

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA LESARSTVO

Jerneja VIDEMŠEK

**VPLIV PUFROV NA ODPORNOST Z BAKROVIMI PRIPRAVKI
ZAŠČITENEGA LESA PRED TROHNENJEM**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

**INFLUENCE OF BUFFERING SOLUTIONS ON DURABILITY OF
COPPER TREATED WOOD AGAINST DECAY**

GRADUATION THESIS

University studies

Ljubljana, 2009

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 diplomskega dela imenoval doc. dr. Miha Humarja, ter za recenzenta 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. Tudi vse uporabljene fotografije so posnete tekom raziskav.

Jerneja Videmšek

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 630*841
KG	zaščita lesa/lesne glive/baker/bakrovi pripravki/vrednost pH/razkroj
AV	VIDEMŠEK, Jerneja
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	2009
IN	VPLIV PUFROV NA ODPORNOST Z BAKROVIMI PRIPRAVKI ZAŠČITENEGA LESA PRED TROHNENJEM
TD	Diplomsko delo (Univerzitetni študij)
OP	X, 48 str., 8 pregl., 15 sl., 62 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
AI	Trajnost lesa je odvisna od njegove naravne odpornosti, konstrukcijskih rešitev vgradnje in ne nazadnje uporabljene kemične zaščite. Za zaščito se še posebej pogosto uporabljajo bakrovi pripravki. V praksi se je izkazalo, da je učinkovitost teh pripravkov včasih nezadostna. Zato smo želeli ugotoviti ali lahko s spremembo vrednosti pH impregniranega lesa, upočasnimo trohnenje lesa, zaščitenega z bakrovimi pripravki. Poizkus smo izvedli na beljavi smrekovih vzorcev z nestandardno mini blok metodo. Uporabili smo glive: <i>Antrodia vaillantii</i> , <i>Gloeophyllum trabeum</i> , <i>Hypoxylon fragiforme</i> , <i>Serpula lacrymans</i> . Vzorce smo najprej vakuumsko impregnirali z 2 različnima raztopinama (CC in CuE) različnih koncentracij ($c_{Cu} = 0,1 \%$ in $c_{Cu} = 0,25 \%$) ter jih nato prepojili s pufri: pH 5, pH 7, pH 9 in H ₂ O. Rezultati so pokazali, da lahko učinkovito upočasnimo razkrojne procese, ki jih povzroča na baker tolerantna gliva <i>Antrodia vaillantii</i> , z višanjem vrednosti pH, saj je v bazičnem okolju bistveno manj razkraja kot v kislem. Tudi glivama <i>Hypoxylon fragiforme</i> in <i>Serpula lacrymans</i> ne ustrezajo bazične pH vrednosti lesa. Po drugi strani pa visoka pH vrednost lesa ustreza glivi <i>Gloeophyllum trabeum</i> , ki močno razkraja z bakrovimi pripravki zaščiteni les, naknadno prepojen z bazičnimi pufri.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN	Dn
DC	UDC 630*841
CX	wood preservation/wood fungi/copper/copper based preparation/pH value/decay
AU	VIDEMŠEK, Jerneja
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	2009
TI	INFLUENCE OF BUFFERING SOLUTIONS ON DURABILITY OF COPPER – TREATED WOOD AGAINST DECAY
DT	Graduation Thesis (University studies)
NO	X, 48 p., 8 tab., 15 fig., 62 ref.
LA	sl
AL	sl/en
AB	Durability of wood depends on natural durability, design, and applied chemical preservation. One of the most important biocides used in commercial wood preservatives are copper compounds. Recent experiences showed that despite of the widely used copper compounds their efficacy was not sufficient. The purpose of this work is to elucidate, if the pH of the wood improves fungicidal properties of the copper treated wood. The experiment was performed on spruce softwood specimens, exposed to wood decay fungi according to the mini block procedure. In the experiment the following fungi were utilised: <i>Antrodia vaillantii</i> , <i>Gloeophyllum trabeum</i> , <i>Hypoxylon fragiforme</i> , <i>Serpula lacrymans</i> . Specimens were vacuum impregnated with 2 different copper based solutions (CC and CuE) of 2 different concentrations ($c_{Cu} = 0.1 \%$ and $c_{Cu} = 0.25 \%$). Impregnated specimens were afterwards soaked with 3 aqueous buffer solutions: pH 5, pH 7, pH 9 and H ₂ O. The results show that higher (basic) pH values significantly increase efficacy of the copper based preservatives against copper tolerant fungi <i>Antrodia vaillantii</i> . Basic pH values are not favoured by <i>Hypoxylon fragiforme</i> and <i>Serpula lacrymans</i> , as well. In contrary, wood decay fungus <i>Gloeophyllum trabeum</i> decays considerably more alkaline copper treated wood compared to copper treated wood soaked with water only.

KAZALO

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO.....	V
KAZALO SLIK.....	VIII
KAZALO PREGLEDNIC	IX
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	X
1 UVOD.....	1
2 PREGLED LITERATURE	3
2.1 ZGODOVINA ZAŠČITE.....	3
2.2 TRAJNOST LESA	3
2.3 DEJAVNIKI RAZKROJA	5
2.3.1 <i>Bakterije</i>	6
2.3.2 <i>Insekti</i>	6
2.3.3 <i>Ptice</i>	7
2.3.4 <i>Glive</i>	7
2.3.4.1 Dejavniki, ki vplivajo na razvoj gliv	8
2.3.4.1.1 Hrana	8
2.3.4.1.2 Vlaga	8
2.3.4.1.3 Zračna vlažnost	9
2.3.4.1.4 Temperatura	9
2.3.4.1.5 Zrak	9
2.3.4.1.6 Svetloba.....	10
2.3.4.1.7 Vrednost pH	10
2.3.4.2 Delitev gliv glede na barvne spremembe	10
2.3.4.2.1 Plesni	10
2.3.4.2.2 Modrenje	11
2.3.4.2.3 Rjava ali destruktivna trohnoba.....	11

2.3.4.2.4	Bela ali korozivna trohnoba	11
2.3.4.2.5	Mehka trohnoba ali soft rot	12
2.4	ZAŠČITA LESA	12
2.4.1	Zgodovina zaščite lesa	12
2.4.2	Kemična zaščita lesa	13
2.5	INTERAKCIJA GLIV Z BAKROVINI PRIPRAVKI	14
2.5.1	Vpliv kovin na glive	14
2.5.2	Bakrove učinkovine v zaščiti lesa	14
2.5.3	Tolerantnost	15
2.5.4	Uporaba tolerantnih gliv pri ravnanju z odsluženim lesom	18
3	MATERIALI IN METODE	20
3.1	PRIPRAVA VZORCEV	20
3.2	PRIPRAVA ZAŠČITNIH PRIPRAVKOV	20
3.2.1	Impregnacija vzorcev z zaščitnimi pripravki	21
3.3	PRIPRAVA PUFERSKIH RAZTOPIN	23
3.3.1	Prepojitev impregniranih in kontrolnih vzorcev s puferskimi raztopinami	23
3.4	PRIPRAVA HRANILNEGA GOJIŠČA IN GLIVNIH KULTUR	24
3.5	OPIS UPORABLJENIH LESNIH GLIV	25
3.5.1	Bela hišna goba – <i>Antrodia vaillantii</i>	25
3.5.2	Navadna tramovka – <i>Gloeophyllum trabeum</i>	26
3.5.3	Siva hišna goba - solzivka – <i>Serpula lacrymans</i>	27
3.5.4	Ogljena kroglica – <i>Hypoxylon fragiforme</i>	27
3.6	IZPOSTAVITEV VZORCEV LESNIM GLIVAM	28
4	REZULTATI IN RAZPRAVA	31
4.1	MOKRI NAVZEM	31
4.2	IZGUBA MASE KONTROLNIH VZORCEV	32
4.2.1	Vpliv vrednosti pH na izgubo mase kontrolnih vzorcev	33
4.3	VPLIV ZAŠČITNEGA PRIPRAVKA, KONCENTRACIJE IN VREDNOSTI pH NA IZGUBO MASE VZORCEV IZPOSTAVLJENIH GLIVI <i>GLOEOPHYLLUM TRABEUM</i>	
	36	
4.4	VPLIV ZAŠČITNEGA PRIPRAVKA, KONCENTRACIJE IN VREDNOSTI pH NA IZGUBO MASE VZORCEV IZPOSTAVLJENIH GLIVI <i>HYPOXYLON FAGIFORME</i> ...	37

4.5	VPLIV ZAŠČITNEGA PRIPRAVKA, KONCENTRACIJE IN VREDNOSTI pH NA IZGUBO MASE VZORCEV IZPOSTAVLJENIH GLIVI <i>ANTRODIA VAILLANTII</i>	38
4.6	VPLIV ZAŠČITNEGA PRIPRAVKA, KONCENTRACIJE IN VREDNOSTI pH NA IZGUBO MASE VZORCEV IZPOSTAVLJENIH GLIVI <i>SERPULA LACRYMANS</i>	40
5	SKLEPI	41
6	POVZETEK	43
7	VIRI	44
ZAHVALA		

KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Biotični in abiotični dejavniki razkroja (Kervina – Hamović, 1990)	6
Slika 2: Shema procesa detoksifikacije lesa zaščenega s CC, CCA ali CCB pripravkom (Leithoff in Peek, 1998)	19
Slika 3: Vakuumska komora, proizvajalec Kambič (levo) in sušilna komora, proizvajalec Kambič (desno)	1
Slika 4: Elektronska tehtnica SARTORIUS	22
Slika 5: Avtoklav proizvajalca Sutjeska	25
slika 6: Brezprašna komora - lamilarij za inkulacijo (levo) in rastna komora (desno)	1
Slika 7: Petrijevke z vzorci izpostavljeni glivi <i>Gloeophyllum trabeum</i>	29
Slika 8: Notranjost rastne komore s petrijevkami	29
Slika 9: Povprečni mokri navzemi preizkušancev v odvisnosti od sestave pripravkov	32
Slika 10: Povprečne izgube mase nezaščenih smrekovih preizkušancev po osmih tednih izpostavitve lesnim glivam	33
Slika 11: Vpliv pufrov z različno vrednostjo pH, na izgubo mase kontrolnih smrekovih vzorcev, po osem tedenski izpostavitvi lesnim glivam	35
Slika 12: Vpliv prepojitve z različnimi pufri na izgubo mase smrekovih vzorcev, impregniranih z različnimi bakrovimi pripravki po osmih tednih izpostavitve glivi <i>Gloeophyllum trabeum</i>	37
Slika 13: Vpliv prepojitve, z različnimi pufri, na izgubo mase smrekovih vzorcev, impregniranih z različnimi bakrovimi pripravki, po osmih tednih izpostavitve glivi <i>Hypoxylon fragiforme</i>	38
Slika 14: Vpliv prepojitve, z različnimi pufri, na izgubo mase smrekovih vzorcev, impregniranih z različnimi bakrovimi pripravki, po osmih tednih izpostavitve glivi <i>Antrodia vaillantii</i>	39
Slika 15: Vpliv prepojitve, z različnimi pufri, na izgubo mase smrekovih vzorcev, impregniranih z različnimi bakrovimi pripravki, po osmih tednih izpostavitve glivi <i>Serpula lacrymans</i>	40

KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Evropski razredi izpostavitve lesa glede na mesto uporabe (SIST EN 335 – 1/2, 1992)	4
Preglednica 2: Evropski razredi izpostavitve lesa glede na škodljivce (SIST EN 335 – 1/2, 1992)	5
Preglednica 3: Sestavine zaščitnega pripravka CuE V ($c_{Cu} = 0,25\%$)	20
Preglednica 4: Sestavine zaščitnega pripravka CC V ($c_{Cu} = 0,25\%$)	20
Preglednica 5: Impregnacija vzorcev z različnimi raztopinam	21
Preglednica 6: Lesne glive, uporabljene pri izvedbi poizkusa	25
Preglednica 7: Povprečni navzem zaščitnega pripravka glede na sestavo pripravkov.....	31
Preglednica 8: Vpliv prepojitve kontrolnih neimpregniranih vzorcev z različnimi pufrskimi razstopinami na izgubo mase smrekovih vzorcev po osemtedenski izpostavitvi lesnim glivam.....	35

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

Hf	<i>Hypoxylon fragiforme</i> (ogljena kroglica)
Pv	<i>Antrodia vaillantii</i> (bela hišna goba)
Gt2	<i>Gloeophyllum trabeum</i> (navadna tramovka)
Sl	<i>Serpula lacrymans</i> (siva hišna goba)
CuE V	Impregnacijsko sredstvo na osnovi bakrovega(II) sulfata ($\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$) in etanolamina ($\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), višje koncentracije ($c_{\text{Cu}} = 0,25\%$)
CuE N	Impregnacijsko sredstvo na osnovi bakrovega(II) sulfata ($\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$) in etanolamina ($\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), nižje koncentracije ($c_{\text{Cu}} = 0,1\%$)
CC V	Impregnacijsko sredstvo na osnovi bakrovega(II) sulfata ($\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$) in kalijevega(IV) dikromata ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), višje koncentracije ($c_{\text{Cu}} = 0,25\%$)
CC N	Impregnacijsko sredstvo na osnovi bakrovega(II) sulfata ($\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$) in kalijevega(IV) dikromata ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), nižje koncentracije ($c_{\text{Cu}} = 0,1\%$)
CCA	Impregnacijsko sredstvo na osnovi bakrovega(II) sulfata ($\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$), kalijevega(IV) dikromata ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) in arzena
CCB	Impregnacijsko sredstvo na osnovi bakrovega(II) sulfata ($\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$), kalijevega(IV) dikromata ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) in borove kisline (H_3BO_3)
PCP	pentaklorofenol
TBTO	tributilkositrovoksid
Cu	baker, oziroma bakrove spojine

1 UVOD

Les je eden izmed najstarejših uporabnih materialov. Za raznovrstne namene ga uporabljamo že več tisočletij. Njegovi uporabniki pa so se pogosto srečali tudi z neustrezno trajnostjo, saj je velika večina evropskih lesnih vrst relativno slabo odpornih. Tako so si že v zgodovini prizadevali trajnost lesnih izdelkov čim bolj podaljšati in so jih zato ščitili z različnimi zaščitnimi sredstvi. Poleg zaščite, vpliva na trajnost lesnih izdelkov tudi ravnanje z njimi. Staro znanje o zaščiti lesa se je prenašalo iz roda v rod vendar se ga je v zadnjih 50 letih, v "dobi kemije" velikokrat povsem pozabilo (Unger s sod., 2001).

Pred industrijsko revolucijo je bil les odpornejših drevesnih vrst strateška surovina. Ker so bili evropski gozdovi, zaradi potreb železarstva in steklarstva zelo izčrpani, je še pred nekaj stoletji lesa močno primanjkovalo. Hrastovi gozdovi, ki so bili v večini v državni lasti, so bili namenjeni le za gradnjo ladij, infrastrukture in orožja. V Angliji so še danes ponosni na hrastove gozdove, ki jih je za gradnjo ladij pred skoraj štirimi stoletji dal zasaditi veliki vojskovodja Oliver Cromwell.

Tudi naši predniki so z namenom, da lesu zagotovijo čim daljšo življenjsko dobo, razvili obsežno znanje. Za kakovostno surovino so morali poskrbeti že v gozdu, saj so za pravi namen znali izbrati ustrezno vrsto lesa. Tega so se naučili iz izkušenj in opazovanj narave (Humar, 2009). Kljub izkušnjam in znanju, je bila trajnost večine evropskih lesov pogosto nezadostna. Šele po razvoju moderne zaščite lesa, po letu leta 1838, je bila mogoča gradnja zanesljive prometne in telekomunikacijske strukture.

Področje zaščite lesa postaja v zadnjem času zelo aktualno. V zadnjih petnajstih letih je bilo na področju zaščitnih pripravkov za les narejenega več kot prej v dvesto letih. Razlogov za ta pojav je več. Najpomembnejši vzrok temu je naraščajoča okoljska zavest, da se želimo izogniti strupenim kemikalijam. Po drugi strani pa zaradi varovanja tropskih gozdov ne posegamo po naravno odpornem lesu tropskih vrst (Connell, 2004).

Na letni ravni se v Evropski uniji zaščiti več kot 24 milijonov kubičnih metrov lesa. Podatki o količini impregniranega lesa v drugih delih sveta so zelo pomanjkljivi, vendar pa domneve kažejo, da se je količina tega lesa v zadnjih petnajstih letnih skoraj podvojila (Suttie s sod.,

2008). Prav tako se je močno spremenila tudi namembnost zaščitenega lesa. Nekoč največji uporabniki zaščitnega lesa: železniški pragovi in drogovi za električne in telefonske napeljave, danes predstavljajo le pet odstotkov vseh impregniranih izdelkov. Največ zaščitenega lesa se danes uporabi za konstrukcije in izdelke, namenjene prostočasnim dejavnostim (objekti, ostrešja, igrala, vrtno pohištvo, pergole...).

Velik premik na trgu zaščitnih pripravkov za les je v letu 2006 povzročila implementirana direktiva o biocidnih izdelkih, zaradi katere se je s trga umaknilo kar 60 odstotkov biocidov, ki so jih do tedaj uporabljali za zaščito lesa (BPD, 1998). Novejši pripravki in postopki so bistveno manj strupeni kot tisti, ki so se uporabljali pred desetletji.

Bakrovi pripravki, kljub dolgoletni uporabi, še vedno ostajajo ena izmed najpomembnejših aktivnih učinkovin za zaščito lesa. Razlogov za to je več. Najpomembnejši razlog za pogosto uporabo je ugodno razmerje med ceno in učinkovitostjo. Žal pa se v zadnjem času pojavljajo sevi gliv, ki lahko razkrajajo tudi les impregniran z bakrovimi pripravki. V prejšnjih raziskavah je bilo že ugotovljeno, da na fungitoksičnost bakrovih učinkovin močno vpliva vrednost pH. V kislem okolju so bakrove spojine manj fungitoksične kot v nevtralnem. Zato smo želeli z uporabo pufrov glivam onemogočiti zakisanje podlage, ter s tem vplivati na delovanje bakrovih zaščitnih pripravkov v lesu.

2 PREGLED LITERATURE

2.1 ZGODOVINA ZAŠČITE

Želja po obstojnosti lesa je stara kot človeška civilizacija. Stare civilizacije so les namakale v morski ali slani vodi ali pa so ga obžgale. V starem Egiptu so že uporabljali arzen in različne anorganske soli (Na, Cl, S) za mumificiranje ter zaščito predmetov, ki so jih pridajali umrlim. Egipčansko znanje so nadgradili stari Grki in Rimljani ter ostale antične kulture (Unger s sod., 2001; Uhelj, 2006).

2.2 TRAJNOST LESA

Lastnost živega je njegova minljivost. Les je kot organska snov podvržen propadanju. V ekosistemu je razgradnja lesa bistvenega pomena, ker predstavlja hrano številnim organizmom in s tem uravnava tokokrog življenja v gozdu. Za gospodarsko uporabo lesa pa si želimo, da bi lesni izdelek čim dlje obdržal prvotno zasnovano podobo ter vrednost in imel veliko naravno odpornost.

Naravna odpornost je lastnost, ki jo ima les v naravnem, zdravem stanju torej takrat, ko nanj še niso delovali škodljivi dejavniki. Ta lastnost je odvisna od posamezne drevesne vrste in variira celo znotraj nje. Na splošno je kasni les odpornejši od ranega, zato čim večji je delež kasnega lesa, tem odpornejši je izdelek. Določena vrsta je lahko odporna proti enim, ne pa tudi proti drugim škodljivcem.

