	0,48	2,0	bor	v stiku z zemljo	Harrow (1950)
	0,2	1,0	bor	v kozarcu z zemljo	Findlay (1956)
	0,075 - 0,1	0,53 - 0,73	-	razkroj lesa na agarju	Becker (1959)
	0,1 - 0,17	0,53 - 0,75	-	**	Carr (1964)
Siva hišna goba (<i>Serpula lacrymans</i>)	< 0,3	< 1,6	bor	v kozarcu z zemljo	Findlay (1956)
	0,05 - 0,075	0,36 - 0,54	-	razkroj lesa na agarju	Becker (1959)
	0,07 - 0,10	0,36 - 0,54	-	**	Carr (1964)
Luskasta nazobčenka (<i>Lentinus lepideus</i>)	0,10	0,50	bor	v kozarcu z zemljo	Findlay (1956)
	0,17 - 0,27	0,80 - 1,28	bor	v kozarcu z zemljo	Beachler in Roth (1956)
	0,075 - 0,2	0,54 - 1,4	-	razkroj lesa na agarju	Becker (1959)
	0,10 - 0,30	0,54 - 1,4	-	**	Carr (1964)
Vrsta iz družine luknjičark (<i>Polyporus rugulosus</i>)	0,25 - 0,30	1,5 - 1,6	bukev	v kozarcu z zemljo	Findlay (1956)

* BAE (boric acid equivalent – enakovredno borovi kislini, BAE kg/m^3 izračunana na osnovi gostote lesa 450 kg/m^3)

** Nemška standardna metoda iz leta 1959

*** Citirano po Lesar B., Humar M. 2007b

Sama učinkovitost borovih spojin je odvisna od deleža bora v posameznih spojinah. Delež bora v boraksu je 11,34 %, v borovi kislini pa 17,48 % zato je mejna vrednost borove kisline višja od boraksa. Znanstveniki pa so odkrili, da na učinkovitost lahko vpliva tudi pH vrednost, in sicer bolj učinkovita so sredstva z visoko vrednostjo pH, kar pojasnjuje vzroke za večjo relativno učinkovitost natrijevega tetraborata v primerjavi z borovo kislino.

Kakorkoli, borove spojine ne učinkujejo le na glive razkrojevalke, temveč tudi na glive modrivke. Na splošno so mejne vrednosti borovih učinkovin za glive modrivke bistveno večje, kot za glive, ki razkrajajo les. Becker (1959) navaja, da je za preprečevanje rasti plesni potrebno med 15 in 17 kg/m³ borove kisline oz. boraksa. Po drugi strani pa smo v literaturi zasledili tudi nižje vrednosti Lloyd (1996) navaja, da je za zavrtje plesni dovolj le 2 kg/m³ BAE. Po naših izkušnjah pa borovi pripravki celo pospešijo rast plesni.

2.8.2 Insekticidno delovanje borovih spojin

Bor je za insekte želodčni in ne kontaktni strup, zato je njegovo delovanje precej bolj počasno, kot npr. pri glivah. Na insekticidnost močno vpliva starost larv. To se je dobro izkazalo na primeru pri hišnem kozličku (*Hylotrupes bajulus*). Pri testiranju učinkovitosti borovih učinkovin so opazili, da celo 10 kg/m³ boraksa oz. borove kisline ni bilo dovolj, da bi uničili larve hišnega kozlička, kajti srednje velike larve so sposobne preživeti tudi do štiri tedne brez hrane. Poleg tega se larve pomikajo naprej in so se sposobne izogniti impregniranemu delu lesu.

Ko so eksperiment ponovili so jajčne larve vstavili v impregniran les. Pri tem eksperimentu je bilo dovolj že 0,36 kg/m³ BAE (boric acid equivalent – enakovredno borovi kislini) za smrtnost teh larv (Jonge, 1987).

Poleg hišnega kozlička so trdoglavci najpomembnejši tercialni lesni insekti v Evropi, zato so številne teste izvedli tudi na teh škodljivcih. Spiller (1948) poroča, da je ta vrednost za jajčno larvo navadnega trdoglavca (*Anobium punctatum*) že 0,2 kg/m³. Pri starejših larvah pa se je ta vrednost povečala na 5 kg/m³ BAE. S poskusi na še starejših larvah so prišli še do višjih mejnih vrednosti. Za 100 % smrtnost larve v 12 – tedenskem poizkusu je potrebno kar 17 kg/m³.

Še težje kot hišne kozličke oziroma trdoglavce je z borovimi učinkovinami zatirati termite. Termiti so zelo obsežna skupina insektov. Škodo na lesu povzroča več kot 100 vrst, vsaka izmed njih pa se na borove učinkovine odziva drugače. Priporočen navzem borove kisline, ki prepreči napade termitov, je okoli 4,5 kg/m³. Običajno se navzemi razlikujejo glede na pokrajino, in prisotnost termitske vrste.

Borove spojine so izkazale veliko učinkovitost tudi pri zaščiti nekaterih vrst listavcev v Avstraliji. Raziskave so pokazale, da je beljava listavcev, impregnirana z borovo kislino, popolnoma varna pred napadom parketarjev (*Lyctus* sp.) (Lesar in Humar, 2007b).

2.9 DIFUZIVNOST TER IZPIRANJE BORA V LESU

Borove spojine so znane po tem, da se slabo vežejo v les, po drugi strani pa so dobro topne v vodi. Posledica tega je intenzivno izpiranje borovih spojin iz lesa. Zato se borove spojine, kot samostojno zaščitno sredstvo uporabljajo le v prvem ter drugem razredu izpostavitve, kjer je manjša nevarnost močenja (preglednica 2). Znano je, da bor v impregniranem lesu, ob povišani vlažnosti, difundira iz mesta z višjo koncentracijo na mesto z nižjo koncentracijo. Na samo difuzijo vplivajo različni dejavniki. Nekatere lahko kontroliramo, drugih ne. Med naj pomembnejše dejavnike na katere lahko vplivamo prištevamo: vlažnost lesa, temperaturo, koncentracija raztopine ter čas trajanja difuzije. Med nekontrolirane pa spadajo anatomska zgradba, fizikalne karakteristike lesa ter kemična zgradba (Lesar in Humar, 2007b).

Bor najbolj difundira v lesu z vlažnostjo med 40 in 60 %. Pri vlažnosti, ki je nižja od TNCS (26 %), ali pa višja od 61 % se difuzija bistveno zmanjša. Zaradi dobre difuzivnosti, globina penetracije s časom narašča. V literaturi smo zasledili, da maksimalna globina prodora znaša okoli 4 cm in jo dosežemo po 25 dneh difuzije (Lesar in Humar, 2007). Dobra difuzija bora omogoča globoko penetracijo v les, kar pomeni učinkovito globinsko zaščito. Po drugi strani pa je dobra difuzija slabost, saj se zaradi tega bor iz lesa močno izpira. Intenzivnost izpiranja je v dobri korelaciji z vlažnostjo lesa. Višja kot je vlažnost, intenzivnejše je izpiranje. Zato so smo izpiranje poizkušali zaustaviti z hidrofobnimi premazi na površini, ki v prvi vrsti preprečujejo navlaževanja lesa. Peylo in Willeitner (1995) sta ugotovila, da imajo ta sredstva zaviralni učinek, vendar pa navlaževanja v celoti ne zaustavijo. Ugotovila sta, da je bil učinek največji na začetku, s časom pa se zmanjšuje, saj difuzije vode ne moremo zaustaviti, lahko jo samo upočasnimo.

2.10 BOROVI PRIPRAVKI V ZAŠČITI LESA

Borove pripravke se najpogosteje ne uporablja samostojno. Brez dodatkov jih uporabljamo edino v prvem razredu izpostavitve (podstrešja). V Sloveniji so na trgu trije komercialni borovi pripravki, in sicer Belbor (Belinka), Borosol (Regeneracija) ter Silvanol GB (Silvaprodukt). Poleg tega pa borove spojine v nekaterih pripravkih nastopajo le kot insekticid oziroma sekundarni fungicid. Najbolj je poznan pripravek CCB. Poleg tega pa borovo kislino najdemo tudi v novi generaciji pripravkov na osnovi bakra in etanolamina.

V Sloveniji sta dostopna dva takšna pripravka in sicer Kuproflorin (Regeneracija) in Silvanolin (Silvaprodukt).

Poleg klasičnih pripravkov je na trgu dostopen tudi trimetilborat, ki ga v les vnesemo s posebnim plinskim postopkom. Pripravek je v vakuumu hlapen in v les prodira kot plin, zato ima dobre lastnosti prodiranja tudi v sabo permeabilne drevesne vrste. Pri tem postopku je zelo pomembna lesna vlažnost v trenutku vnosa. Priporočljiva je od 6 do 8 %. Če je vlažnost previsoka, trimetilborat zreagira z vodo že na površini, pri preveč suhem lesu pa sploh ne pride do reakcije med pripravkom ter vodo. Ta način impregnacije je še posebej primerna za lesene konstrukcije, saj zaradi impregnacije s plinom ne prihaja do krčenja oziroma nabrekanja, kot pri klasičnih postopkih zaščite (Lesar in Humar, 2007b).

2.11 METODE ZA DOLOČANJE FUNGICIDNIH LASTNOSTI KEMIČALI

Naloga dobrih zaščitnih sredstev je, da dolgo ščitijo les pred okužbo z glivami ter napadom insektov. Ta čas pa lahko traja tudi več deset let in nesmiselno ter ekonomsko neupravičeno bi bilo določati učinkovitost potencialnih aktivnih učinkovin s testiranjem impregniranih končnih izdelkov v uporabi. Da bi se izognili dolgotrajnemu čakanju, uporabljamo razne hitre laboratorijske teste:

- ⇒ presejalni ali preliminarni testi
- ⇒ standardni laboratorijski testi
- ⇒ terenski testi
- ⇒ »service« testi (testi končnih izdelkov v uporabi)

2.11.1 Presejalni ali preliminarni testi

Namenjeni so za informativno določanje učinkovitosti snovi proti različnim vrstam gliv. Med te teste uvrščamo test na hranilni podlagi ter test na filtrirnem papirju (Benko, 1986). Pri testu na hranilni podlagi dodamo fungicid v še tekočo hranilno podlago. Ko se hranilno gojišče strdi ga inokuliramo z micelijem izbrane glive. Učinkovitost potencialnega fungicida določamo z dnevnim spremljanjem priraslega micelija glive in ga primerjamo s priraščanjem micelija na substratu brez dodatnega fungicida (slika 3).



Slika 3: Presejalni test v epruveti ter v petrijevki

Test na filtrirnem papirju poteka podobno, le da tu z zaščitnim sredstvom prepojimo koščke filtrirnega papirja, jih posušimo in položimo na že strnjeno hranilno podlago ter jo inokuliramo z izbrano kulturo gliv (slika 4). Učinkovitost fungicida določamo z ugotavljanjem inhibicijske cone okoli filtrirnega papirčka.



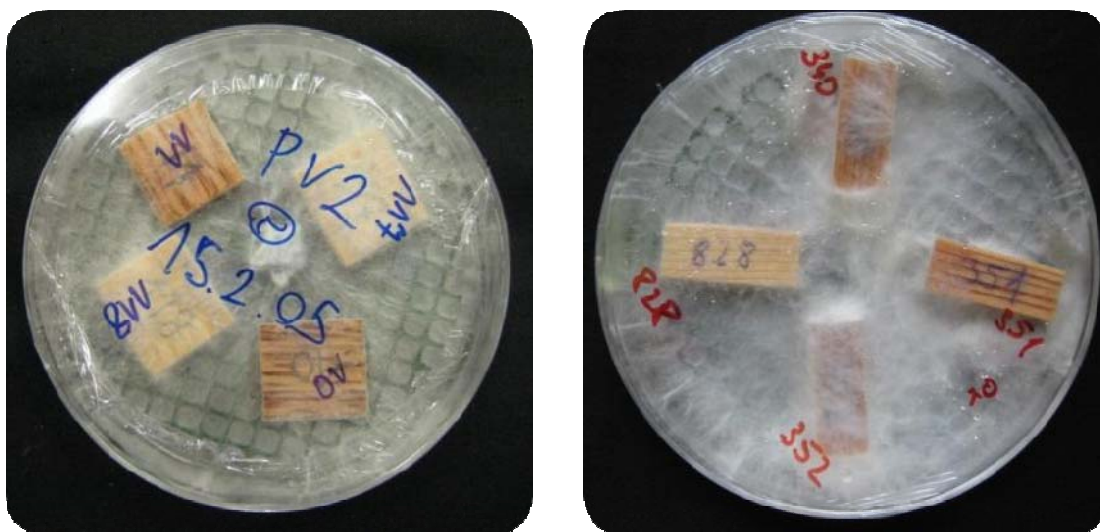
Slika 4: Prikaz testa s filtrirnim papirjem

Prednost presejalnih testov je kratek čas in možnost hkratnega testiranja več spojin ter majhni porabi testiranih potencialnih fungicidov. Zato so ti testi cenejši in hitrejši ter tako iz nadaljnje uporabe lahko hitro izločimo neaktivne kemične substance. Pomanjkljivost teh

metod je, da testiranje ne poteka na lesu, temveč na hranilnem gojišču, kjer so hraniva lahko dostopna.

2.11.2 Standardni laboratorijski testi

Če presejalni test potrdi fungicidno delovanje kemičnega sredstva že pri razmeroma nizki koncentraciji, sledi laboratorijski test z majhnimi lesnimi vzorčki. Lesne vzorce predpisane velikosti, impregniramo z zaščitnim pripravkom različnih koncentracij. Nato vzorce postavimo na hranilno gojišče, ki ga je že prerasla gliva. Po določenem času vzorce odstranimo, jih očistimo in tehtamo. Izgubo mase zaščitnih vzorcev primerjamo z izgubo mase kontrolnih vzorcev. Za testiranje ponavadi uporabljamo več vrst gliv. Namesto standardne velikosti, lahko uporabimo tudi vzorce manjših dimenzij. S tem skrajšamo čas izpostavitve (slika 5).