Langendorf (1961) razvršča lesove naslednjih drevesnih vrst glede na naravno odpornost v tri skupine:

- **zelo odporne drevesne vrste:** jedrovina nekaterih vrst hrasta, kostanja, tise, macesna, limba, robinije in duglazije
- **precej odporen les imajo jedrovine drevesnih vrst:** bora, jelke, smreke, jesena in jablane
- **slabo odporen les imajo drevesne vrste:** bukev, javor, hruška, topol, breza, jelša, lipa, vrba in beljave vseh lesnih vrst.

Drevesnih vrst z visoko naravno odpornostjo je malo, zato se tega lesa ne uporablja za masovno proizvodnjo izdelkov. Les, ki je namenjen široki uporabi, za svojo trajnost potrebuje

ustrezno izvedene postopke zaščite. S tem ko naravno neodporen les kemično zaščitimo, preprečimo pojav dejavnikov razkroja in s tem učinkovito podaljšamo uporabno vrednost lesnih izdelkov. Pri tem velja poudariti, da kemično zaščiten les uporabljamo le, če lesa nismo uspeli zaščiti na drug, okolju primernejši način.

Trajnost lesnih izdelkov lahko povečamo na več načinov. Eden izmed njih je vsekakor primerna izbira lesne vrste in konstrukcijska zaščita. Druga možnost je kemična zaščita. Vrsto zaščitnega pripravka in same zaščite izberemo glede na naravno odpornost lesa in mesto uporabe. Pri tem si pomagamo z evropskimi standardi izpostavitve lesnih izdelkov glede na mesto uporabe (preglednica 1) in povzročitelje (preglednica 2). Glede na razred izpostavitve lahko določimo potencialne možne škodljivce in s tem tudi preventivno zaščito.

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

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	stalno nad 20%
IV	v tleh ali v sladki vodi	stalno izpostavljen močenju	stalno nad 20%
V	v morski vodi	stalno izpostavljen morski vodi	stalno nad 20%

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

Razred izpostavitve	Mesto uporabe	Povzročitelji ogroženosti			
		Insekti	Glive	Izpiranje	Modrivke
I.	nad tlemi, pokrito	+	-	-	-
II.	nad tlemi, pokrito, nevarnost močenja	+	+	-	-
III.	nad tlemi, nepokrito	+	+	+	+ / -
IV.	v tleh ali vodi	+	+	+	+
V.	v morski vodi	+	-	+	-

Lesne izdelke v prvem razredu izpostavitve ogrožajo samo insekti. Z višanjem razreda izpostavitve se povečuje tudi število škodljivcev, oziroma se večja ogroženost lesa. Tako imamo pri lesu, ki je v stiku s tlemi in vodo, največ dejavnikov ogroženosti lesa. Pri kemični zaščiti lesa v stiku z vodo moramo biti še posebej pozorni, saj moramo zaradi okoljevarstvenih norm uporabljati čim manj strupenih sredstev z minimalnim izpiranjem. Na žalost je to zelo težko doseči, vendar pa veliko raziskav poteka prav v tej smeri. Poleg čim boljše vezave, želimo pri novejših zaščitnih pripravkih doseči tudi čim bolj ciljno delovanje. Novejša zaščitna sredstva imajo posledično točno določen namen zaščite in ožji spekter delovanja (Humar, 2004). Na primer, les zaščiten s pripravki na osnovi bakra in etanolamina, bomo uporabljali le v tretjem in četrtem razredu izpostavitve. V drugem razredu pa bomo uporabljali bistveno manj strupene pripravke na osnovi bora.

2.3 DEJAVNIKI RAZKROJA

- **Abiotski dejavniki** v veliki meri pripravijo les za nadaljnji razkroj z biotskimi dejavniki. Med abiotske dejavnike prištevamo vremenske vplive (dež, sneg, veter, mraz, visoke temperature...), ultravijolične žarke ter kemične in mehanske vplive. Med največje destruktorje lesa spada ogenj, ki lahko naenkrat uniči večje količine lesa (slika 1).
- **Biotski dejavniki** so bolj uničujoči kot abiotski. Povzročajo spremembe v notranjosti lesa in jih zaradi tega težje in kasneje opazimo. Najpomembnejši biotski destruktorji

lesa so: bakterije, insekti, ptice, sesalci in v našem podnebnem pasu najbolj pogoste razkrojevalke, lesne glive (slika 1).



Slika 1: Biotični in abiotični dejavniki razkroja (Kervina – Hamović, 1990)

2.3.1 Bakterije

Bakterije spadajo med enocelične organizme brez oblikovanega celičnega jedra in se množijo s cepitvijo. Najdemo jih v vseh ekosistemih. Sposobne so preživeti zelo neugodne življenjske razmere, saj imajo izredno sposobnost prilagajanja (nekatero živijo tudi pri 100 °C). Prehranjujejo se z organskimi snovmi in so zelo pomembne za kroženje snovi v naravi. Na celični steni povzročijo erozijo in s tem glivam omogočijo lažji razkroj lesa. Bakterije na lesu povzročajo gnitje.

2.3.2 Insekti

Insekti so skupina živali, ki po množičnosti prekašajo vsa druga živa bitja na Zemlji. Do danes je opisanih okoli milijon vrst. Insekte, ki na kakršenkoli način živijo v lesu, imenujemo ksilofagni insekti. Delimo jih glede na različne kriterije: po količini vlage v lesu, po debelini materiala in globini prodiranja ter po izvoru.

Glede na stanje lesa delimo insekte na:

- primarne (napadajo zdrava drevesa)
- sekundarne (napadajo fiziološko oslabela in sveže posekana drevesa)

- terciarne (napadajo zračno suh les)
- kvartarne (napadajo moker in že nekoliko razkrojen les) (Pohleven in sod., 1999)

2.3.3 Ptice

Ptice se pojavljajo v trhljem lesu in se prehranjujejo z lesnimi insekti. Zaradi splošne koristnosti jih ne uvrščamo med lesne škodljivce.

2.3.4 Glive

Izum mikroskopa v osemnajstem stoletju je omogočil preučevanje hif in spor ter s tem prinesel velik napredek na področju poznavanja gliv. V primarni razdelitvi so bile glive postavljene v kraljestvo rastlin, leta 1969 pa je Whittaker uvrstil glive v samostojno kraljestvo živih bitij (Carile in Watkinson, 1994).

Glive najdemo v vseh ekosistemih: na kopnem, v vodi in v zraku. Glavne razlike, ki ločijo glive od rastlin:

- so brez klorofila
- glavna skeletna snov celičnih sten je hitin
- zalogo hrane skladiščijo v obliki glikogena
- imajo heterotrofen način prehranjevanja.

Glive, kot heterotrofni organizmi, se prehranjujejo na račun drugih organizmov. Pojavljajo se kot zajedavke (paraziti), simbionti (mikoriza) ali pa se hranijo z razkrojem mrtvih organizmov (saprofiti) (Benko in sod., 1987). Področje lesarstva zanimajo predvsem saprofitske glive t.i. gniloživke, ker s svojimi encimi razkrajajo komponente lesa in se na ta način oskrbujejo z organskimi snovmi (Pohleven, 2000).

Zgradba gliv sestoji iz prehranjevalnega in razmnoževalnega dela. Osnova prehranjevalnega dela so hife, ki prepletene med seboj tvorijo podgobje ali micelij. Celice hif izločajo encime, s katerimi glive razkrajajo les, nato pa produkte, ki jih potrebujejo za rast in razmnoževanje posrkajo vase. Skozi podgobje črpajo hrano in vodo ter se širijo na še neokužen les. Iz micelija se razvije razmnoževalni del ali trosnjak in je v veliki večini viden kot klobuk ali goba. Glive se razmnožujejo s trosi, ki se razvijejo na trosnjaku in se ob dozoritvi sprostijo v ozračje (Schmidt, 1994).

2.3.4.1 Dejavniki, ki vplivajo na razvoj gliv

Za razvoj in obstoj gliv so zelo pomembni nekateri fizikalni in kemijski dejavniki, kot so: hrana, vlaga, temperatura, zrak, svetloba. Da se glive normalno razvijajo in preživijo, morajo biti ti dejavniki čim bolj optimalni. Če v njihovem razvoju manjka eden ali več faktorjev, začne gliva slabeti, v skrajnih primerih lahko celo odmre. To spoznanje pa je pri zaščiti lesa in odpravljanju okužb bistvenega pomena.

2.3.4.1.1 Hrana

Temeljna hrana večine gliv je celuloza (40 – 50 %), ki jo razgrajujejo s svojimi encimi. Ker je celuloza tudi osnovno gradivo vsake celične stene lesnih celic, je razgradnja celuloze tudi razgradnja celične stene, s tem pa se seveda zmanjša trdnost, spremeni oblika in poslabša stabilnost celice.

Poleg celuloze je njihova hrana glivam tudi:

- lignin (20 – 30 %)
- hemiceluloza (15 – 35 %)
- ekstraktivne oz. aromatske snovi (1 – 3 %) – sladkorji, škrob, beljakovine, maščobe
- minerali (0,1 – 0,5%)

2.3.4.1.2 Vlaga

Biološki procesi v lesu potrebujejo zadostno količino vlage. V lesu je prisotna prosta in vezana voda. Prosta voda zapolnjuje celične lumne, medtem ko je vezana voda kemično vezana v oleseneli celični steni.

Pravšnja količina vode v lesu je bistvenega pomena za okužbo lesa in za rast gliv. Optimalna količina vlage za normalen razvoj gliv je med 35 in 55 %. Kadar je vlažnost lesa pod 20 %, pride do plazmolize, pri čemer voda prehaja iz hif v les in s tem povzroči odmiranje hif. Zaradi tega je les varen pred okužbo gliv. Okužbo lesa z glivami preprečuje tudi prevelika količina vode v lesu. Ta dva podatka sta zelo pomembna pri ukrepih zaščite lesa, saj lahko na relativno poceni način učinkovito zaščitimo les in uničimo glivo.

2.3.4.1.3 Zračna vlažnost

Zračna vlažnost ima pomembno vlogo pri kalitvi spor (infekcija) ter pri površinski rasti micelija. Posledično pa zračna vlažnost vpliva tudi na ravnovesno vlažnost lesa. Glive prenehajo rasti, če zmanjšamo količino vlage v zraku in izsušimo les. Nekatere glive pa lahko ostanejo v latentnem stanju dolgo časa in s tem počakajo na ponovne ugodne pogoje za njihovo rast. Spodnja meja relativne zračne vlage za razvoj gliv je 70 %, v nekaterih primerih tudi do 65 %. Optimalna relativna zračna vlažnost, ki jo glive potrebujejo za razvoj je 90 %, spore pa za infekcijo potrebujejo 92 % zračno vlažnost (Benko in sod., 1987).

2.3.4.1.4 Temperatura

Temperaturno območje v katerem se glive lahko razvijajo obsega temperature med 3 in 45 °C, najhitrejši razvoj pa bodo dosegle v temperaturnem intervalu med 20 in 30 °C. Glive lahko rastejo tudi pri temperaturah okoli 0 °C, imenujemo jih psihrotolerantne glive, glivam ki uspevajo pri temperaturah do 20 °C pa pravimo psihrofilne glive. Termofilne glive so tiste, ki ne morejo rasti pod 20 °C, medtem ko so termotolerantne sposobne preživeti pri temperaturi do 50 °C. Najvišja temperatura, pri kateri so izmerili rast glive, je bila 60 °C (Zabel in Morrell, 1992).

Ker v splošnem glive bolje prenašajo nižje temperature kot višje, lahko to njihovo lastnost uporabimo kot metodo za zatiranje lesnih gliv.

2.3.4.1.5 Zrak

Zrak je mešanica plinov. Sestavlja ga 78 % dušika (N₂), 21 % kisika (O₂), 0,03 % ogljikovega dioksida (CO₂) in 0,07 % ostalih plinov.

Čeprav glive ne potrebujejo veliko kisika, ne poznamo vrst, ki bi se lahko razvijale v lesu brez tega elementa.

Glede na potrebo po kisiku lahko glive razdelimo na:

- obligatne aerobe (glive, ki nujno potrebujejo kisik)
- fakultativne anaerobe (glive, ki lahko dihajo ali fermentirajo)
- obligatne anaerobe (glive, ki pridobijo energijo le s fermentacijo).

Večina gliv spada med obligatne aerobe in brez kisika dejansko ne morejo uspevati. Za ugoden razvoj gliv mora biti v lesu glede na prostornino por minimalno 15 % zraka.

2.3.4.1.6 Svetloba

Svetloba je potrebna za oblikovanje reproduktivnih struktur, vpliva pa tudi na metabolizem gliv. Vpliv svetlobe na posamezne organizme je odvisen predvsem od dolžine trajanja, njene intenzitete, barve in neposrednosti sevanja. Ker neposredna sončna svetloba škoduje razvoju in rasti gliv, najboljšo rast dosežajo pri šibki, difuzni svetlobi.

2.3.4.1.7 Vrednost pH

Optimalna vrednost pH (podlage) za rast gliv je okoli 4,5 do 5. Za večino lesnih gliv je značilno, da izločajo organske kisline (oksalno, jabolčno, citronsko...) in si z zakisanim same prilagodijo podlago.

2.3.4.2 Delitev gliv glede na barvne spremembe

Sprememba barve lesa je eden izmed prvih vidnih pokazateljev okužbe lesa. V notranjosti lesa potekajo številne kemične in fizikalne lastnosti (izguba mase, mehanskih lastnosti in oblike), pri čemer les izgublja svoje naravne lastnosti. Največje spremembe se pojavljajo pri razkroju lesne mase in to imenujemo trohnoba.

2.3.4.2.1 Plesni

Okužbo lesa s plesnimi lahko opazimo že s prostim očesom, saj povzročajo površinsko obarvanje lesa. Obarvanja, ki so vzrok okužbe plesni, so neenakomerna, kot na primer: pikčasta, pegasta, razporejena v madežih, prav tako pa plesni povzročijo raznobarna obarvanja površine lesa. Tako lahko že po obliki barvnih madežev ugotovimo, da gre za okužbo s plesnimi. Le redko se dogaja, da bi bila obarvana celotna površina. Plesni ne predstavljajo velike ekonomske škode, saj je les tudi po njihovi okužbi še vedno uporaben. S skobljanjem lahko tudi v celoti odstranimo madeže z lesa.

2.3.4.2.2 Modrenje

Glive modrivke povzročajo globinske barvne spremembe iglavcev in listavcev. Najpogosteje okužijo beljavo lesa smreke, bora, topola, breze, lipe... Troši gliv modrivk se lahko razvijejo samo, če padejo direktno na beljavo. V les stoječih dreves pa troše pogosto занесеjo insekti, predvsem podlubniki. Modrivke se hranijo s škrobom in sladkorji, zato ne oslabijo mehanskih lastnosti lesa, vendar pa je estetska vrednost pomodrelega lesa bistveno nižja.

2.3.4.2.3 Rjava ali destruktivna trohnoba

Glive, ki povzročajo rjavo trohnobo, označujemo kot prave razkrojevalke lesa in spadajo v skupino prostotrošnic (*Basidiomycotina*). Ker razgrajujejo celulozo in hemicelulozo je les iglavcev bolj podvržen okužbi kot les listavcev, lignin pa pri tem ostane skoraj nerazkrojen. Les, zaradi prebitka oksidiranega lignina, postane rdečkasto rjave do temno rjave barve. Študije so pokazale, da obstaja 106 vrst gliv, ki povzročajo rjavo trohnobo. Najpogostejše vrste, ki povzročajo rjavo trohnobo so: bela hišne goba (*Antrodia vaillantii*), kletna goba (*Coniophora puteana*), siva hišna goba (*Serpula lacrymans*), luskasta nazobčanka (*Lentinus lepideus*) in tramovki (*Gloeophyllum trabeum* in *Gloeophyllum saepiarium*) (Eaton in Hale, 1993; Humar in Pohleven, 2000).

Glive, povzročiteljice rjave trohnobe, zelo hitro povzročijo močan padec natezne trdnosti. Ta nastopi še preden opazimo izgubo mase lesa. Proces pripisujejo depolimerizaciji polioznih molekul in začetni razgradnji hemiceluloze (Green in sod., 1991; Humar in sod., 2006). V laboratorijskih razmerah se v štirih mesecih zmanjša dinamična trdnost do 55 %, tlačna trdnost do 20 % in torzijska trdnost do 50 % (Seifert, 1968).

2.3.4.2.4 Bela ali korozivna trohnoba

Glive bele trohnobe so sposobne razgradnje lignina. Pri piravosti se začetku pojavijo temne črte, ki ločijo različne stopnje razkroja. Les se začne vlaknasto cepiti. Na mikromorfološki in kemični stopnji bi lahko ločili glive povzročiteljice bele trohnobe, ter glive povzročiteljice t. i. "sočasne trohnobe". Glive bele trohnobe razgradijo najprej lignin in hemicelulozo, medtem ko povzročiteljice sočasne trohnobe hkrati, v enakem obsegu razgradijo lignin, hemicelulozo in celulozo (Eaton in Hale, 1993). Glive, povzročiteljice bele trohnobe, pogosteje okužijo les

listavcev kot iglavcev. 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*) in štorovka (*Armillariella mellea*).

2.3.4.2.5 Mehka trohnoba ali soft rot

Glive, povzročiteljice mehke trohnobe, sodijo v skupino zaprtotrosnic (*Ascomycotina*) in skupino nepopolnih gliv (*Fungi imperfecti*). Hranijo se predvsem s celulozo in hemicelulozo, lahko pa tudi z ligninom (Pohleven, 2000). Okužba se pojavi, če zaradi različnih dejavnikov (previsoke vlažnosti, slabih zračnih pogojev) okužba bolj aktivnih in tekmovalnih gliv iz skupine *Basidiomycotina* ni mogoča (Eaton in Hale, 1993). Površina okuženega lesa je mehka in izrazito temne barve (kadar je les moker). Pri suhem lesu se pojavijo podobne razpoke kot pri rjavi trohnobi, le da so plitkejšje in notranjost lesa ostane nepoškodovana. Nekateri predstavniki gliv, ki povzročajo mehko trohnobo so: *Cheatomium globosum*, *Lecythophora hoffmannii*, *Monodictys putredinis*...

2.4 ZAŠČITA LESA

Les je organski material. Nastaja v lesnih ali lesnatih rastlinah, drevesih in grmih. Že od nekdaj je eden od najpomembnejših materialov z velikim ekonomskim pomenom. Izjemne lastnosti lesa in velika naravna odpornost določenih drevesnih vrst so človeku zagotavljale material za najrazličnejšo uporabo in njegovo preživetje (kurjava, orodja, orožje, pohištvo, gradiva, izdelava transportnih sredstev) (Eaton in Hale, 1993).

Da bi les, kot naraven material, obvarovali pred škodljivci in s tem podaljšali njegovo uporabno vrednost, ga moramo ustrezno zaščititi.