Slika 5: Prikaz testa na dejanski vzorcih

2.11.3 Terenski testi

Terenski testi potekajo pri spremenljivih pogojih v naravi. Rezultati so manj enotni kot pri standardnih, vendar so zato bolj realni. Zaščitni les je izpostavljen večjemu številu različnih organizmov, ne pa le enemu kot pri testih v laboratoriju. Testiramo lahko razkroj lesa v stiku z zemljo ali vgrajenega nad zemljo ter tudi površinska obarvanja lesa. Pomanjkljivost terenskih testov je tudi v tem, da se uporabljajo navadno manjše število

testnih vzorcev, ki se prekomerno vlažijo, kar pospešuje okužbo z mikroorganizmi. Ti testi trajajo sorazmerno dolgo (3 do 10 let) (slika 6).



Slika 6: Prikaz terenskega testa v Hamburgu (foto: Miha Humar)

2.11.4 »Service« testi

Te teste pričnemo izvajati takoj, ko se prične komercialna uporaba zaščitnega sredstva. Sredstvo preizkusimo pri normalnih velikostih lesnih izdelkov in v naravnih pogojih. Takšni testi dajejo najbolj realne podatke o kvaliteti samega zaščitnega sredstva, vendar trajajo najmanj 15 let. Nezadovoljivi rezultati, dobljeni s temi testi, lahko povzročijo umik komercialnega zaščitnega pripravka s tržišča.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 MATERIALI

Za izdelavo dveh testov in sicer mini blok metode ter presejalnega testa smo uporabili naslednje laboratorijske pripomočke:

- ⇒ rastni komori (Kambič, LTH)
- ⇒ sušilnik (Kambič)
- ⇒ eksikator
- ⇒ avtoklav (Sutjeska)
- ⇒ vakuumsko tlačno komoro (Kambič)
- ⇒ elektronske tehtnice (Sartorius)
- ⇒ špiritni gorilnik
- ⇒ laminarij oz. brezprašna komora (Iskra)
- ⇒ grelna plošča
- ⇒ pipete (Eppendorf)
- ⇒ čaše (Brand)
- ⇒ bučke
- ⇒ valji
- ⇒ epruvete
- ⇒ petrijevke
- ⇒ gojitveni kozarci

3.1.1 Uporabljen les

Za izvajanje mini blok testa smo uporabili beljavo lesa smreke (*Picea abies*) s povprečno gostoto 450 kg/m^3 . Les je bil brez kakršnih koli napak npr. smolnih kanalov, grč,... Izdelali smo 270 vzorčkov radialno orientiranih. Vzorčki so bili naslednjih dimenzije $1 \text{ cm} \times 1,5 \text{ cm} \times 3 \text{ cm}$. Vsak vzoreček je bilo oštevilčen za kasnejšo identifikacijo.

3.1.2 Uporabljena kemikalija

V diplomski nalogi smo se osredotočili na ugotavljanje fungicidnih lastnosti borove kisline:

- ⇒ Ime: borova kislina
- ⇒ Kemijska formula: H_3BO_3
- ⇒ Oznaka: Ba
- ⇒ Molska masa: 61,83 g/mol
- ⇒ Proizvajalec: Merck

Borova kislina je končni produkt hidrolize velikega števila borovih spojin. Pridobivajo jo lahko npr. iz boraksa in žveplove(VI) kisline;



V vroči vodi je lahko topna, ker so molekule borove kisline povezane le z vodikovimi vezmi in ne z močnimi kovalentnimi vezmi B-O, značilnimi za okside. Borova kislina lahko kondenzira, zato je znanih več boratov:

- ⇒ ortoborati, ki vsebujejo v kristalni strukturi planarne BO_3^{3-} anione;
- ⇒ metaborati, ki so produkti polikondenzacije borove kisline;
- ⇒ poliborati, ki imajo zelo zapletene strukture. Najpomembnejši borat, ki spada med poliborate, je boraks $\text{Na}_2[\text{B}_4\text{O}_5(\text{OH})_4] \cdot x\text{H}_2\text{O}$;

3.1.3 Testne glive

Za izvajanje obeh testov smo uporabili devet vrst gliv. Iz vsake skupine, ki povzročajo določeno vrsto poškodb smo izbrali nekaj značilnih predstavnikov. Kot predstavnici modrivk smo uporabili glivi *Aureobasidium pullulans* in *Sclerophoma pythiophila*, glive bele trohnobe *Trametes versicolor*, *Hypoxylon fragiforme* ter predstavnike rjave trohnobe *Antrodia vaillantii*, *Gloeophyllum trabeum*, *Coniophora puteana*, *Lentinus lepideus* ter *Serpula lacrymans*. Izolate gliv za testiranje smo dobili iz zbirke gliv na Katedri za patologijo in zaščito lesa, Oddelka za lesarstvo na Biotehniški fakulteti (preglednica 7).

Preglednica 7: Glive razkrojevalke lesa, uporabljene pri metodah testiranja

LATINSKO IME	OKRAJŠAVA	POREKLO	TIP TROHNOBE
<i>Antrodia vaillantii</i>	Pv	BF (ZIM L037)*	rjava
<i>Gloeophyllum trabeum</i>	Gt	BF (ZIM L017)*	rjava
<i>Coniophora puteana</i>	Cp	BF (ZIM L120)*	rjava
<i>Lentinus lepideus</i>	Lel	BF (ZIM L021)*	rjava
<i>Serpula lacrymans</i>	Sl	BF (ZIM L057)*	rjava
<i>Trametes versicolor</i>	Tv	BF (ZIM**)	bela
<i>Hypoxylon fragiforme</i>	Hf	BF (ZIM L108)*	bela
<i>Aureobasidium pullulans</i>	Aup	BF (ZIM L060)*	modrenje
<i>Sclerophoma pythiophila</i>	Scp	BF (ZIM L070)*	modrenje

* Raspor in sod., 1995

** pred kratkim izoliran sev

3.1.4 Opis gliv

Te glive so bile izbrane, kot najpomembnejše predstavnice posameznega tipa trohnobe, ter podatkov o njihovi odpornosti na bakrove spojine.

3.1.4.1 *Trametes versicolor* – pisana ploskocevka

Gliva sodi med najbolj razširjene vrste na svetu. Najdemo jo predvsem na lesu listavcev (bukev, hrast, kostanj, robinija), le redko na iglavcih (bor, smreka). Zelo pogosta je na hlodovini, najdemo pa jo tudi na štorih, jamskem lesu, pragovih, drogovih, ograjah,... Stoječa drevesa okuži le, če so pred tem že odmrli.

Trosnjaki so različnih barv in oblik. Najpogostejše so konzolaste oblike. So enoletni, kožasti in tanki. Lahko so beli, rjavi, rdečkasti, črni. Z zgornje strani so drobno dlakavi in izrazito v pasovih. Trosišče je belo ali rumenkasto in ima zelo majhne pore. Trosi so cilindrični, brezbarvni. Optimalna temperatura za razvoj je 30 °C. Gliva je zelo odporna proti dolgotrajni suši in visokim temperaturam.

Povzroča značilno belo trohnobo beljave in, zlasti pri bukovini, hiter razkroj lesa. V laboratorijskih razmerah bukov les po štirih mesecih izgubi več kot 35 % mase. (Kervina – Hamovič, 1990)

3.1.4.2 *Antrodia vaillantii* – bela hišna goba

Je precej razširjena hišna goba v Evropi. Pojavlja se tudi kot razkrojevalka na lesnih izdelkih. Najdemo jo tudi na lesu na prostem (hlodovina v gozdu) ali na lesu v stiku z zemljo (drogovi, pragovi...). Večinoma jo najdemo na vlažnem lesu iglavcev, zlasti če se vlaga nabira v obliki kapljic. Lahko je prisotna tudi v prostorih, kjer prihaja do občasnega navlaževanja (kopalnica), sopare (kuhinja) in talne vode (kleti).

Na okuženi strani lesa se pojavi belo podgobje, ki ohrani barvo, tudi ko se goba postara. Goba se razširja, kot pozimi ledene roče na okenskih steklih. Iz podgobja se razvijejo beli rizomorfi, ki so lahko debeli do 4 mm. Ti ostanejo prožni in se ne lomijo niti takrat, ko so posušeni. Trosnjaki so kožasti. Mladi so beli, ko pa ostarijo postanejo rumenkasti.

Goba raste v temperaturnem območju od 3 do 36° C. Optimalni pogoji za razvoj bele hišne gobe so temperatura 27 °C in vlaga lesa 40 %. V laboratorijskih razmerah zraste podgobje tudi 12,5 mm dnevno. Bele hišne gobe prenesejo tudi do pet let trajajoče sušno obdobje in nato spet ožive.

3.1.4.3 *Gloeophyllum trabeum* – navadna tramovka

Tramovke so zelo razširjene v Evropi, Avstraliji, na Novi Zelandiji, Afriki in S. Ameriki. Okužuje les iglavcev (smreka, bor) in listavcev (bukev, robinija, cipresa). Najdemo jo predvsem na lesnih konstrukcijah, mostovih, okenskih okvirjih, vratih, zunanjih talnih oblogah...

Aktivni trosnjaki so temno rumene barve. Lamele imajo nepravilno obliko in razpored. Trosi so brezbarvni, cilindrični. V začetku je klobuk temno rumen, s starostjo potemni, včasih pa tudi zbledi. Les, okužen z navadno tramovko, je v začetku obarvan rumeno, v končni fazi razkroja pa je les rjav lahko celo rdeč. Optimalna temperatura za razvoj je 35 °C, maksimalna pa 40 °C. Trosi ohranijo kaljivost tudi po enem letu v suhem stanju. Poznamo jo kot zelo nevarno razkrojevalko stavbnega lesa.

3.1.4.4 *Hypoxylon fragiforme* – ogljena kroglica

Ogljena kroglica je ena redkih vrst gliv, ki povzroča belo trohnobo in spada med zaprtotrošnice. Je zelo pogost primarni saprofit bukve in drugih listavcev. Na lesu povzroča piravost, to je netipična bela mozaična trohnoba oz. obarvanje lesa v pasovih, ki so med seboj ločeni s temnimi črtami. Trošnjaki imajo obliko čvrstih, trdnih kroglic, premera (2 - 7) mm.

3.1.4.5 *Lentinus lepideus* – žvepleni luknjičar

Je precej pogost v Evropi in S Ameriki. V naravi ni pogost, vendar pa se pojavlja na tehničnem delu lesa iglavcev. Najpogostejše nahajališče je na okenskih okvirjih, strešnih konstrukcijah, mostovih, podbojih vrat,... Lahko ga najdemo tudi na lesnih skladiščih, predvsem na starih borovih hlodih.

Trošnjak je sestavljen iz beta in klobuka. Velik je od 5 do 10 cm. Klobuk je lijast, robovi pa so upognjeni navzdol. Je belkast in pokrit z rjavkastimi luskami. Mlad trošnjak je v mladosti mesnat, pozneje oleseni. Trosnica ima obliko lamel, ki prehajajo na bet in so na robovih resasto nazobčene. Trosi so brezbarvni.

Optimalna temperatura je 27 °C. Gliva je zelo odporna na visoke temperature (max. 40 °C). Povzroča rjavo prizmatično trohnobo iglavcev. Les postane temnejše barve, očitno pa so vidne tudi razpoke v vseh treh smereh. Trhel les ima vonj po vaniliji. Proces trohnenja je izredno hiter. Gliva razkroji predvsem celulozo, lignin pa pusti pri miru.

3.1.4.6 *Serpula lacrymans* – siva hišna goba

Siva hišna goba ali solzivka je razširjena po vsej Evropi, zlasti v področjih z relativno višjo zračno vlago in manjšim številom sončnih dni. Najpogosteje jo najdemo v starih stavbah. Okužuje les iglavcev in listavcev. Ne omejuje se le na stavbni les in pohištvo, temveč okuži tudi druge predmete, ki vsebujejo celulozo (knjige, tkanine, papir, tapete...)

Trošnjak je blazinast, sprva mesnat, nato kožast in s celo površino priraščen na podlago. Mladi trošnjaki so blede rjavi, s starostjo postanejo rdečkasto rjavi. Rob ostane vselej svetel, skoraj bel. Trosovnica je na zgornji strani nagubana, v njej pa se razvijejo trosi. Velikost trošnjaka je od nekaj cm pa do 1,5 m. Trosi so eliptični, veliki od 9 – 10 do 5 – 6 µm.

Na površini se pojavljajo kapljice vode, po tem pa je goba dobila tudi ime (*lacryma* – lat. solza). Kapljice so produkt kemične razgradnje celuloze. Zato se ta goba lahko razvija tudi v popolnoma suhem lesu, saj si vlago ustvari sama. Solzivka se dobro razvija v mračnem, vlažnem in ne zračnem prostoru. Optimalna vlaga je 30 %. Temperatura, ki je primerna za razvoje je 23 °C. Občutljiva je na dnevno svetlobo, preprih in zlasti na visoko ter nizko temperaturo.

Les, okužen s to gobo, se takoj spremeni. Gliva povzroča rjavo, sušno ter destruktivno trohnobo. Siva hišna goba je najnevarnejša razkrojevalka vgrajenega gradbenega lesa. Škode ne povzroča le na lesu, ampak je nevarna tudi za beton, opeke ter materiale.

3.1.4.7 *Coniophora puteana* – kletna goba

Kletna goba je razširjena predvsem v Evropi. Okužuje vse vrste lesa listavcev in iglavcev. Najdemo jo predvsem v novih, vlažnih stavbah oziroma zelo vlažnih prostorih. Razvije se lahko tudi na drogovih, pragovih, jamskem lesu ter ograjah.

Kletna goba se razvija na spodnji strani okuženega lesa, rizomorfi pa tudi na vlažnih stenah, kjer se pojavijo razvejane, tanke, lasaste tvorbe. V začetku je podgobje, kot bela pajčevinasta prevleka, pozneje postane rumeno rjava, ko ostari pa temno rjava. Rjavi rizomorfi so razraščeni koreninasto.

Optimalna temperatura za razvoj je od 23 do 24 °C. Za njen razvoj je potrebna visoka lesna vlažnost. Ta naj bi znašala med 50 in 60 %. Raste zelo hitro, saj v optimalnih razmerah priraste 13,5 mm na dan (Kervina – Hamovič, 1990).

Povzroča rjavo destruktivno trohnobo. V prvi stopnji se na lesu pojavljajo rumeno rjave pege, kasneje pa les razpade v prizmatične delce. Njena uničevalna moč je podobna sivi hišni gobi, včasih pa jo celo prekaša. Prodira tudi v opeko in beton ter povzroča njen razkroj.

3.1.4.8 *Sclerophoma pythiophila* in *Aureobasidium pullulans* - glivi modrivki

Sta zelo razširjeni glive pri nas, prav tako tudi po svetu. Povzročata barvne spremembe na beljavi iglavcev in nekaterih listavcih. Modrenje se navadno pojavi na posekanem lesu. Glive modrivke okužijo stoječe drevo le, kadar je fiziološko oslabeledo. Takrat se v beljavi zmanjša delež vode in poveča delež zraka. V takšnem primeru mora biti skorja poškodovana, da lahko trosi glive padejo direktno na beljavo. Trose gliv pogosto v drevo zanesejo sekundarni lesni insekti (podlubniki, lestvičarji...). Poleg omenjenih vrst gliv, modrenje povzroča še okoli 400 drugih vrst gliv. Modrivke povzročajo širok spekter barvnih sprememb. Trosi gliv modrivk so v ozračju prisotni vse leto, vendar ne v enakih količinah. Koncentracija se sezonsko spreminja in med letom je mogoče zaslediti dva maksimuma, in sicer spomladi (marca ter aprila) in jeseni (oktobra ter novembra).

Glive modrivke uspevajo v širokem temperaturnem intervalu, med 5 in 35 °C. Optimalna temperatura je med 22 in 25 °C. Težje prenašajo visoke temperature, absolutni maksimum je pri temperaturi 40 °C.

3.2 METODE

3.2.1 Presejalni test

Presejalni test je namenjen določanju učinkovitosti delovanja zaščitnih pripravkov proti različnim vrstam gliv. V našem primeru smo določali učinkovitost različnih koncentracij H_3BO_3 na posamezne lesne glive.

3.2.1.1 Priprava raztopin

Podatke o preliminarinih minimalnih inhibitornih koncentracijah borovih učinkovin smo pridobili iz literature. Posamezne izhodiščne raztopine, ki smo jih kasneje dodali v tekoče hranilno gojišče, smo pripravili z mešanjem H_3BO_3 ter destilirane vode. Seznam končnih koncentracij bora v hranilnem gojišču je razviden iz preglednice 8.

Preglednica 8: Koncentracija bora v hranilnem gojišču ter pripadajoče oznake

OZNAKA	C_B v hranilnem gojišču (%)	C_B v hranilnem gojišču (ppm)
KONTROLA	0,000000	0
NNN	0,000625	6,25
NN	0,001250	12,5
S	0,002500	25
V	0,005000	50
VV	0,010000	100
VVV	0,020000	200
VVVV	0,040000	400

3.2.1.2 Priprava hranilnega gojišča

Za pripravo hranilnega gojišča smo uporabili krompirjev agar v prahu (PDA). Gojišče smo pripravili po navodilih proizvajalca (Difco laboratories, ZDA). V 1 L destilirane vode smo dodali 39 g prahu PDA-ja (slika 7).



Slika 7: Prikaz mešanja hranilnega gojišča PDA z destilirano vode

Za poizkus smo potrebovali 252 epruvet (petrijevkv). V vsaki od epruvet mora biti 15 mL hranilnega gojišča, skupaj torej 3780 mL. PDA smo kuhali na električnem gorilniku, dokler zmes ni zavrela. Med kuhanjem je potrebno gojišče nujno mešati, da se ne prismoji. Nato smo hranilno gojišče odlili v epruvete, in sicer v vsako po 15 mL, jih pokrili z aluminijasto folijo ter sterilizirali v avtoklavu pri temperaturi 121 °C oz. tlaku 1,5 bar (slika 8).



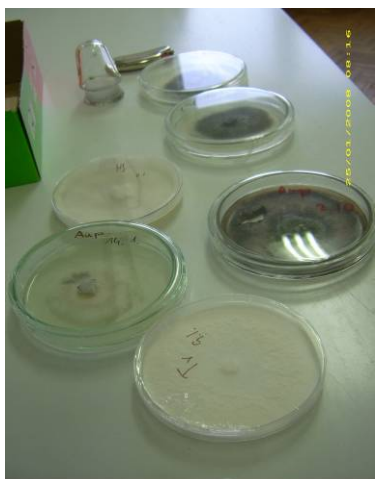
Slika 8: Prazne epruvete in epruveti napolnjeni s še nestrjenim hranilnim gojiščem

3.2.1.3 Inokulacija gliv in spremljanje rasti

Epruvete smo prenesli v brezprašno komoro. V še vroča, nestrjena, sterilna gojišča smo odmerili točno določeno količino vodne raztopine borne kisline in s tem dosegli predvidene koncentracije bora v gojišču. Za vsako od koncentracij smo pripravili po štiri ponovitve.

Iz epruvet smo še tekoče hranilno gojišče prelili v petrijevke in preko noči počakali, da se je gojišče ohladilo in strdilo. Za vsako glivo smo pripravili po 24 petrijevk, skupaj torej 216 petrijevk z dodanim borom, ter 36 kontrolnih petrijevk brez dodanih biocidov.

Inokulacija gliv je potekala tako, da smo iz izhodiščne kulture glive odvzeli košček ter ga položili na hranilno gojišče (slika 9). Po inokulaciji smo s plamenom obžgali rob petrijevke, jo zavili v PET folijo in postavili v rastno komoro. Rast gliv smo spremljali deset dni ter vsakodnevno merili prirastek.



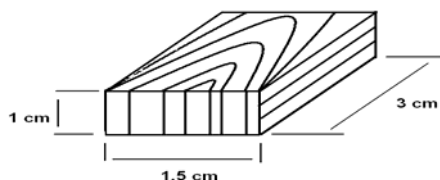
Slika 9: Miceliji testnih gliv ter prikaz inokulacije gliv na hranilno gojišče v petrijevki

3.2.2 Mini blok metoda

Mini blok metoda je namenjena določanju učinkovitosti delovanja zaščitnih pripravkov proti različnim vrstam gliv na vzorcih lesa. Prednost te metode je, da poteka na realnih vzorcih, zato so rezultati, v primerjavi s testom na hranilni podlagi, zanesljivejši. V diplomski nalogi smo določali učinkovitost impregnacije smrekovine z različnimi koncentracijami vodne raztopine H_3BO_3 na glive razkrojevalke lesa.

3.2.2.1 Izdelava preizkušancev

Za poizkus smo pripravili 275 smrekovih vzorcev. Dimenzije vzorca so bile $1\text{ cm} \times 1,5\text{ cm} \times 3\text{ cm}$ (slika 10).



Slika 10: Dimenzioniran smrekov vzoreček

Pri razžagovanju je bilo potrebno paziti na kvaliteto ter orientiranost posameznega vzorca. Vzorce z napakami, kot so grče, smolni kanali, okužbe in razpoke smo zavrgli. Kasneje smo vzorce še zbrusili ter jih oštevilčili.

3.2.2.2 Priprava raztopin, impregnacija ter določanje navzema

Za izvedbo poizkusa je bila potrebna priprava različnih koncentracij H_3BO_3 (preglednica 9). Koncentracije so bile pripravljene na osnovi podatkov o ciljnih navzemih. Priporočljive navzeme smo določili na podlagi podatkov iz literature, kjer so nekateri avtorji že navajali koncentracije, vendar so le te pridobili na drugih lesnih vrstah in drugih lesnih glivah (preglednica 6).

Preglednica 9: Ciljni navzemi ter koncentracije borove kisline v vodnih raztopinah

CILJNI SUHI NAVZEM	KONCENTRACIJA vodne raztopine H_3BO_3
kg/m ³	%
2	0,900
1,5	0,675
1	0,450
0,75	0,338
0,5	0,225
0,2	0,090

Za pripravo koncentracij smo potrebovali borovo kislino ter destilirano vodo. V čašo smo zatehtali izračunan delež H_3BO_3 , ter dolili destilirano vodo, tako da je bila skupna masa 500 g. Raztopino smo nato postavili na magnetno mešalo ter mešali toliko časa, da so se kristali borove kisline povsem raztopili. Na ta način smo pripravili vseh šest raztopin borove kisline.

Impregnacija vzorcev je potekala v vakuumsko tlačni komori Kambič. Vzorce smo zložili v PP (polipropilen) posodice ter jih prelili z izbranim zaščitnim pripravkom. Skupaj smo impregnirali 180 vzorcev, po 30 na koncentracijo. Preostalih 95 kosov je služilo kot kontrola. Posode z vzorci smo postavili v komoro, kjer smo jih za 20 minut izpostavili podtlaku 0,9 bara. Po 20 minutah smo pritisk v komori izenačili z zunanjim in vzorčke pustili namakati v raztopini še 2 uri, da se dobro napojijo. Sledilo je tehtanje mokrih vzorcev ter kasnejše sušenje v sušilniku.

Po impregnaciji smo vzorcem določili mokri navzem. Navzem je količina zaščitnega pripravka, ki jo les vpije pri postopku impregnacije. Tako smo določili mokri navzem, kjer izražamo celotno količino vpitega zaščitnega pripravka skupaj s topilom. Določanje je potekalo gravimetrično s tehtanjem vzorčkov pred in po impregnaciji, in sicer po sledeči formuli:

$$r^v = \frac{m_2 - m_1}{V} \quad [\dots 1]$$

⇒ r^v ... celotni navzem zaščitnega pripravka v kg /m³

⇒ V ... volumen začetnega vzorčka v m³

⇒ m_1 ... masa vzorca pred impregniranjem v kg

⇒ m_2 ... masa vzorca po impregniranju v kg

3.2.2.3 Inokulacija hranilnega gojišča

Priprava hranilnega gojišča je potekala enako, kot priprava gojišča pri presejalnem testu (3.2.1.2). Razlika je bila samo, da smo v tem primeru tekoče hranilno gojišče prelili v kozarce in ne v petrijevke.

Pred inokulacijo hranilnega gojišča je bilo potrebno izdelati še plastične mrežice, ki smo jih kasneje položili direktno na gojišče. Mrežice služijo temu, da vzorčki niso direktno izpostavljeni gojišču in da ne pride do pretiranega navlaževanja. Inokulacija gojišča z izbrano kulturo gliv je potekala v brezprašni komori.

Iz petrijevk z izhodiščnimi kulturami gliv smo s plutovrtom iz preraslega gojišča izrezali cepiče. Nato smo cepiče z laboratorijsko lopatico prenesli v vnaprej pripravljene kozarce. Bistvenega pomena je bilo, da smo vse pripomočke sproti razkuževali (alkohol, gorilnik) ter s tem preprečili nezaželeno okužbo s plesnimi ali bakterijami. Kozarce z inokuliranim hranilnim gojiščem smo za teden dni postavili v rastno komoro z optimalnimi pogoji (temperatura 25 °C, relativna zračna vlažnost 85 %). Kozarce s kulturo glive *Coniophora putena* ter *Serpula lacrymans* pa smo postavili v komoro z optimalno temperaturo 20 °C.

3.2.2.4 Vstavljanje vzorcev na z glivami preraslo gojišče

Pred izpostavitvijo glivam so bili vzorci posušeni na absolutno suho vlažnost. Stehtane vzorce smo nato sterilizirali s paro (1,5 bar, 20 min).

Izpostavitve vzorcev glivam je potekala v brezprašni komori. Posamični glivi smo v različnih gojitvenih kozarcih izpostavili po pet vzorcev impregniranih z isto koncentracijo zaščitnega pripravka, kot je razvidno v preglednici 10. V vsakega od kozarcev smo morali vstaviti tudi kontrolni vzorec, ki je služil za kontrolo aktivnosti glive (slika 11).