2.4.1 Zgodovina zaščite lesa

Osnove zaščite lesa so postavili Kitajci in Egipčani, temu pa so sledile tudi vse kasnejše civilizacije. Zaščito lesa kot znanstveno vedo poznamo šele dve stoletji. V novejši zgodovini je potrebno omeniti postopek potapljanja lesa v raztopino živosrebrovega klorida, ki ga je leta 1832 uvedel Kyan. Leta 1836 je Moll patentiral uporabo katranskega olja. Bethell-ov

postopek impregniranja lesa s katranskim oljem pod pritiskom in Boucherie-jev postopek za zaščito svežega lesa, spadata med pomembnejše postopke v nadgradnji vede o zaščiti lesa. Leta 1850 so uvedli za takratne čase najzanesljivejše zaščitno sredstvo - kreozotno olje, ki je kompleksen produkt, pridobljen s suho destilacijo premogovega katrana. Pomembno je še leto 1907, ko je Wolman patentiral zaščitno sredstvo "multi sol" na osnovi več komponent. Leta 1933 je Kamesan definiral kompozicijo CCA (krom, baker, arzen) soli (Richardson, 1993).

2.4.2 Kemična zaščita lesa

Pri kemični zaščiti lesa vnesemo v les določeno aktivno učinkovino, ki varuje les pred okužbo z glivami in napadom insektov. Tesno je povezana s patologijo lesa, biologijo, kemijo ter z nekaterimi gospodarskimi panogami kot so: lesarstvo, gradbeništvo, kmetijstvo, konzervatorstvo ...

Kemično zaščito lesa lahko razčlenimo na (Kervina – Hamović, 1990):

- **preventivno kemično zaščito lesa** (v les vnašamo zaščitna sredstva, ko je le-ta nepoškodovan in še ni v uporabi)
- **naknadno kemično zaščito lesa** (ponovna zaščita zdravega lesa)
- **represivno kemično zaščito** (zaščitna sredstva vnašamo v les, ki je že napaden z lesnimi škodljivci).

Preventivno zaščitno sredstvo uporabljamo z namenom, da bi les čim dlje zaščitili pred okužbami. Uporabljamo ga pred napadom škodljivcev. Represivno zaščitno sredstvo pa uporabljamo za uničenje škodljivcev, ki so že v lesu

Ker lahko kemična zaščitna sredstva delujejo škodljivo na človeka in onesnažujejo okolje, si zadnja leta prizadevamo, da uporabljamo kemično zaščito le tam, kjer je to nujno potrebno in kjer lesa ne moremo zaščititi na drug, okolju prijaznejši način. K temu je pripomogla okoljska osveščenost z vedno ostrejšimi zahtevami in standardi, zaradi katerih kemična zaščitna sredstva zadnje čase doživljajo korenite spremembe (Poheven in Petrič, 1992).

2.5 INTERAKCIJA GLIV Z BAKROVINI PRIPRAVKI

2.5.1 Vpliv kovin na glive

Raziskave o medsebojnem delovanju gliv in kovin so že zelo dolgo aktualna znanstvena tema. Kovine predstavljajo osnovno komponento večine anorganskih sredstev, ki se uporabljajo za zatiranje gliv. Znanstveniki so pri kovinah najprej opazili fungicidne lastnosti. V današnjih časih pa prehajajo v ospredje študije tolerantnosti gliv na določene kovine. Kovine so posredno in neposredno vključene v rast gliv in njihov metabolizem.

Nekatere so bolj pomembne (Na, Mg, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, Ni), druge manj (Cs, Al, Cd, Ag, Au, Hg, Pb). Vendar se prav vse na nek način vključujejo v metabolizem celic. Nad določeno koncentracijo delujejo vse (pomembne in nepomembne) kovine na glive strupeno. Toksičnost je odvisna od vrste kovine, njene koncentracije in organizma ter dejavnikov okolja (Gadd, 1993; Pohleven in sod., 1999).

2.5.2 Bakrove učinkovine v zaščiti lesa

Baker je esencialen element, potreben za zdravje rastlin in živali. Pomembno vlogo ima v encimskih reakcijah in sodeluje pri metabolizmu polisaharidov, dušika, nastanku celičnih sten... Pomanjkanje bakra povzroči pri rastlinah klorozo, razgradnjo listov in upočasnjeno rast ter tanjšanje rastline. Raziskanih je že vsaj trideset encimov, ki vsebujejo baker. Veliko bakrovih spojin je, zaradi dobre topnosti, lahko dostopnih biološkim organizmom. Mnogo drugih elementov je biološko nedosegljivih, ker so redki ali pa slabo topni.

Toksične lastnosti bakrovih spojin so ljudje poznali že pred več stoletji. Uporabljali so jih kot preprečevalno sredstvo pri bakterijskih okužbah rastlin in kot algicid (Humar in Pohleven, 2003). Vrednost pH substrata ima velik vpliv na toksičnost bakra. Baker je pri nižji vrednosti pH manj strupen kot pri višji (Humar in Pohleven, 2000). Za sesalce je baker relativno malo toksičen, medtem ko je v razmeroma nizkih koncentracijah zelo strupen za ribe ter nižje organizme, kot so bakterije, alge in tudi glive (Pohleven in sod., 1999).

Bakrove spojine se že več kot 150 let uporabljajo za zaščito lesa. V ta namen se na leto porabi več kot 100.000 ton bakrovih pripravkov, količina pa še vedno narašča (Hughes, 1999; Preston, 2000).

Bistveni razlogi za porast bakrovih spojin namenjenih zaščiti lesa so:

- baker že v razmeroma nizkih koncentracijah intenzivno zavira rast gliv, bakterij in alg. Na višje rastline pa v nižjih koncentracijah ne vpliva škodljivo, ampak je celo nujno potreben za njihov normalen razvoj (Gupta, 1979).
- zaščitna sredstva na osnovi bakra so relativno in poceni in so razmeroma varna v primerjavi z ostalimi zaščitnimi pripravki (Richardson, 1997).
- nekatera klasična zaščitna sredstva kot npr: PCP, TBTO, Lindan ipd. so zaradi strupenosti in okoljske oporečnosti prepovedani za uporabo (Pohleven in Petrič, 1992; Pohleven, 1998).
- hiter napredek držav v razvoju potrebuje večje količite primerno zaščenega lesa (Richardson, 1997).

Glavna slabost bakrovih zaščitnih pripravkov je izpiranje. Baker se s komponentami lesa ne veže in se zato iz njega izpira. Druga slabost bakrovih pripravkov pa je pojav na baker odpornih sevov gliv. Tolerantne glive ogrožajo zaščen les, to je les z največjo funkcionalno in komercialno vrednostjo (Humar in Pohleven, 2000).

2.5.3 Tolerantnost

Gadd (1993) je tolerantnost označil kot sposobnost organizma, da preživi, zaradi svojih biokemičnih in fizioloških lastnosti ali genetskih prilagoditev, v naravnem okolju ali v laboratorijskih pogojih, ne glede na prisotnost toksične kovine. Obstaja več razlag odpornosti. Ena od možnih razlag je, da so tolerantni organizmi del naravnega okolja. To pomeni, da zvišane koncentracije bakra in drugih težkih kovin v zemlji, kot posledica onesnaženja ali zaščite, ne povzročijo nastanka tolerantnih organizmov, vodijo pa do zmanjšanja raznolikosti (Woodward in De Groot, 1999). Druga razlaga pravi, da naj bi prisotnost višje koncentracije bakra ali kakšne druge kovine povzročila razvoj novih tolerantnejših organizmov (Jellison in sod., 1997).

Glivna toleranca na baker variira, tako med posameznimi vrstami, kot med posameznimi izolati iste vrste (Hirt, 1949; Da Costa, 1959). Težke kovine v zemlji delujejo kot stresni faktor, ki zavira fiziološke procese ali celo popolnoma ustavi rast organizmov, kot so rastline in glive. Nekateri organizmi so se v stoletjih uporabe nanje že prilagodili in so dosegli

odpornost na težke kovine. Opazili so, da so se zelene alge sposobne prilagoditi, kar pa ne bi mogli trditi za višje rastline in glive (Wu in Lin, 1990).

Dejstvo je, da določeni organizmi uspejo preživeti tudi v onesnaženih ekosistemih. Odpornost nekaterih organizmov na baker je znana že kar precej časa (Collet, 1992; Humar in Pohleven, 2000; Humar s sod., 2000), vendar je mehanizem tolerance še vedno nepojasnen (Sutter s sod., 1983; Tsunoda s sod., 1997; Humar in Pohleven, 2000). Znanstveniki poročajo, da so mnoge vrste gliv iz skupine *Basydiomycotina* pokazale odpornost na baker in bakrove soli (Collet, 1992a). Omeniti velja tudi razliko v tolerantnosti na baker in bakrove spojine med glivami bele in rjave trohnobe. Glive rjave trohnobe izkazujejo večjo tolerantnost kot glive bele trohnobe. Vzroke za to bi lahko iskali v večji količini izločene oksalne kisline. Izpostavili bi lahko rod hišnih gob *Antrodia* (prej *Poria*) (Tsunoda s sod., 1997) in rod *Serpula*. Glive iz teh rodov so se izkazale za izredno odporne (De Groot in Woodward, 1998). Znanstveniki poročajo, da se razlike v tolerantnosti gliv ne pojavljajo le pri različnih vrstah gliv, temveč tudi med različnimi sevi (izolati) neke vrste (Collet, 1992; Tsunoda s sod., 1997; De Groot in Woodward, 1999). Collet (1992a) poroča o razlikah v tolerantnosti med različnimi sevi gliv *Postia placenta* in *Antrodia xantha*.

Tolerantnost nekaterih gliv na baker je poznana že zelo dolgo časa. Collet (1992) poroča o tolerantnosti glive *Antrodia vaillantii* na baker pri 0,32 mol/L koncentraciji bakra v PDA. Izolirani so bili številni tolerantni sevi gliv iz zaščitenege lesa. Tolerantnost gliv pa se ne pojavlja le na baker, temveč tudi na bolj kompleksne zmesi z bakrovimi spojinami, kot sta CCA in CCB (Sutter s sod., 1983; Humar s sod., 2001; Pohleven s sod., 2002). Najpogosteje se kot tolerantne glive omenjajo povzročiteljice rjave trohnobe iz rodu *Antrodia*. Zelo zanimivo je, da so nekateri izolati glive *Antrodia vaillantii* zelo tolerantni na bakrove spojine, medtem ko so nekateri izrazito netolerantni in se njihova rast zaustavi že pri zelo nizkih koncentracijah bakra.

Tolerantnost gliv je v veliki meri odvisna od morfoloških značilnosti posamezne vrste, njihovega prilagajanja na kovine, genetskih sprememb ter od vrste in sestave pripravka, ki ga uporabljamo za zaščito lesa (Humar in Pohleven, 2000). Na toksičnost bakra vplivajo mnogi kemični in biološki učinki kot so: pH, E_h , temperatura, vlaga, slanost in prisotnost ostalih kovinskih ionov. Izmed vseh naštetih sta najbolj pomembna vrednost pH in E_h (Flemming in Trevors, 1989). Illman s sod. (1996) je v svojih raziskavah ugotovil, da nižanje vrednosti pH substrata (s 6 na 2) povzroči večjo tolerantnost gliv na baker pri glivah povzročiteljicah rjave trohnobe.

Oksalna kislina igra verjetno zelo pomembno vlogo pri tolerantnosti gliv na bakrove spojine (Akamatsu s sod., 1994). Dokazano je namreč, da številne glive rjave trohnobe izločajo konstantno veliko količino oksalne kisline in s tem zakisajo substrat (Takao, 1965; Micales, 1995). Znano je tudi, da oksalna kislina reagira z bakrom, kar povzroči nastanek v vodi netopnega bakrovega oksalata (Collet, 1992a; Illman in sod., 1996; De Groot in Woodward, 1999). Baker deluje fungicidno le, če je topen. S tem, ko glive spremenijo baker v bakrov oksalat, slednji postane za njih netoksičen (Humar in Pohleven, 2000).

Številne raziskave so potrdile, da glive uspevajo na substratu, v katerem se nahaja bakrov oksalat (Sutter s sod., 1983). Humar s sodelovci (2000) je s pomočjo elektronske paramagnetne resonance (EPR) opazoval transformacijo bakra v bakrov oksalat. Poroča, da v lesu, ki je bil predhodno zaščiten z bakrovim sulfatom, po izpostavitvi glivi *Antrodia vaillanti*, bakra v lesu ni več mogoče zaznati z EPR signalom. Enak signal se pojavi, če les zaščitimo z bakrovim sulfatom in ga nato obdelamo z oksalno kislino. Na podlagi teh raziskav navaja, da transformacija bakra v bakrov oksalat poteče v zgodnjih fazah okužbe lesa.

Stephan s sodelavci (1996) poroča, da se iz lesa, ki je bil zaščiten z CCA in okužen s tolerantno glivo, izpere 90 % kromovih, 80 % arzenovih in le 7 % bakrovih spojin. Večina bakra zreagira z oksalno kislino in se pretvori v slabo topen bakrov oksalat. V naslednji fazi se lahko les obdela z vodno raztopino amonijaka, ki pretvori netopen bakrov oksalat v topno stanje (Leithoff in Peek, 1998). Deleži izpiranja se pri zaščitnem sredstvu CCB niso razlikovali od deležev izpiranja pri zaščitnem sredstvu CCA.

Zanimivo je, da so glive bele trohnobe manj odporne na povečane koncentracije bakra kot glive rjave trohnobe. Ta pojav bi verjetno lahko razložili z akumulacijo bakra v micelij glive. Glive bele trohnobe kopičijo v miceliju precejšnje količine bakra, medtem ko glive rjave trohnobe s selektivnim sprejemanjem določenih mineralov, dosežejo manjše kopičenje bakra (Pohleven s sod., 1999). Ta pojav bi lahko pojasnili tudi z dejstvom, da glive bele trohnobe izločajo manj oksalne kisline.

Možna razlaga tolerantnosti gliv na kovine bi lahko bila navzem in transport bakra po miceliju glive. Vendar je Pohleven s sodelavci (1999) dokazal, da glive rjave trohnobe niso sposobne navzema in aktivnega transporta bakra po miceliju glive. V nasprotju s to tezo pa so ugotovili da glive, ki povzročajo belo trohno, vsebujejo večje količine bakra v miceliju.

Tolerantnost nekaterih sevov gliv bi lahko pojasnili s pretvorbo bakra v bakrov oksalat, vendar to zagotovo ni edini mehanizem (Humar in Pohleven, 2003).

2.5.4 Uporaba tolerantnih gliv pri ravnanju z odsluženim lesom

V svetu narašča skrb za varno odstranitev že odsluženega zaščitenega lesa. V državah EU je odslužen zaščiten les uvrščen med posebne odpadke, ki zaradi tehničnih problemov in naravovarstvenih predpisov niso bili vključeni v industrijsko reciklažo (Yang in Illman, 1999).

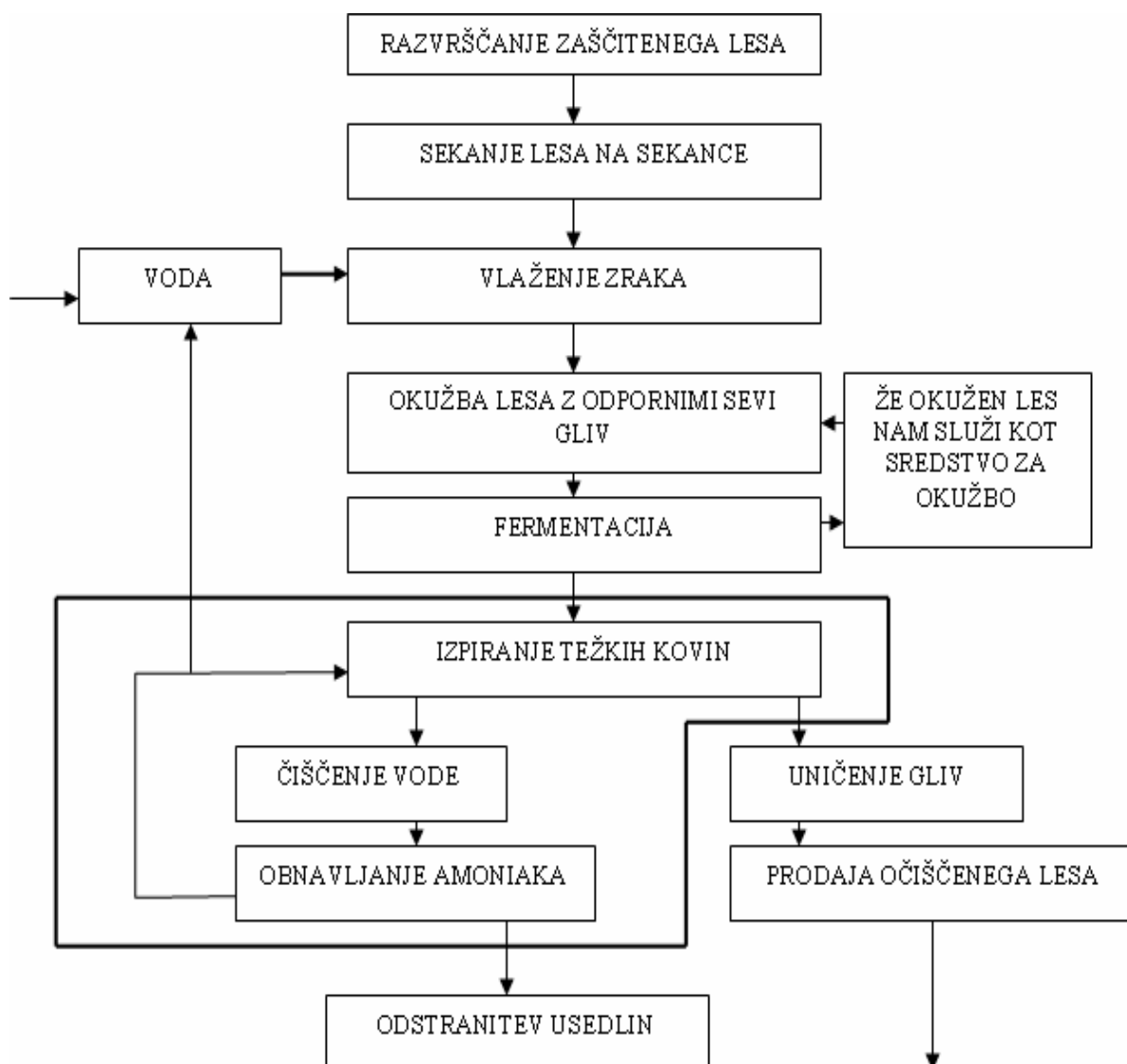
Odsluženega zaščitenega lesa se ne sme uporabljati za kurjavo ali zakopavati v zemljo. Pri nekontroliranem sežiganju se v ozračje sproščajo škodljive snovi. To velja predvsem za les, ki je zaščiten s CCA solmi. Pri sežiganju zaščitenega lesa baker in krom ostaneta v pepelu, medtem ko se večina arzena (60 – 90 %) emitira v okolje v obliki dimnih plinov.

Raziskave so pokazale, da bo do leta 2015 količina odpadne zaščitenega lesne mase narasla na 130.000 m³. Potrebna moč posebne sežigalne naprave za to količino bi znašala 20 MW. Tako so izračuni pokazali, da bi bila reciklaža zaščitenega lesa ekonomsko bolj opravičljiva (Syrjanen, 1999). Tolerantne seve gliv bi lahko koristno uporabili za razstrupljanje zaščitenega odpadnega lesa.

Možnosti uporabe tolerantnih sevov gliv v praksi

V preteklih letih se je pojavilo nekaj raziskav o biološkem čiščenju zaščitenega lesa. Poskusi so bili narejeni za odstranjevanje organskih in anorganskih zaščitnih sredstev. Dejstvo je, da so vsa poročila in rezultati temeljili le na laboratorijskih raziskavah. Vprašanje je kako bi bile te metode uspešne v praksi (Nurmi in Lindros, 1994; Leithoff in Peek, 1998; De Groot in Woodward, 1998; De Groot in Woodward, 1999).