Preglednica 10: Razporeditev impregniranih in kontrolnih vzorcev glivam razkrojevalkam

Glive / Navzem	2	1,5	1	0,75	0,5	0,2
Tv	1 - 5	31 - 35	61 - 65	91 - 95	121 - 125	151 - 155
Av	6 - 10	36 - 40	66 - 70	96 - 100	126 - 130	156 - 160
Gt	11 - 15	41 - 45	71 - 75	101 - 105	131 - 135	161 - 165
Hf	16 - 20	46 - 50	76 - 80	106 - 110	136 - 140	166 - 170
Cp	21 - 25	51 - 55	81 - 85	111 - 115	141 - 145	171 - 175
Lel	26 - 30	56 - 60	86 - 90	116 - 120	146 - 150	176 - 180

Primer razporeditve vzorcev glive Tv:

1. kozarec: 1, 2, 3, + kontrola
2. kozarec: 4, 5, 31, + kontrola
3. kozarec: 32, 33, 34, + kontrola
4. kozarec: 35, 61, 62 + kontrola
5. kozarec: 63, 64, 65, + kontrola
6. kozarec: 91, 92, 93, + kontrola
7. kozarec: 94, 95, 121, + kontrola
8. kozarec: 122, 123, 124, + kontrola
9. kozarec: 125, 151, 152, + kontrola
10. kozarec: 153, 154, 155, + kontrola



Slika 11: Primer razporeditve vzorčkov v gojitvenem kozarcu

Po 12 tednih smo kozarce vzeli iz rastne komore, vzorce sneli iz gojišča in jih očistili. Vzorčke smo nato stehali in jih 24 ur sušili v sušilniku pri 103 °C. Absolutno suhe vzorce smo stehali na 0,0001 g natančno. Iz dobljenih podatkov smo določili izgubo mase po naslednji formuli:

$$m_{\text{izgub}} = \frac{m_3 - m_5}{m_3} \quad [\dots 2]$$

⇒ m_{izgub} ... izguba mase na posameznem vzorcu v %

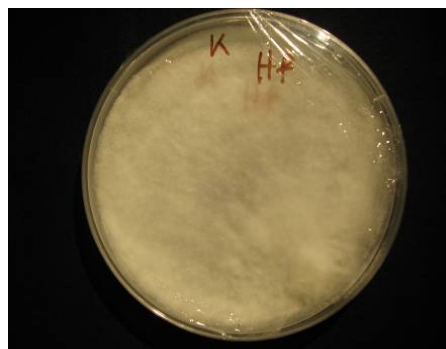
⇒ m_3 ... masa absolutno suhih impregniranih vzorcev v g

⇒ m_5 ... masa absolutno suhih okuženih vzorcev v g

4 REZULTATI

4.1 REZULTATI PRESEJALNEGA TESTA

Metoda presejalnega testa se je izkazala za veliko bolj indikativno, kot pa mini blok metoda. Vse glive so normalno prirasle na hranilno gojišče brez dodanih biocidov. Iz slike 12 je razvidno, da je kontrolno petrijevko najhitreje prirastel micelij glive Hf (*Hypoxylon fragiforme*), ki je že v šestih dneh prerasla petrijevko (7,9 cm). Primerljivo s to glivo je na kontrolnem gojišču rasla tudi gliva pisana ploskocevka - Tv (*Trametes versicolor*). Na sliki 13 je prikazan prirast posamezne glive v obdobju devetih dni spremljanja rasti. Najmanjši prirastek smo zabeležili pri glivi modrivki - Aup (*Aureobasidium pullulans*) in kletni gobi - Cp (*Coniophora puteana*), ki sta v devetih dneh zrasli le 4,3 cm oziroma 4,1 cm.



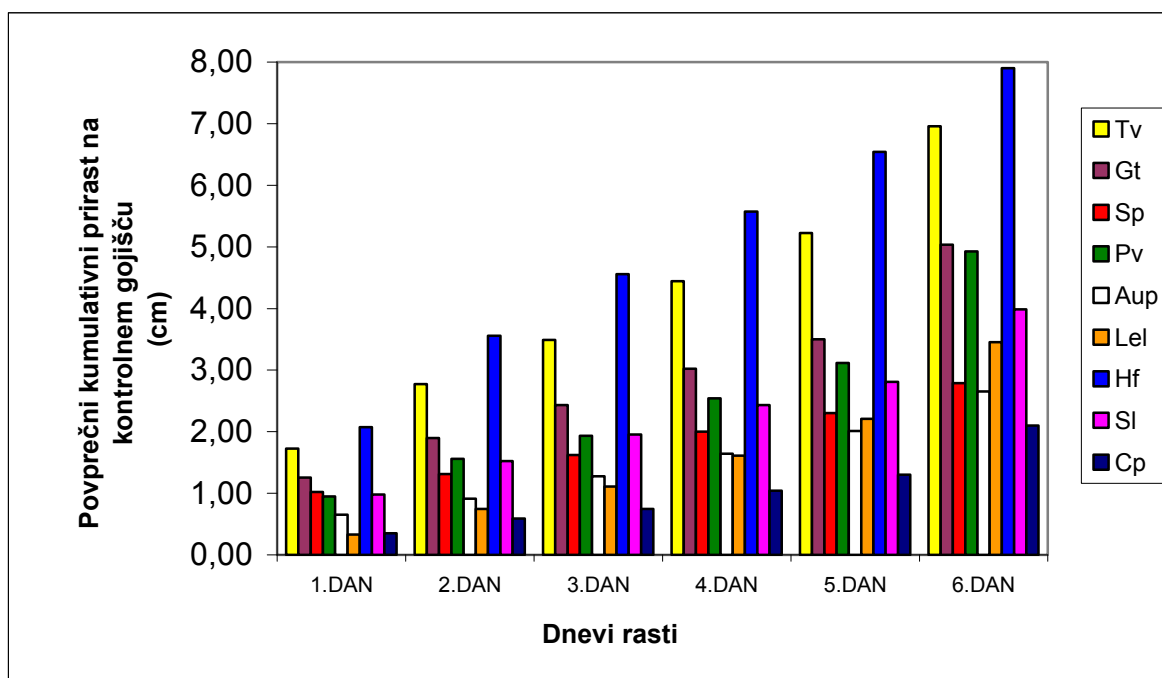
Slika 12: Prikaz rasti micelija gliv Tv in Hf po 6 dneh rasti na gojišču brez dodanega bora



Slika 13: Tipična rast micelija kontrol gliv Aup in Cp po 9 dneh

Večina gliv je brez znakov zaviranja rasti ali tvorbe inhibicijske cone uspevala na gojiščih z najnižjimi koncentracijami borovih učinkovin (slika 14). Prve izrazitejšje razlike so se pokazale pri koncentraciji »VV« (100 ppm v hranilnem gojišču) (slika 15).

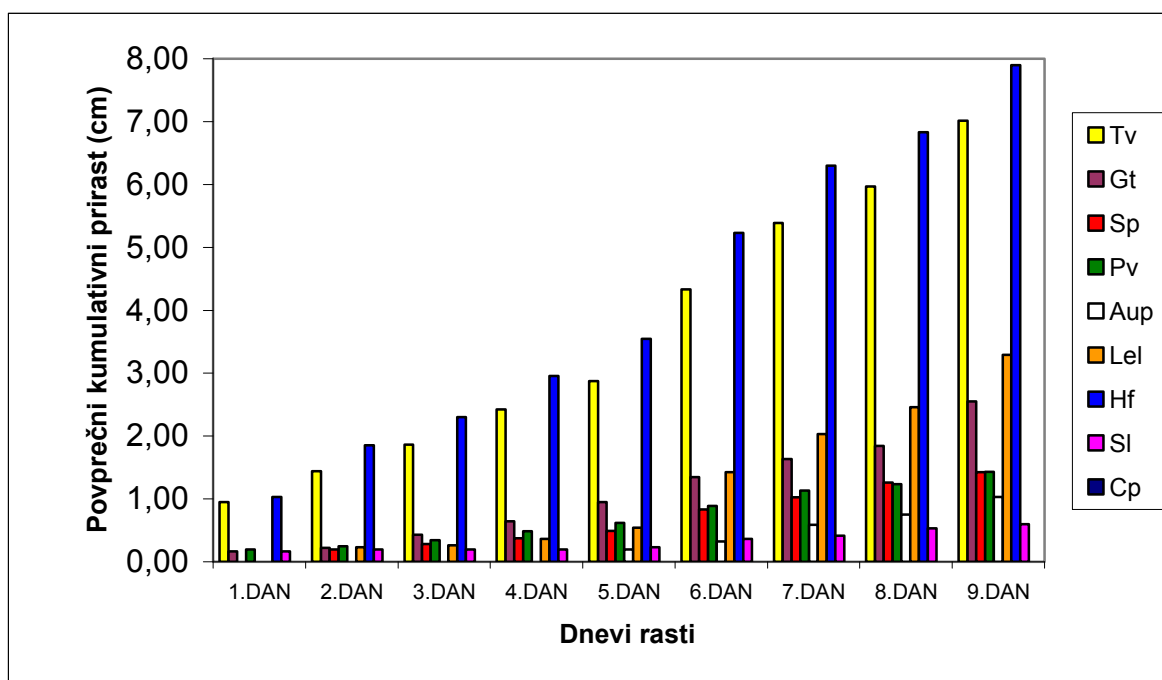
Iz slike 14 je lepo razvidna intenzivna rast gliv Hf in Tv, ki sta med vsemi glivami uspevali najbolje. Poleg tega se iz te slike dobro vidi tudi relativno slaba rast gliv Aup ter Cp. Razlogov za slabšo rast omenjenih gliv ne poznamo. Zagotovo vzrok za slabo rast ni neustrezna temperatura, saj smo vse glivne kulture inkubirali v komorah z optimalno temperaturo.



Slika 14: Grafični prikaz povprečne prirasti micelija gob na gojišču brez dodanih biocidov

Podatki na sliki 15 nam kažejo, da je pri koncentraciji 100 ppm B v hranilnem gojišču gliva Hf uspela prerasti petrijevko, saj je po devetih dneh zrastle do vrednost 7,9 cm, rast ostalih gliv pa je bolj ali manj zavirana. To se še posebej lepo vidi pri glivi Tv, ki je v devetih dneh prirasla le 7,2 cm, med tem, ko je pri kontrolnih vzorcih do te vrednosti prirasla že v šestih dneh (sliki 14 in 15).

Med vsemi glivami je bila na bor najbolj občutljiva gliva *C. puteana*. Ta gliva je edina izmed testiranih gliv, ki je pri koncentraciji 100 ppm popolnoma odmrla. Kakorkoli, ta koncentracija je imela zelo zaviralen učinek tudi na ostale glive. Nekatere glive v prvih dneh sploh niso rasle. Prve izrasle hife iz cepiča so se razvile šele po nekaj dneh. Ta pojav smo opazili pri Sl (*Serpula lacrymans*), Aup (*Aureobasidium pullulans*) in Lel (*Lentinus lepideus*).

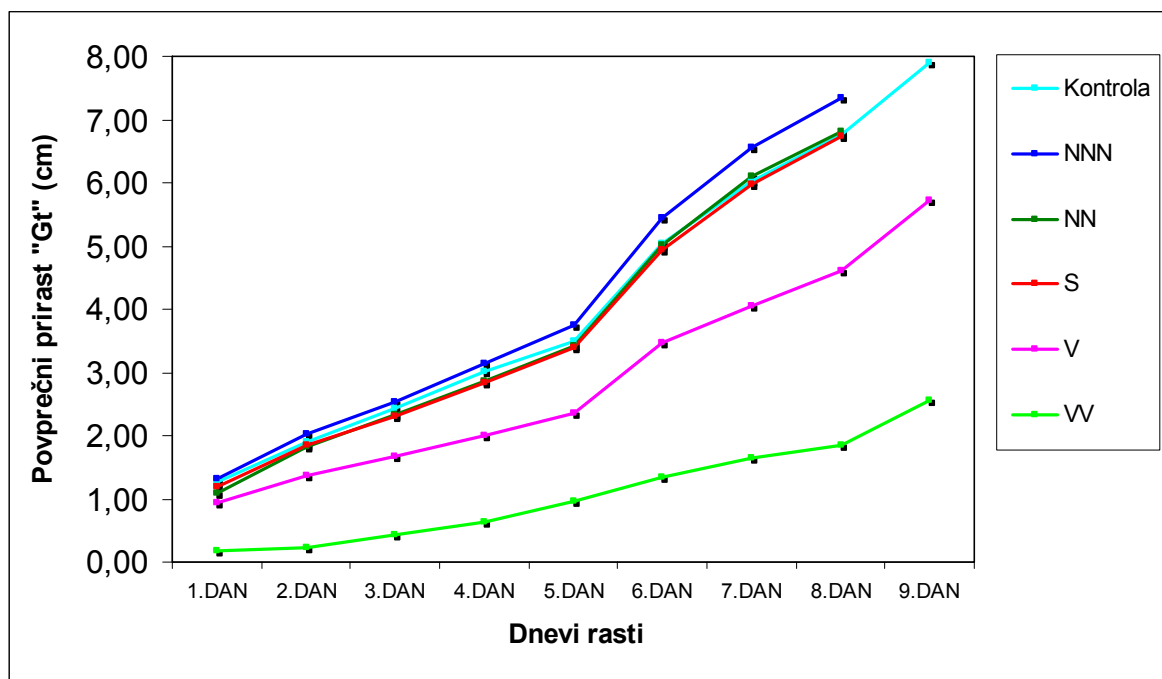


Slika 15: Grafični prikaz povprečne prirasti micelija gob pri koncentraciji 100 ppm B v hranilnem gojišču.

4.1.1 Povprečna prirast micelija gliv, povzročiteljc rjave trohnobe v odvisnosti od koncentracije H_3BO_3

4.1.1.1 *Gloeophyllum trabeum*

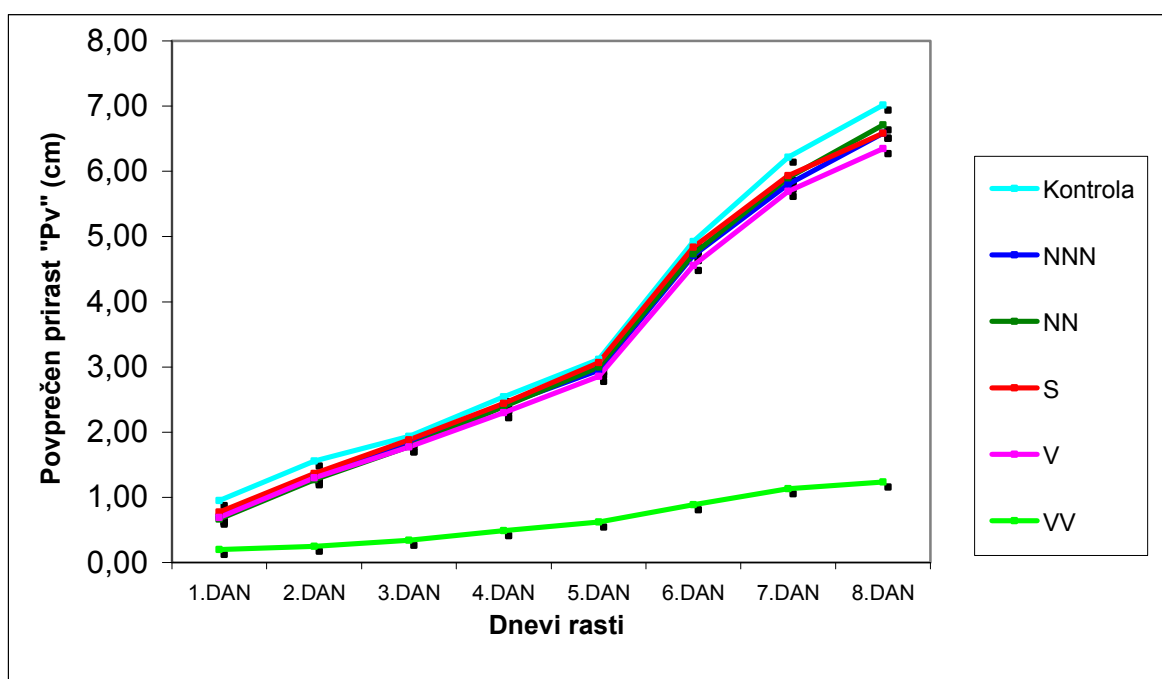
V primeru Gt vidimo, da bor v nizkih koncentracijah lahko celo spodbuja rast. Prirast glive pri koncentracijah borove kisline »NNN in NN« so celo višje kot pri kontroli. Tako lahko razberemo, da je prirast po sedmem dnevu pri kontroli 6,02 cm, pri koncentraciji »NN« 6,10 cm pri vrednosti »NNN« pa celo 6,54 cm (slika 16). Prvi znaki znatne inhibicije se pokažejo pri koncentraciji »V« (50 ppm B). Do popolnega zavrtje glive Gt pa pride na gojišču s koncentraciji »VVV« ($c_B = 200$ ppm) kjer ni prisotnih niti najmanjših znakov rasti.



Slika 16: Povprečna prirast glive Gt (*Gloeophyllum trabeum*) v odvisnosti od koncentracije H_3BO_3

4.1.1.2 *Antrodia vaillantii*

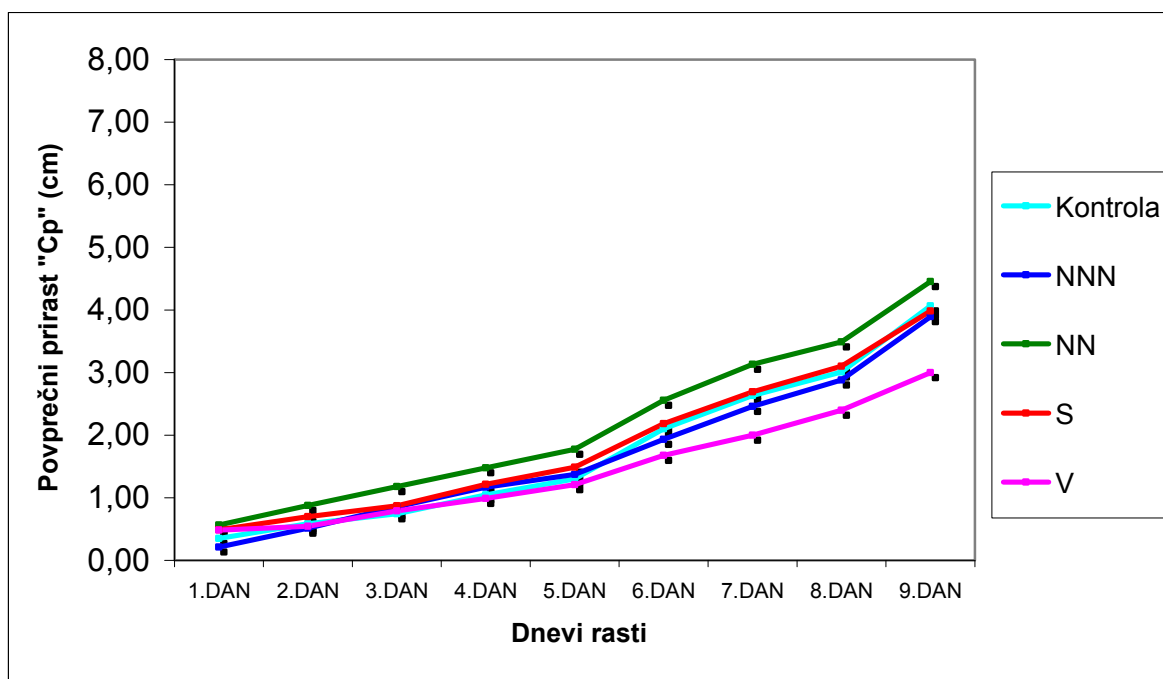
Hitrost rasti micelija glive Pv je bila nekoliko počasnejša od glive Gt. Gliva v osmih dneh ni v celoti prerasla kontrolnih petrijevok, temveč je v tem času zrasla le 7,02 cm od cepiča. Iz slike 17 je lepo razviden enakomeren prirast micelija glive Pv pri nižjih koncentracijah bora v gojišču (»NNN – V«). Nižje koncentracije bora, za razliko od tramovke, niso spodbudile rasti glive. V primerjavi z glivo Gt, so na glivo Pv zaviralno delovale višje koncentracije bora. Pri višji koncentraciji bora v gojišču »VV« se pokažejo prvi znaki inhibitorne rasti. Višje koncentracije, kot sta »VVV« in pa »VVVV« pa popolnoma zavreta rast te glive, primerljivo kot pri večini ostali gliv uporabljenih v tej raziskavi.



Slika 17: Povprečna prirast glive Pv (*Antrodia vaillantii*) v odvisnosti od koncentracije H_3BO_3

4.1.1.3 *Coniophora puteana*

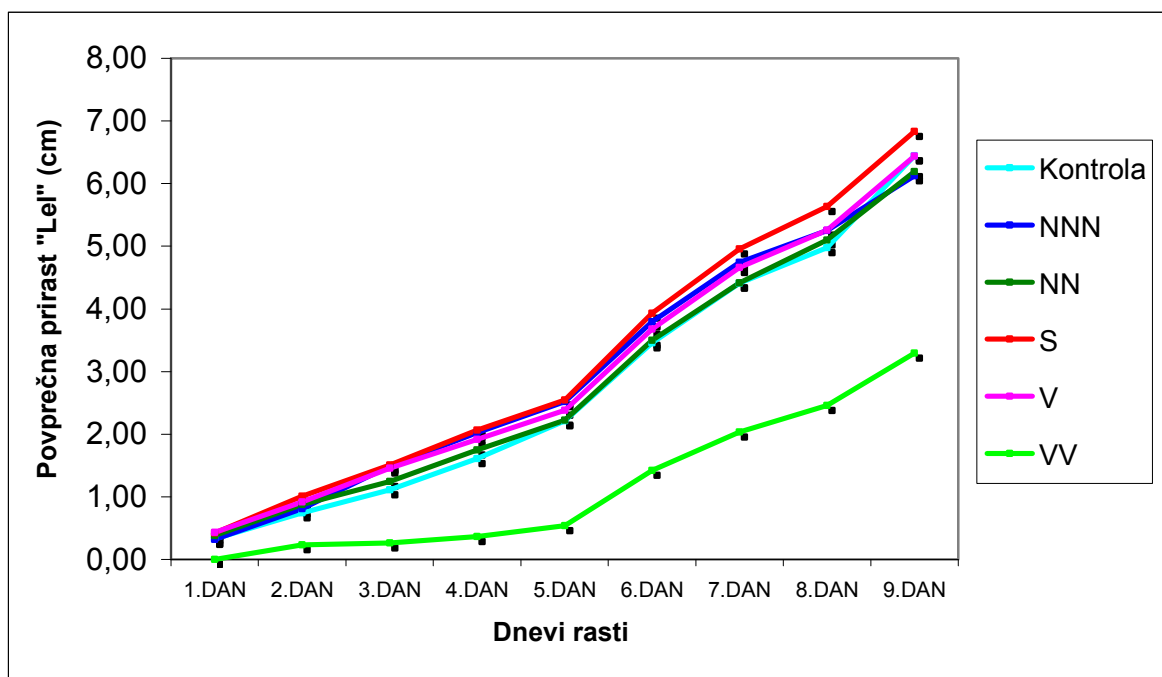
Coniophora puteana oz. klementna goba je značilna predstavnik gliv, ki v devetih dneh niso v celoti prerasle niti kontrolnih petrijevok, vendar po drugi strani učinkovito razkrajajo les. Počasna rast je lepo razvidna iz slike 18. Iz te slike se podobno kot pri glivi *G. trabeum* vidi, da bor v manjših količinah celo pozitivno vpliva na rast micelija glive, saj je celo pri koncentraciji »S« (25 ppm B) rast hitrejša, kot na kontrolnem gojišču. Za primerjavo je povprečen prirast pri kontroli v sedmem dnevu rasti 3,01 cm, pri koncentraciji »S« pa 3,10 cm. Torej se tudi pri tej glivi lepo vidno, da bor lahko pri nižjih koncentracijah spodbuja rast. Zanimivo je tudi, da gliva pri koncentraciji »V« v osmih dneh ni tako zavrta, kot smo opazili pri ostalih glivah. Ta podatek nakazuje na nevarnost, da glive z nižjimi koncentracijami bora v substratu ne bomo uničili, kvečjemu pospešili njeno rast. Ta podatek je zelo pomemben s praktičnega vidika, saj lahko z neustreznimi kurativnimi ukrepi dosežemo celo negativen učinek.



Slika 18: Povprečna prirast glive Cp (*Coniophora puteana*) v odvisnosti od koncentracije H_3BO_3

4.1.1.4 *Lentinus lepideus*

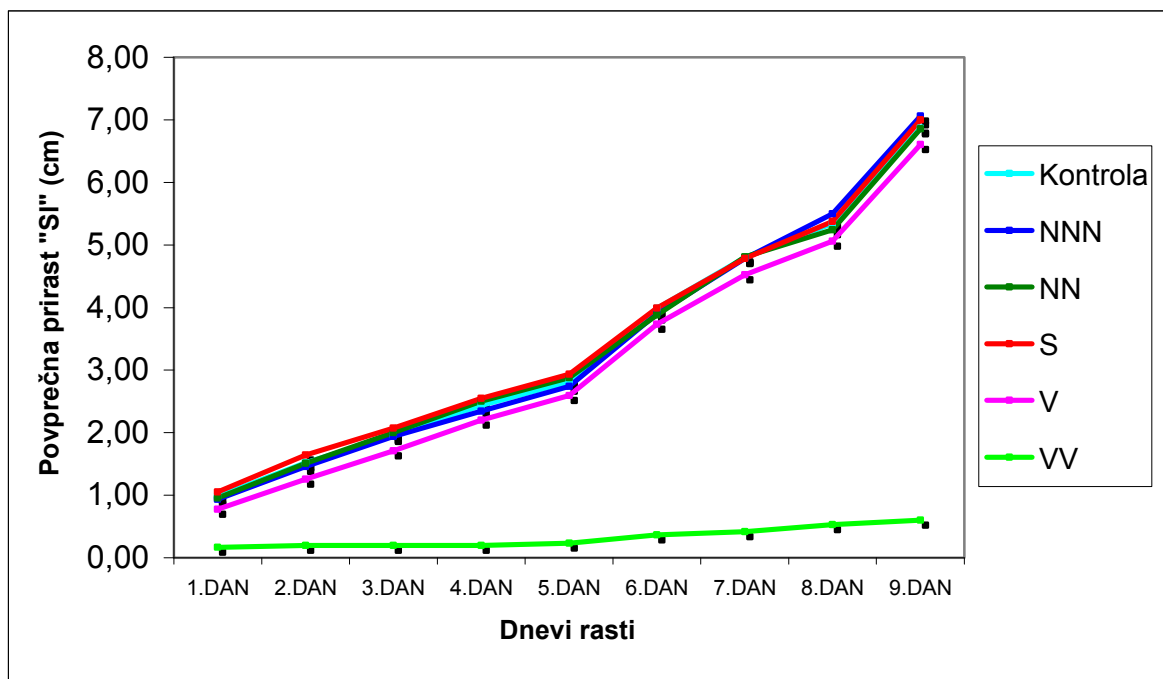
Lentinus lepideus se na prisotnost bora odziva podobno kot ostale predstavnice rjave trohnobe. Na sliki 19 je razvidno, da nižje koncentracije bora pospešijo rast, šele koncentracije višje od »VV« pa jo zavrejo. Tako vidimo, da je gliva *Lel* v štirih dneh na kontrolnem gojišču prirasla le 1,61 cm, na gojišču z oznako »V« pa kar 1,92 cm. Tudi pri zatiranju te glive moramo biti previdni, saj prisotnost borovih učinkovin rast *Lel* lahko celo pospeši.