Leithoff in Peek (1998) sta predlagala naslednji model za razstrupljanje zaščitenega lesa (slika 2). Uporabila sta les zaščiten s CC in CCB pripravkoma. Lesne sekance sta inokulirala z glivama *Antrodia vaillantii* in *Tyromyces placenta*. Ugotovila sta, da predstavljata bistvena problema detoksifikacijskega procesa zagotavljanje pravšnje vlažnosti in nesterilni pogoji. Pri neustrezni vlažnosti je gliva slabo rasla ali celo prenehala z rastjo. Ob previsoki vlagi pa so bakterije zavrle rast.



Slika 2: Shema procesa detoksifikacije lesa zaščitenega s CC, CCA ali CCB pripravkom (Leithoff in Peek, 1998)

3 MATERIALI IN METODE

3.1 PRIPRAVA VZORCEV

Za izvedbo poizkusa smo uporabili beljavo smrekovine (*Picea abies*, Karst). Pripravili smo 540 vzorcev nestandardnih dimenzij $0,5 \times 1,0 \times 3,0$ cm. Vzorci so bili zdravi, brez vidnih mehanskih poškodb, madežev, smolnih kanalov, grč...

Pred impregnacijo smo vzorce pobrusili, očistili, označili s številkami ter jih uravnovesili v standardni klimi ($T = 20^\circ \text{C}$, $\varphi = 65 \%$).

3.2 PRIPRAVA ZAŠČITNIH PRIPRAVKOV

Za zaščito lesa smo pripravili dva tipa bakrovih pripravkov. Klasičnega, na osnovi bakrovih in kromovih spojih ter novejšega, na osnovi bakrove učinkovine in etanolamina. V pripravke nismo dodajali nobenih kobiocodov, ki se običajno uporabljajo v komercialnih pripravkih.

Posamezno 0,25 % raztopino smo pripravili tako, da smo v čašo natehtali določeno količino posamezne kemikalije in nato do zelene skupne mase dolili destilirano vodo (preglednici 3 in 4). Z magnetnim mešalom smo dosegli, da so se sestavine dobro raztopile.

Preglednica 3: Sestavine zaščitnega pripravka CuE V ($c_{\text{Cu}} = 0,25 \%$)

Sestavina	Kemijska formula	Količina [g]
Bakrov(II) sulfat	$\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$	19,64
Etanolamin	$\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	14,42
Destilirana voda	H_2O	dolijemo do 2000 mL

Preglednica 4: Sestavine zaščitnega pripravka CC V ($c_{\text{Cu}} = 0,25 \%$)

Sestavina	Kemijska formula	Količina [g]
Bakrov(II) sulfat	CuSO_4	19,64
Kalijev(IV) dikromat	$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	21,56
Destilirana voda	H_2O	dolijemo do 2000 mL

Za oba pripravka smo pripravili tudi nižjo, 0,1 % koncentracijo (CuE N, CC N). Želena koncentracijo smo dosegli z redčenjem.

3.2.1 Impregnacija vzorcev z zaščitnimi pripravki

Vzorci so bili zloženi v steklene kozarce, pri čemer smo bili pozorni, da se čim manj dotikali med seboj, jih obežili in prelili z impregnacijskimi raztopinami (preglednica 5).

Preglednica 5: Impregnacija vzorcev z različnimi raztopinami

Označeni vzorci (številka vzorca)	Impregnacijska raztopina
1 do 80	CC V
81 do 160	CuE V
160 do 240	CC N
241 do 320	CuE N

Kozarce z vzorci smo postavili v vakuumsko/tlačno komoro, proizvajalca Kambič (slika 3, levo) in jih za 30 minut izpostavili pod tlakom 0,7 bara. Po preteku časa smo tlak v komori izenačili z zunanjim tlakom, ter pustili vzorce še dve uri v raztopini.



Slika 3: Vakuumsko komora, proizvajalec Kambič (levo) in sušilna komora, proizvajalec Kambič (desno)

Po končani vakuumski impregnaciji smo odlili raztopino, obrisali vzorce ter jih ponovno stehali. Tehtanje je potekalo na elektronski tehtnici, povezani z računalnikom, kjer so se beležile izmerjene vrednosti (slika 4). Iz dobljenih podatkov smo določili mokri navzem.

Navzem je količina zaščitnega pripravka, ki jo les vpije pri postopku impregnacije. Mokri navzem smo določili gravimetrično.

$$r^{(V)} = \frac{m_2 - m_1}{V} \text{ [kg/m}^3\text{]} \quad [\dots 1]$$

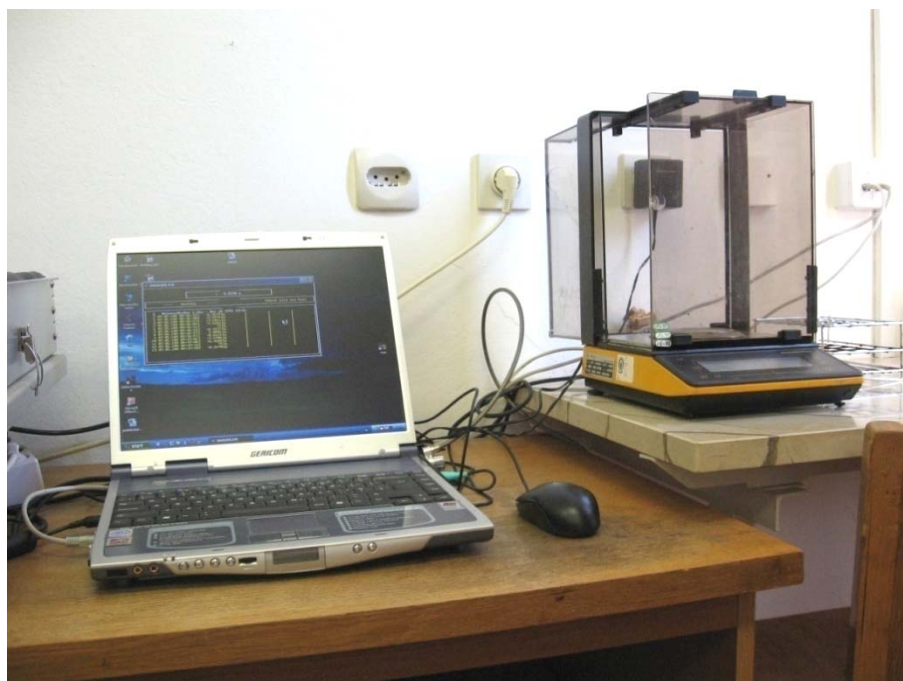
$r^{(V)}$ = celotni navzem zaščitnega pripravka [kg/m³]

m_1 = masa vzorca pred impregniranjem [kg]

m_2 = masa vzorca po impregniranju [kg]

V = volumen neimpregniranega vzorca [m³]

Kondicioniranje vzorcev in fiksacija zaščitnih sredstev v les je potekala tri tedne. Vzorci so se sušili na zraku pri sobni temperaturi. Prvi teden v zaprtih, drugi teden v polzaprtih in tretji teden v odprtih komorah (slika 3, desno).



Slika 4: Elektronska tehtnica SARTORIUS

3.3 PRIPRAVA PUFERSKIH RAZTOPIN

V diplomski nalogi smo želeli ugotoviti kako prepojitvev z različnimi puferskimi raztopinami vpliva na učinkovitost Cu na glive. Ker je CC kisel tip pripravka, CuE pa bazičen, smo morali vrednost pH impregniranemu lesu spremeniti naknadno. V primeru, da bi se vrednost pH pripravka CuE pomaknila preveč v nevtralno območje, bi se Cu oboril. Podoben pojav bi povzročili tudi pri pripravkih CC, ki bi jim vrednost pH pomaknili preveč v bazično območje. Zato smo vrednot pH lesa uravnavali z naknadno prepojitvijo s pufri.

Večina komercialnih pufrov vsebuje konzervanse, najpogosteje borovo kislino, ki je znan fungicid. Da bi bili rezultati čim bolj realni smo v naše namene pripravili lastne puferske raztopine s točno določeno vrednostjo pH.

Priprava puferskih raztopin:

- **pH 5**

V čašo smo natehtali 30,02 g CH_3COOH in dolili približno 900 mL H_2O . Dodali smo 21 mL nasičene raztopine NaOH, da smo dosegli vrednost pH 5. Na koncu smo dodali še destilirano vodo, tako da je skupen volumen pufrja znašal 1000 mL.

- **pH 7**

Za pridobitev raztopine z vrednostjo pH 7 smo v čašo natehtali 68,04 g KH_2PO_4 , ga prelili z 900 mL H_2O in počasi uravnavali pH vrednost z nasičeno vodno raztopino NaOH. Vrednost pH 7 smo dosegli po dodajanju 68 mL nasičene vodne raztopine NaOH. Na koncu smo dolili še potrebno količino destilirane vode .

- **pH 9**

V čašo smo natehtali 30,54 g $\text{HO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$ in dolili 900 mL H_2O . Z dodajanjem HCl smo spreminjali pH vrednost toliko časa, dokler nismo vrednosti pH uravnali na vrednost 9 (36 mL). Podobno kot pri prejšnjih pufrih smo dolili še potrebno količino destilirane vode, da smo dosegli volumen 1000 mL.

3.3.1 Prepojitvev impregniranih in kontrolnih vzorcev s puferskimi raztopinami

Kontrolne in impregnirane vzorce smo zložili v steklene čaše ter jih prelili s pripravljenimi pufri. V posamezno čašo smo zložili le po 20 vzorcev impregniranih z istim pripravkom iste

koncentracije. Ker med impregnacijo s pufri pride tudi do nezaželenega izpiranja, smo vzorce le 20 minut vakuumirali in jih nismo še dodatno namakali. S ter smo skušali v največji meri preprečiti izpiranje. Kontrolne (impregnirane in neimpregnirane) vzorce smo namesto s pufri prepojili z destilirano vodo. Tako impregnirane vzorce smo na zraku sušili sedem dni.