Slika 19: Povprečna prirast glive *Lel* (*Lentinus lepideus*) v odvisnosti od koncentracije H_3BO_3

4.1.1.5 *Serpula lacrymans*

Siva hišna goba je ena najnevarnejših predstavnic lesnih gliv. Odziv te glive na povišane koncentracije borovih spojin v hranilnem gojišču je podoben ostalim glivam. Koncentracije med »NNN« in »V« na glivo skoraj nimajo vpliva, oziroma celo rahlo spodbudijo njeno rast (slika 20). Podoben odziv gliv na borove učinkovine opazimo tudi pri glivi *Lel*. Če bi primerjali sliki 19 ter 20 skoraj ne vidimo večjih razlik. Večjo spremembo opazimo le pri koncentraciji »VV«, ki je bistveno bolj zavrla rast glive *S. lacrymans* kot *L. lepideus*. Pri višjih koncentracijah borove kisline v gojišču (»VVV« in »VVVV«), ne opazimo nobenih znakov rasti sivi hišne gobe, kar popolnoma sovпада s podatki pri ostalih glivah rjave trohnobe (slika 20).

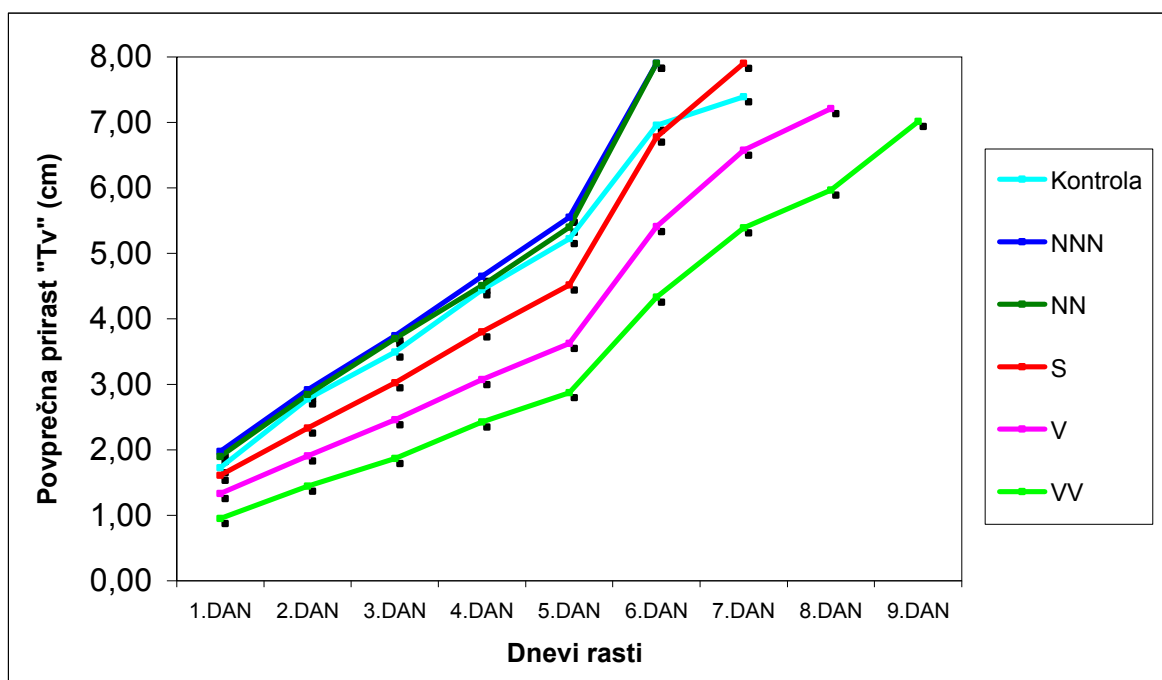


Slika 20: Povprečna prirast glive Sl (*Serpula lacrymans*) v odvisnosti od koncentracije H_3BO_3

4.1.2 Povprečna prirast micelija gliv, povzročiteljic bele trohnobe v odvisnosti od koncentracije H_3BO_3

4.1.2.1 *Trametes versicolor*

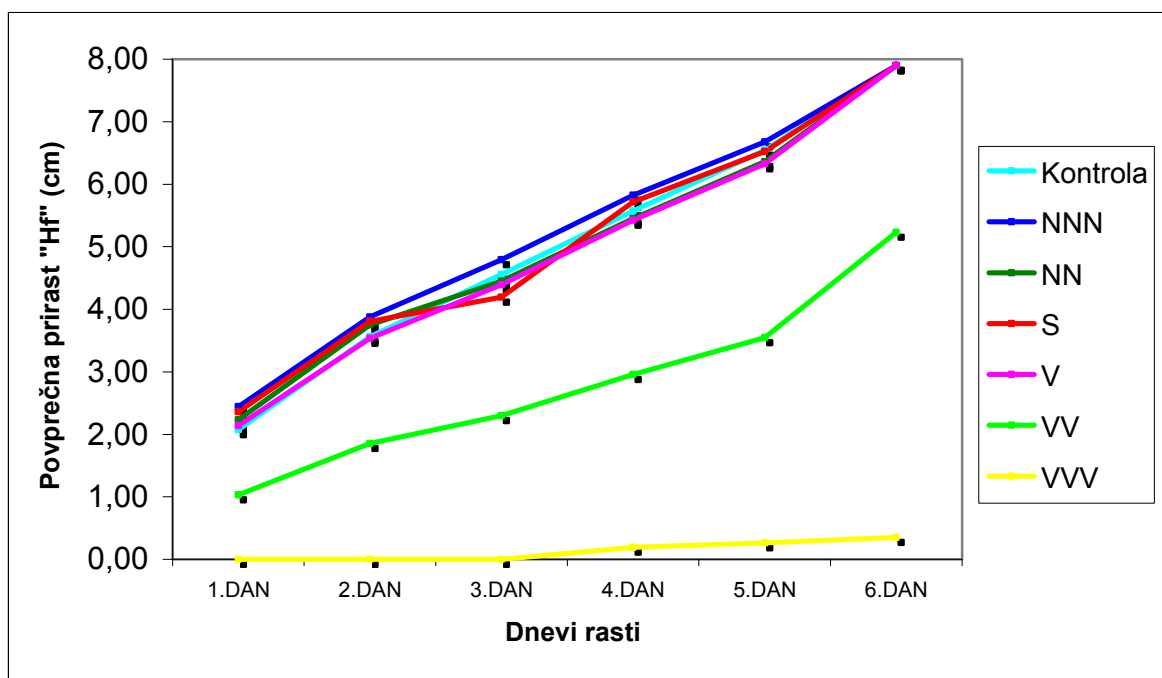
Pisana ploskocevka je tipičen predstavnik gliv bele trohnobe. Zanje je značilna izjemno hitra rast in majhna odzivnost na bor. Iz slike 21, je razvidno, da so posamezne vrednosti že v šestem dnevu prerasle celotno površino petrijevke. Iz podatkov predstavljenih na sliki 21 se vidi, da so nižje koncentracije bora v hranilnem gojišču pospešile rast glive, pri srednji in visoki, pa opazimo prve znake inhibicije rasti. Po drugi strani koncentracija »VV« bistveno manj zavre rast glive Tv, kot smo zabeležili pri glivah rjave trohnobe. Bor vpliva šele pri 2 ali 4 krat višji koncentraciji (»VVV«, »VVVV«), kjer gliva pisana ploskocevka ne raste več.



Slika 21: Povprečna prirast glive Tv (*Trametes versicolor*) v odvisnosti od koncentracije H_3BO_3

4.1.2.2 *Hypoxylon fragiforme*

Hypoxylon fragiforme je goba, ki je med testiranimi glivami najhitreje prerasla hranilno gojišče. Nižje koncentracije bora (»NNN – V«) v hranilnem gojišču niso imele nikakršnega vpliva na rast glive. Rasti glive niso niti inhibirale, niti je niso stimulirale (slika 22). Gliva Hf, je celo gojišče s 50 ppm bora (»V«) prerasla že v 6 dneh. Prvi znak inhibicije opazimo šele pri koncentraciji »VV«. Med vsemi testiranimi glivami, je ogljena kroglica edina, ki je uspevala pri koncentraciji 200 ppm bora v gojišču (»VVV«), rast pa se je popolnoma zaustavila šele pri koncentraciji 400 ppm (»VVVV«) (slika 22).



Slika 22: Povprečna prirast glive Hf (*Hypoxylon fragiforme*) v odvisnosti od koncentracije H_3BO_3

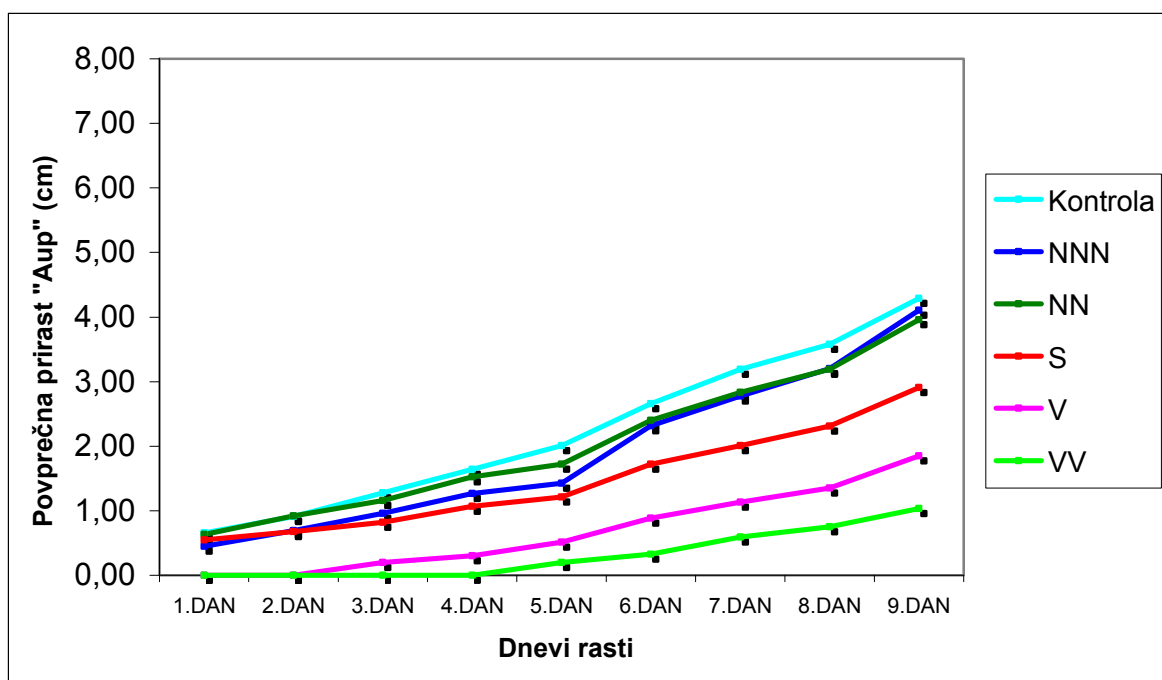
V kolikor med seboj primerjamo testirane glive bele trohnobe z glivami rjave trohnobe, opazimo, da so le-te načeloma odpornejše na borove učinkovine. Še posebej visoko odpornost pa je izkazala gliva Hf.

4.1.3 Povprečna prirast micelija gliv, povzročiteljic modrivosti v odvisnosti od koncentracije H_3BO_3

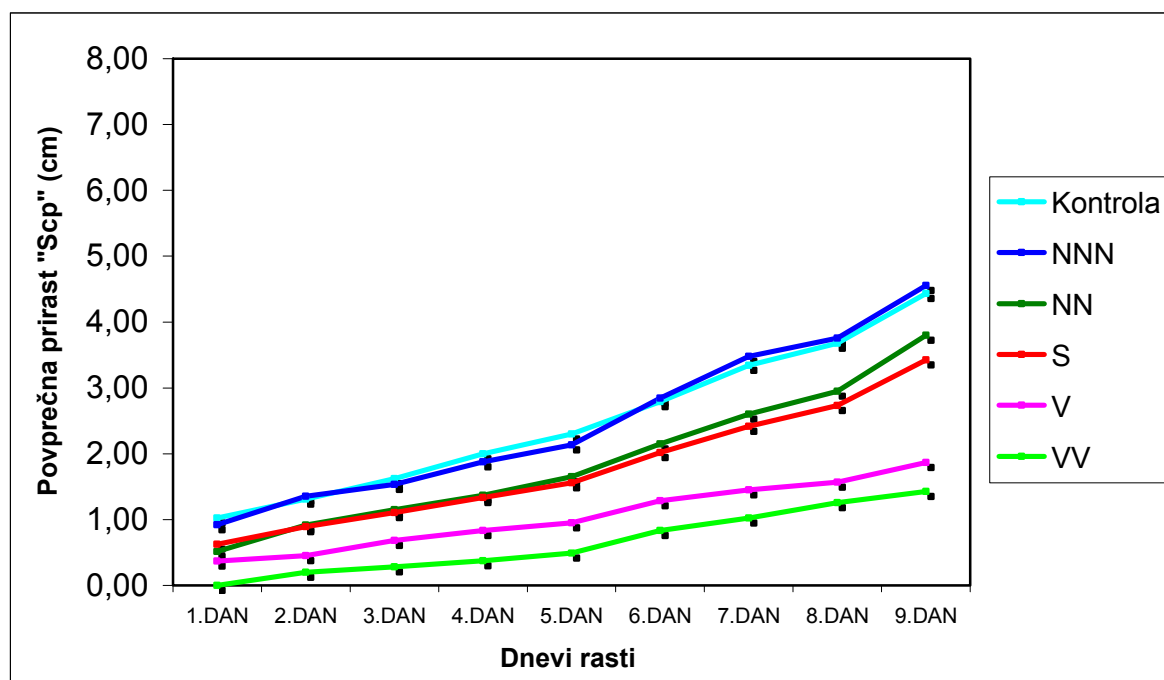
4.1.3.1 *Aureobasidium pullulans*

Vpliv borove kisline v hranilnem gojišču na rast dveh predstavnic gliv modrivk kaže na podobno reagiranje rasti micelija. Že na prvi pogled opazimo, da je rast omenjenih gliv bistveno počasnejša kot gliv razkrojevalk. Eden od možnih vzrokov je, da glivam modrivkam ne ustreza uporabljeno hranilno gojišče.

Pri obeh glivah modrivkah opazimo, da nižje koncentracije bora v hranilnem gojišču ne stimulirajo rasti gliv modrivk. Že pri relativno nizki koncentraciji »NN« (Scp) oziroma »S« (Aup) smo že opazili prve znake inhibicije. Kakorkoli, obe v testiranje vključeni glivi modrivki, sicer močno zavrti, še vedno lahko uspevata pri koncentraciji bora »VV«, med tem, ko koncentraciji »VVV« in »VVVV« popolnoma inhibirata rast gliv modrivk (sliki 23 in 24).



Slika 23: Povprečna prirast glive Aup (*Aureobasidium pullulans*) v odvisnosti od koncentracije H_3BO_3

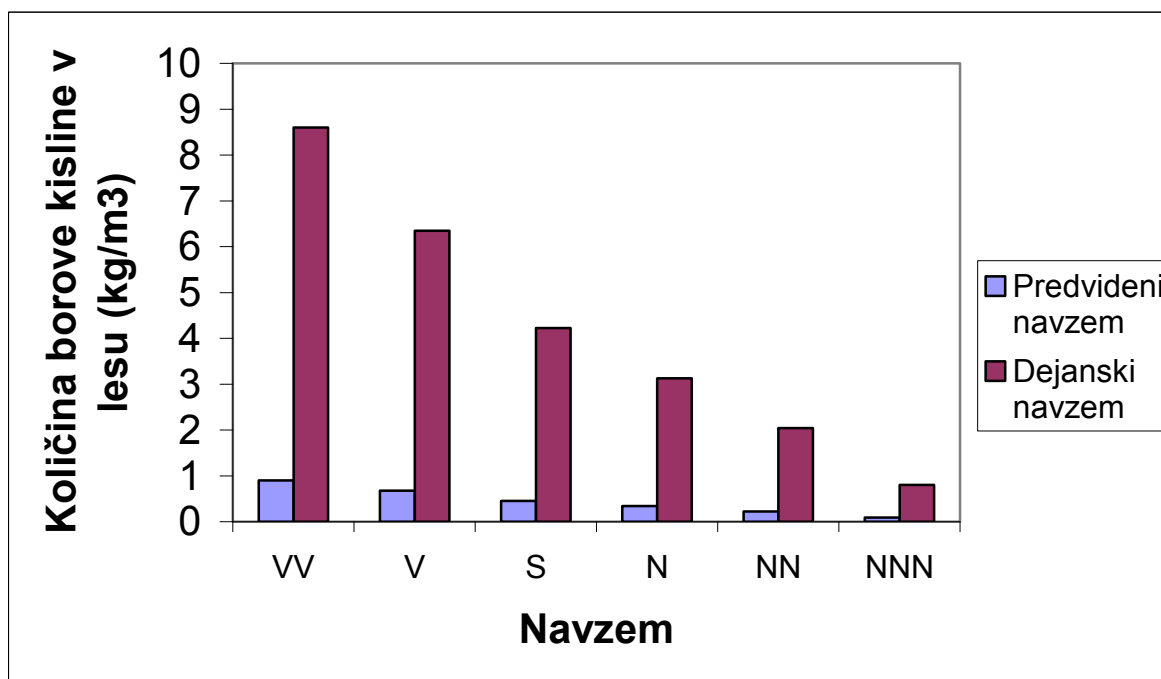
4.1.3.2 *Sclerophoma pythiophila*Slika 24: Povprečna prirast glive Scp (*Sclerophoma pythiophila*) v odvisnosti od koncentracije H_3BO_3

4.2 REZULTATI MINI BLOK METODE

4.2.1 Suhi navzem

Suhi navzem je podatek, iz katerega je razvidno, kolikšna količina borove kisline je bila po končanem sušenju prisotna v vzorčkih lesa. Na začetku naloge smo na podlagi predhodnih testiranj in literaturnih podatkov predvideli ciljne navzeme borove kisline. V testiranje smo vključili takšne koncentracije borove kisline, da nižje koncentracije ne bi popolnoma zavrle rasti, višje pa bi popolnoma inhibirale njihovo rast. Analiza suhega navzema je pokazala, da smo se navkljub upoštevanju literaturnih podatkov odločili za previsoko koncentracijo borovih učinkovin, kar se odraža v previsokih navzemih (preglednica 6). Razmerje med ciljnim in dejanskimi navzemi je prikazano na sliki 25.

Prav tako pa lahko iz te slike (slika 25) in preglednice 11 vidimo, da je najvišji predvideni suhi navzem skoraj enak najnižjemu dejanskemu suhemu navzemu.



Slika 25: Razmerje med dejanskim ter predvidenim navzemom

Preglednica 11: Številčni prikaz dejanskega ter predvidenega navzema

	PREDVIDENI NAVZEM kg/m³	DEJANSKI NAVZEM kg/m³
VV	0,900	8,600
V	0,675	6,350
S	0,450	4,220
N	0,338	3,130
NN	0,225	2,040
NNN	0,090	0,800

Vzrokov za višje dejanske navzeme je več. Smrekovina je lesna vrsta z izrazitimi razlikami v impregnabilnosti (Larnøy s sod., 2007). Očitno so bili vzorci, ki smo jih uporabili v tej raziskavi bistveno bolj impregnabilni, kot je navedeno v literaturi. Drugi možni razlog za višje dejanske navzeme v primerjavi s teoretičnimi je dejstvo, da je med impregnacijo lesa prišlo do selektivne absorpcije borovih učinkovin v les. Torej, da se je v les vezalo več borovih učinkovin, kot smo predvideli na podlagi mokrega navzema.

4.2.2 Izguba mase kontrolnih vzorcev

Po 12 tednih izpostavitve smrekovih vzorcev glivam, smo določili izgubo mase zaradi njihovega delovanja. Standard SIST EN 113 (1995) predpisuje, da morajo biti izgube mase kontrolnih vzorcev višje od 25 %, da je test veljaven.

Večina gliv rjave trohnobe je povzročila znatno izgubo mase. Največjo izgubo mase smo opazili pri kontrolnih vzorcih izpostavljenim glivi *G. trabeum*, ki so izgubili kar 49,6 % svoje mase, sledi gliva *A. vaillantii* z 28,7 % izgube mase in *C. puteana* z relativno nizkimi 15,4 %. Pri tej glivi so tako nizke izgube mase relativno pogoste (Pohleven s sodel., 2000), zato smo, kljub nizki izgube mase ta rezultat smatrali za veljavnega. Kakorkoli, najbolj nas je presenetilo dejstvo, da gliva *L. lepideus* ni povzročila niti najmanjše izgube mase vzorcev. Razlogov za tako nizko izgube mase ne znamo pojasniti. Vemo pa le, da je gliva razkrojevka listavcev ne pa iglavcev.

Pri vzorcih izpostavljenih glivam bele trohnobe so bile izgube mas nekoliko nižje. Razlogi za to so razumljivi, saj smo glivam bele trohnobe izpostavili smrekove vzorce, te glive pa praviloma v naravi razkrajajo predvsem les listavcev (Zabel in Morell, 1992). Izgube mas vzorcev izpostavljeni glivama bele trohnobe so bili 19,6 % pri glivi Tv in 21,9 % pri glivi Hf.

Izdelali smo zanimivo primerjavo med posameznimi vzorci kontrol. Primerjali smo izgubo mase pri kontrolnih vzorcih, ki so bili glivam izpostavljeni v ločenem kozarcu, brez prisotnosti z borom impregniranih vzorcev (kontrola A), in kontrolnih vzorcev, ki smo jih glivam izpostavili poleg z borom impregniranih vzorcev (kontrola B). V vseh primerih je lepo razvidno, da so imeli vzorci z oznako kontrola-A bistveno večjo izgubo mase kot kontrola-B. Očitno je bor iz impregniranih vzorcev difundiral v neimpregnirane vzorce in inhibiral delovanje lesnih gliv, kar se odraža v nižjih izgubah mase kontrol-B (preglednica 12).

Preglednica 12: Izgube mas kontrolnih vzorcev izpostavljenih glivam rjave in bele trohnobe v samostojnem kozarcu (kontrola-A) in neimpregniranih vzorcem, ki smo jih glivam izpostavili poleg impregniranih vzorcev (kontrola-B).

TROHNOBA	VRSTA GLIVE		POVPREČNA IZGUBA MASE	RAZLIKA V IZGUBI MASE
RJAVA TROHNOBA	Av	A	28,70%	14,90%
		B	13,80%	
	Gt	A	49,60%	19,40%
		B	30,20%	
	Cp	A	15,40%	13,50%
		B	1,90%	
	Lel	A	-0,06%	-0,96%
		B	0,90%	
BELA TROHNOBA	Tv	A	19,60%	9,10%
		B	10,50%	
	Hf	A	21,90%	5,50%
		B	16,40%	

Po izpostavitvi glivam se vzorcem ni spremenila le masa temveč tudi barva, izgled in volumen. Na sliki 26 so prikazani vzorci izpostavljeni glivam rjave trohnobe. Razločno je

vidno rjavo obarvanje, dimenzijska deformacija, večja razgradnja ranega lesa v primerjavi s kasnim lesom in strukturnim razkrojem na čelih.



Slika 26: Smrekovi vzorci po 12 tednih izpostavitve glivam rjave trohnobe

Vizualne spremembe na vzorcih izpostavljenih glivam bele trohnobe so manjše. Vidno je rahlo razbarvanje (nekoliko svetlejša površina) ter manj izrazito dimenzijsko krčenje ter nekoliko bolj izrazit razkroj na čelih (slika 27).



Slika 27: Bela trohnoba na nezaščenih kontrolnih vzorcih

4.2.3 Izguba mase impregniranih vzorcev

Borova kislina se je izkazala kot izredno učinkovit pripravek. Kot je razvidno že iz prejšnjega poglavja je imela znaten vpliv celo na razkroj kontrolnih vzorcev. Iz preglednice 13 lahko razberemo, da ni nobena gliva razkrojila impregniranega lesa. Niti na vzorcih impregniranih z najnižjo koncentracijo zaščitnih pripravkov, nismo zasledili nobenih znakov razkroja.

Preglednica 13: Izgube mas impregniranih vzorcev izpostavljenih glivam rjave in bele trohnobe

TROHNOBA	VRSTA GLIVE	OBMOČJE DEJANSKIH NAVZEMOV (kg/m ³)	POVPREČNA IZGUBA MASE
RJAVA TROHNOBA	Av	0,8 - 8,6	0%
	Gt	0,8 - 8,6	0%
	Cp	0,8 - 8,6	0%
	Lel	0,8 - 8,6	0%
BELA TROHNOBA	Tv	0,8 - 8,6	0%
	Hf	0,8 - 8,6	0%

Kakorkoli, ti rezultati so nas nekoliko presenetili. Pri vzorcih, impregniranih z najnižjo koncentracijo borove kisline, smo določili navzem $0,80 \text{ kg/m}^3$ BAE. Kakorkoli ti podatki so nekoliko v nasprotju z literaturnimi podatki, kjer so v nekaterih primerih inhibitorno koncentracijo določili pri bistveno višjih vrednostih, okoli $0,40 - 2,8 \text{ kg/m}^3$ BAE (preglednica 6).

5 RAZPRAVA

Rezultati testiranja fungicidne učinkovitosti borove kisline so potrdili, da je borova kislina zelo učinkovit fungicid, ki deluje na glive že pri zelo nizkih koncentracijah. Iz rezultatov presejalnega testa je razvidno, da ima borova kislina primerljiv fungicidni učinek na vse testirane lesne glive. Ugotovili smo, da v polovici primerov, predvsem pri glivah rjave trohnobe (*G. trabeum*, *C. puteana* and *S. lacrymans*) bor pri nizkih koncentracijah (6,25 ppm do 25 ppm) celo spodbuja rast gliv (preglednica 14). Ta podatek nas ni presenetil, saj je bor znan esencialni element (Lesa in Humar, 2007b). V te namene ga uporabljajo tudi v kmetijstvu (Rainer, 1993).

Med testiranimi glivami, je največjo občutljivost na borovo kislino izkazala *C. puteana*, ki je prenehala rasti že pri 100 ppm v hranilnem gojišču. Za večino ostalih gliv smo določili minimalno inhibitorno koncentracijo pri 200 ppm, edino gliva bele trohnobe *H. fragiforme* je še uspevala na hranilnem gojišču z 200 ppm. Ta gliva je prenehala rasti šele na gojišču s koncentracijo 400 ppm (preglednica 14).

Preglednica 14: Zaustavitev rasti posameznih vrst gliv v odvisnosti od koncentracije B

VRSTA TROHNOBE	VRSTA GOBE	Koncentracija B / Zaustavitev rasti							
		K. V.	NNN	NN	S	V	VV	VVV	VVVV
		0	6,25 ppm	12,5 ppm	25 ppm	50 ppm	100 ppm	200 ppm	400 ppm
RJAVA	<i>Antrodia vaillantii</i>	0%	6%	4%	6%	10%	82%	100%	100%
	<i>Gloeophyllum trabeum</i>	0%	-8%	-1%	0%	32%	73%	100%	100%
	<i>Coniophora puteana</i>	0%	4%	-10%	2%	26%	100%	100%	100%
	<i>Lentinus lepideus</i>	0%	5%	4%	-6%	0%	49%	100%	100%
	<i>Serpula lacrymans</i>	0%	-3%	0%	-2%	4%	91%	100%	100%
BELA	<i>Trametes versicolor</i>	0%	-14%	-14%	3%	22%	38%	100%	100%
	<i>Hypoxylon fragiforme</i>	0%	0%	0%	0%	0%	34%	96%	100%
MODRENJE	<i>Aureobasidium pullulans</i>	0%	4%	8%	32%	57%	76%	100%	100%
	<i>Sclerophoma pythiophila</i>	0%	-3%	14%	23%	58%	68%	100%	100%

V kolikor primerjamo med seboj odpornost gliv rjave trohnobe, bele trohnobe in gliv modrivk na bor je razvidno, da so na bor najbolj občutljive glive rjave trohnobe. Večina jih ima že močno inhibirano rast (več kot 70 % inhibicija) pri koncentraciji 100 ppm. Glivi bele trohnobe imata pri isti koncentraciji manj kot 40 % inhibicijo rasti. Kljub temu, da številni avtorji poročajo o veliki učinkovitosti gliv modrivk na borove učinkovine (Lesar in Humar, 2007b), mi tega v našem testu nismo potrdili.

V kolikor primerjamo učinkovitost borove kisline z učinkovitostjo bakrovih spojin, vidimo da je učinkovitost testirane spojine bistveno bolj enakomerna. Interval minimalne inhibitorne koncentracije se giblje med 100 in 400 ppm. Pri bakrovih učinkovinah je ta razpon bistveno širši. Za zaustavitev rasti pisane ploskocevke zadostuje 160 ppm, kar je primerljivo z borom. Po drugi strani pa moramo v gojišče vnesti bistveno višje koncentracije bakra, če hočemo zaustaviti rast navadne tramovke (640 ppm). Med tem ko potrebujemo za zaustavitev tolerantnih izolatov bele hišne gobe med 1000 in 1500 ppm Cu (Humar in Lesar, 2007b). Iz primerjave učinkovitosti bakrovih in borovih učinkovin je razvidno, da je učinkovitost bora enakomernejša in v večini primerov večja od učinkovitosti bakrovih spojin.

Eden izmed ciljev diplomske naloge je bila tudi primerjava rezultatov presejalnega testa z rezultati mini blok testa. Žal se je izkazalo, da smo med impregnacijo v smrekove vzorce vnesli več borovih učinkovin kot smo predvideli. Kakorkoli, najnižja koncentracija borovih učinkovin v lesu je bila v mejah, kjer nekateri avtorji še poročajo o razkroju. Izkazalo se je, da že relativno nizke koncentracije bora v lesu popolnoma preprečijo delovanje lesnih gliv. V našem primeru nobena izmed testiranih gliv ni uspela razkrojiti več kot 3 % mase vzorcev impregniranih z najnižjo koncentracijo borove kisline (navzem = 0,80 kg/m³ BAE). Zato bo potrebno v eni izmed prihodnjih nalog ponoviti test z manjšimi navzemi.

V praksi se za impregnacijo uporabljajo višji navzemi, oziroma koncentracije borovih učinkovin. Razlog za to je relativno preprost. Projektante je strah morebitnega izpiranja, zato želijo s prekomernimi navzemi zagotoviti, da bo vsaj del bora ostal v lesu. Na veliko učinkovitost borovih spojin pa kaže še naslednji podatek. Izgube mas kontrolnih vzorcev, ki so bili glivam izpostavljeni poleg impregniranih vzorcev, so bile bistveno manjše od

kontrolnih vzorcev, ki smo jih glivam izpostavili v kozarcih brez prisotnosti impregniranih vzorcev (preglednica 12).

Iz rezultatov diplomske naloge je razvidno, da je bor zelo učinkovit fungicid. V eni izmed prihodnjih diplomskih nalog bo potrebno ponoviti mini blok test in glivam izpostaviti vzorce, ki bodo impregnirani še z nižjimi koncentracijami borove kisline v zaščitnem pripravku in na ta način določiti še minimalne inhibitorne koncentracije (navzeme) na z borom impregniranem lesu.

6 SKLEPI

Na hranilnem gojišču, brez dodanih biocidov, so vse glive normalno prirasle na hranilno gojišče. Najhitreje je petrijevke prerasel micelij glive Hf (*Hypoxylon fragiforme*), ki je že v šestih dneh prerasel celotno površino gojišča (7,9 cm). Primerljivo s to glivo, je na kontrolnem gojišču uspevala tudi gliva pisana ploskocevk - Tv (*Trametes versicolor*). Najmanjše prirastke smo izmerili pri glivi modrivki - Aup (*Aureobasidium pullulans*) in kletni gobi - Cp (*Coniophora puteana*), ki sta v devetih dneh zrastle le 4,3 cm oziroma 4,1 cm.

Med testiranimi glivami, je največjo občutljivost na borovo kislino v hranilnem gojišču izkazala kletna goba, ki je prenehala rasti že pri 100 ppm bora v hranilnem gojišču. Za večino ostalih gliv smo določili minimalno inhibitorno koncentracijo pri 200 ppm, edino gliva bele trohnobe *H. fragiforme* je še uspevala na hranilnem gojišču z 200 ppm. Ta gliva je prenehala rasti šele na gojišču s koncentracijo 400 ppm B. Izdelali smo tudi zanimivo raziskavo glede izgube mas kontrolnih, smrekovih vzorcev. Večina gliv rjave trohnobe je povzročila znatno izgubo mase. Največjo izgubo mase smo opazili pri kontrolnih vzorcih izpostavljenih glivi *G. trabeum*, ki so izgubili kar 49,6 % svoje mase, sledi gliva *A. vaillantii* z 28,7 % izgube mase in *C. puteana* z relativno nizkih 15,4 %. Pri tej glivi so tako nizke izgube mase relativno pogoste, zato smo, kljub nizki izgube mase ta rezultat smatrali za veljavnega.

Zelo veliko učinkovitost borovih spojin pa vidimo tudi iz podatkov o izgubah mase. Izgube mas kontrolnih vzorcev, ki so bili glivam izpostavljeni poleg impregniranih vzorcev, so bile bistveno manjše od kontrolnih vzorcev, ki smo jih glivam izpostavili v kozarcih brez prisotnosti impregniranih vzorcev.

7 POVZETEK

Borovi pripravki že pri nizkih koncentracijah delujejo, kot učinkoviti fungicidi ter insekticidi. Predhodni testi so pokazali, da nobena gliva razkrojevka ni bila tolerantna na borove spojine in ne more razkrajati lesa, ki je prepojen z borom.

V diplomski nalogi pa smo preverjali, kakšne mejne vrednosti so potrebne, da preprečimo delovanje lesnih gliv. Tako smo v skladu z nestandardno mini blok metodo in presejalnim testom ugotavljali kakšna koncentracija borove kisline je potrebna, da preprečimo delovanje lesnih gliv. V raziskavi smo uporabili naslednje glive: *Aureobasidium pullulans*, *Sclerophoma pythiophila*, *Trametes versicolor*, *Hypoxylon fragiforme*, *Antrodia vaillantii*, *Gloeophyllum trabeum*, *Coniophora puteana*, *Lentinus lepideus* ter *Serpula lacrymans*.

Izkazalo se je, da bor v nizkih koncentracijah pri nekaterih glivah pospeši rast. To smo opazili predvsem pri glivah rjave trohnobe. Ko pa uporabimo večje količine pa lahko vidimo, da je bor zelo učinkovit biocid.

V kolikor primerjamo med seboj odpornost gliv bele trohnobe, rjave trohnobe in gliv modrivk na bor je razvidno, da so na bor najbolj občutljive glive rjave trohnobe. Večina jih ima že močno inhibirano rast (več kot 70 % inhibicija) pri koncentraciji 100 ppm. Glivi bele trohnobe imata pri isti koncentraciji manj kot 40 % inhibicijo rasti.

Žal s testiranjem na lesenih vzorcih nismo uspeli določiti minimalne inhibitorne koncentracije (navzema). Že najnižji navzem ($0,80 \text{ kg/m}^3$) je zadostoval za popolno zaustavitev rasti vseh gliv.

8 VIRI

1. Becker G. 1959. Beitrag zur Kenntnis der Wirksamkeit von Borverbindungen als Holzschutzmittel gegen Insekten und Pilze. Holz als Roh-und Werkstoff, 12: 483-489
2. Dickinson D. J., Murphy R. J. 1989. British Wood Preserves Association Annual Convention, Paper 6.
3. Eaton R. A., Hale M.D.C., 1993. Wood decay, pests and protection. London, Chapman and Hall: 250 str.
4. Freitag C., Morrell J.J. 2005. Development of Threshold values for boron and fluoride in non soil contact applications. Forest Products Journal, 55,4: 97-101
5. Humar M. 2004. Zaščita lesa danes – jutri. Les, 56: 184 - 188
6. Humar M., Lesar B. 2008. Fungicidal properties of individual components of copper-ethanolamine-based wood preservatives. Int. biodeterior. Biodegrad., 2008, vol. 62, no. 1, str. 46-50
7. Jecl B. 2005. Fiksacija pripravka na osnovi bakra, etanolamina, oktanojske kisline in bora v impregniranem lesu. Diplomsko delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo: 42 str.
8. Jonge I. J. 1987. The efficacy of boron preparations. International Research Group for Wood Preservation. IRG/WP 3400, 7 str.
9. Kervina-Hamović Lj. 1990. Zaščita lesa. Ljubljana, BF - Oddelek za lesarstvo
10. Kolman U. 1998. Določanje fungicidnih aktivnosti alkilamonijevih dimetilditiokarbomatov in dimetilaminopropionitrila. Dipl. delo. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za lesarstvo: 13 -16
11. Larnøy E., Westin M., Källander B., Lande S. 2007. Wood furfurylation process development. Part 1: Oscillating pressure method. The International Research Group On Wood Preservation, IRG Document No: IRG/WP 07-40376.
12. Lesar B., Humar M. 2007a. Borove spojine za zaščito lesa I. del: Zgodovina in toksične lastnosti. Les, 59: 7-8
13. Lesar B., Humar M. 2007b. Borove spojine za zaščito lesa II. del: Vezava v les ter fungicidne in insekticidne lastnost. Les, 59: 9-10

14. Leithoff H., Blancquaert P. 2006. The future of wood protection in the light of the BPD. Bruselj, COST e37: 26 str.
15. Lloyd J.D. 1998. Borates and their biological applications. International Research Group for Wood Preservation. IRG/WP 30178, 26
16. Lloyd J. 1996. International status of borate preservative systems. Second International Conference on Wood Protection with Diffusible Preservatives and Pesticides. 9 str.
17. Pohleven F., Petrič M., Zupin J. 2000. Effect of mini-block test conditions on activity of *Coniophora puteana*. The International Research Group on Wood Preservation. Document IRG/WP 00- 20184, 9.
18. Pohleven F. 2000. Ogroženost lesnih predmetov kulturne dediščine z glivami. Les v restavratorstvu: 25 - 30
19. Peylo A. 1995. Auswaschung von Boraten aus chemisch geschutztem Holz. Hamburg, Universität Hamburg. Dissertation: 145 str.
20. Peylo A., Willeitner H. 1995. The problem of reducing Leachability of Boron by Water Repellents. *Holzforschung*, 49, 211-216
21. Podlesnik B. 2007. Učinkovitost pripravkov na osnovi bora in etanolamina na lesne glive. Dipl. delo. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za lesarstvo: 44 str.
22. Rainer J. B. 1993. Borates as wood preservatives – an environmental, health and safety perspective. International Research Group on Wood Preservation. IRG/WP 50001-93, 59str.
23. Raspor P., Smole – Možina S., Podjavoršek J., Pohleven F., Gogala N., Nekrep F. V., Hacin J., 1995. ZIM: Zbirka industrijskih mikroorganizmov. Katalog biokultur. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, katedra za biotehnologijo: 98 str.
24. Richardson B. A. 1993. Wood Preservation. Second edition. London, Glasgow, E & FN Spon: 226 str.
25. Roper W.L. 1992. Toxicological profile for boron. North Carolina, Agency for Toxic Substance and Disease Registry U.S. Public Health Service: 110 str.
26. SIST EN 113. Determination of toxic values of wood preservatives against wood destroying Basidiomycetes cultured on an agar medium. 1995: 25 str.

27. SIST EN 335 – 1/2. Durability of wood and derived materials – definition of hazard classes of biological attack – part 1 and 2. 1992: 13 str.
28. SIST EN 350-2. Durability of wood and wood-based products, Natural durability of solid wood. Part 2: Guide to natural durability and treatability of selected wood species of importance in Europe. 1995: 42 str.
29. Voh B. 2001. Izpiranje spojine borove kisline in etanolamina iz lesa, premazanega z lazurami. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za lesarstvo: 60 str.
30. Zabel R.A., Morell J.J. 1992. Wood Microbiology, Decay and its Prevention. San Diego, Academic press Inc.: 476 str.

ZAHVALA

Ob koncu študija, bi se sprva rad zahvalil svojemu mentorju, doc. dr. HUMAR Mihi, ki mi je pomagal s strokovnim vodenjem in najrazličnejšimi nasveti ter asistentu LESAR Boštjanu, kateri mi je nudil pomoč pri opravljanju poizkusov.

Zahvala gre tudi prof. dr. POHLEVEN Francu za opravljeno recenzijo diplomske naloge in vsem ostalim sodelavcem Katedre za patologijo in zaščito lesa, ki ste mi na kakršen koli način pomagali pri izvedbi naloge.

Zahvalil bi se rad tudi svoji družini, sošolcem in vsem prijateljem.