3.4 PRIPRAVA HRANILNEGA GOJIŠČA IN GLIVNIH KULTUR

Za hranilno gojišče je bil uporabljen krompirjev glukozni agar v prahu. Pripravili smo ga po navodilih proizvajalca (PDA-potato dextrose agar, Difco laboratories, USA), ki navaja, da se v 1000 mL destilirane vode zakuha 39 g krompirjevega glukoznega agarja. V našem primeru smo za 114 petrijevok, v katere smo vlili po 20 mL gojišča, potrebovali 700 mL destilirane vode in 27,3 g gojišča. Hranilno gojišče smo pripravili v steklenicah, ki smo jih postavili v avtoklav (slika 5). Poleg steklenic s hranilnim gojiščem smo v avtoklav postavili tudi v papir zavite mrežice, ki preprečujejo neposreden stik vzorca z gojiščem ter kontrolne in impregnirane vzorce. Vse skupaj smo v avtoklavu sterilizirali 45 minut, pri temperaturi 121 °C oziroma tlaku 1,5 bara. Po končani sterilizaciji smo vso opremo zložili v brezprašno komoro in počakali, da se hranilno gojišče ohladi na primerno temperaturo. Tako ohlajenega smo prelili v petrijevke in počakali do naslednjega dne, da se je gojišče strdilo.

Naslednji dan smo ohlajena in strjena gojišča inokulirali z izbranimi kulturami micelija glive. Inokulacijo smo opravljali v brezprašni komori pri sterilnih pogojih (slika 6, levo). Ves pribor smo sprti razkuževali z alkoholom in plamenom.

S posamezno glivno kulturo smo inokulirali 35 petrijevok. Poleg cepiča smo v vsako petrijevko vstavili še plastično mrežico. Pripravljene petrijevke smo za deset dni postavili v rastno komoro (slika 6, desno) z optimalnimi pogoji (temperatura 25 °C, vlažnost 75 %), da je goba prerasla gojišče na katerega smo v nadaljevanju postavili vzorce.



Slika 5: Avtoklav proizvajalca Sutjeska

3.5 OPIS UPORABLJENIH LESNIH GLIV

Poizkuse smo izvedli s štirimi vrstami lesnih gliv in sicer: *Antrodia vaillantii*, *Gloeophyllum trabeum*, *Serpula lacrymans* in *Hypoxylon fragiforme*.

Preglednica 6: Lesne glive, uporabljene pri izvedbi poizkusa

Latinsko ime	Slovensko ime	Okrajšava	Poreklo
<i>Antrodia vaillantii</i>	Bela hišna goba	Pv	BF (ZIM L037)*
<i>Gloeophyllum trabeum</i>	Navadna tramovka	Gt2	BF (ZIM L017)*
<i>Serpula lacrymans</i>	Pisana ploskocevka	Sl	BF (ZIM L 059)*
<i>Hypoxylon fragiforme</i>	Ogljena krogeljica	Hf	BF (ZIM L 108)*

* Raspor in sod., 1995

3.5.1 Bela hišna goba – *Antrodia vaillantii*

Življenjski prostor glive *Antrodia vaillantii* (Pv) ali bele hišne glive je predvsem severna in srednja Evropa. Najpogostejši cilj okužb je vlažen les iglavcev, v nekaterih primerih pa lahko okuži tudi les listavcev. Povzroča rjavo destruktivno trohno, pri čemer les hitro izgublja

svojo trdnost. Udarna žilavost je močno zmanjšana že takrat, ko je izguba mase komaj zaznana. Lomi so zaradi hitre depolimerizacije celuloze kratki in vlaknasti, pride pa tudi do pojava nenormalnega longitudinalnega krčenja lesnih vlaken in zmanjšane natezne trdnosti. Pojavlja se kot razkrojevka vgrajenega lesa in lesa, ki je v stiku z zemljo (drogovi, stebri v rudnikih...), lahko pa jo najdemo tudi na stoječih drevesih. Bistvenega pomena je dejstvo, da ne okužuje zračno suhega lesa.

Na okuženem lesu se na spodnji strani pojavi belo podgobje. Podgobje se širi kot pozimi ledene rože na oknih. Iz podgobja se razvijejo beli rizomorfi, ki so lahko debeli do 4 mm. Rizomorfi ostanejo beli in prožni tudi, ko goba ostari. Z rizomorfi prodira skozi stene. Trosnjaki so različno veliki in priraščajo na les kot blazinice. Na vodoravni površini je trosovnica obrnjena navzgor. Barva trosnjakov se s starostjo spreminja. Mladi so beli, starejši pa rumenkasti. Trosovnico sestavljajo cevčice nepravilnih oblik. Trosi so cilindrični do elipsoidni.

Optimalni pogoji za rast bele hišne gobe so pri temperaturi 27 °C in vlažnosti 40 %. Pri takih pogojih je lahko dnevni prirast gobe do 12,5 mm. Samo rast glive pospeši vlaga, ki prodira v les v obliki vodnih kapljic oziroma kot kondenz. Zanimivo je, da bela hišna goba zelo dobro prenaša izsušitev. Po nekaterih virih naj bi gliva celo po petih letih sušnega obdobja zopet pričela z rastjo, vendar samo če vlažnost lesa ponovno doseže 40 % (Unger in sod., 2001). Zanimivo je tudi dejstvo, da je gliva tolerantna na baker. Dejstvo potrjujejo opažanja v evropskih državah, saj gliva okuži in razkraja les impregniran s pripravki CCA in CCB, ki se uporablja v stiku z zemljo.

3.5.2 Navadna tramovka – *Gloeophyllum trabeum*

Navadna tramovka (*Gt2*) okužuje tako les iglavcev (smreka, bor) kot tudi les listavcev (bukev, robinija, cipresa). Najdemo jo predvsem na lesnih konstrukcijah na ostrejših, mostovih, okenskih okvirih, podbojih, v savnah, na zunanjih talnih oblogah, včasih tudi na drogovih, pragovih, v rudnikih, ograjah... Optimalna temperatura za razvoj glive je 35 °C, maksimalna pa nad 40 °C. Trosi so brezbarvni in cilindrični. V suhem stanju ohranijo kalivost tudi več kot leto dni. Vitalni trosnjaki so v začetku temno rumene barve. Lamela in pore imajo nepravilno obliko in razpored. Goba povzroča temno rjavo, prizmatično trohnobo, podobno drugim vrstam tramovk in je zelo pogosta ter nevarna razkrojevka gradbenega ter stavbnega lesa.

3.5.3 Siva hišna goba - solzivka – *Serpula lacrymans*

Solzilka (*Sl*) je razširjena po vsej Evropi, zlasti v krajih z višjo relativno zračno vlago in manjšim številom sončnih dni. Najpogosteje jo najdemo v starih stavbah. Okužuje vse predmete, ki vsebujejo celulozo. Trosnjak je sprva mesnat, nato kožast in s celo površino priraščen na podlago. Mladi trosnjaki so belkasti, z dozorevanjem pa postanejo rdečkasto rjavi. Rob vselej ostane svetel, skoraj bel. Trosovnica je na zgornji strani trosnjaka in je nagubana. V gubah se razvijejo trosi. Na površini trosovnice se pojavljajo kapljice vode, po čemer je goba dobila ime (*lacryma* – lat. solza). Te kapljice vode nastajajo kot produkt kemične razgradnje glukoze in zato se solzivka lahko razvija v popolnoma suhem lesu, saj si potrebno vlago ustvarja sama z akumulacijo vode, ki nastane pri razgradnji celuloze.

Solzivka se dobro razvija v mračnem, vlažnem in neprezračnem prostoru. Širi se s sivimi rizomorfi. Optimalna vlaga lesa je 30 %. Optimalna temperatura je 23 °C, sicer pa uspeva v temperaturnem območju od -3 – 26 °C. Občutljiva je na dnevno svetlobo, prepih in zlasti na zvišano temperaturo. Trosi lahko ostanejo vitalni tudi do tri leta.

Gliva povzroča rjavo, suho, destruktivno trohnobo. Okužen les se takoj spremeni. Najprej postane svetlejši, potem rumeno rjav in lažji, nato se zmehta in postane rjav ter prizmatično razpoka. V končni fazi je les temno rjav, kakor zoglenel in se pod najmanjšim pritiskom drobi v prah. Z okužbo se lesu slabšajo mehanske, fizikalne in kemične lastnosti. Siva hišna goba je najnevarnejša in najbolj razširjena razkrojevalka vgrajenega gradbenega lesa.

Škode ne povzroča samo na lesu, saj povzroča tudi korozijo betona, opeke in drugih materialov. Rizomorfi lahko prodrejo tudi v zidove in se po njih razširja nekaj deset metrov stran od izvora okužbe in tam okužijo popolnoma suh les, ki je lahko od žarišča oddaljen celo nekaj nadstropij. Ob prodoru povzroča preperelost in razpad opeke ter betona, kar je še posebno nevarno za temelje in nosilne zidove.

3.5.4 Ogljena krogeljica – *Hypoxylon fragiforme*

Ogljena krogeljica (*Hf*) je ena izmed redkih vrst gliv, ki povzroča belo trohnobo in spada v skupino *Ascomycotina* (zaprtotrosnice). Je pogost saprofit bukve in ostalih listavcev. Skupaj z drugimi povzroča piravost, to je netipično mozaično belo trohnobo oz. temnenje lesa v pasovih, ki so med seboj ločeni s temnejšimi pasovi. Njena nahajališča so v Evropi in Severni Ameriki.

3.6 IZPOSTAVITEV VZORCEV LESNIM GLIVAM

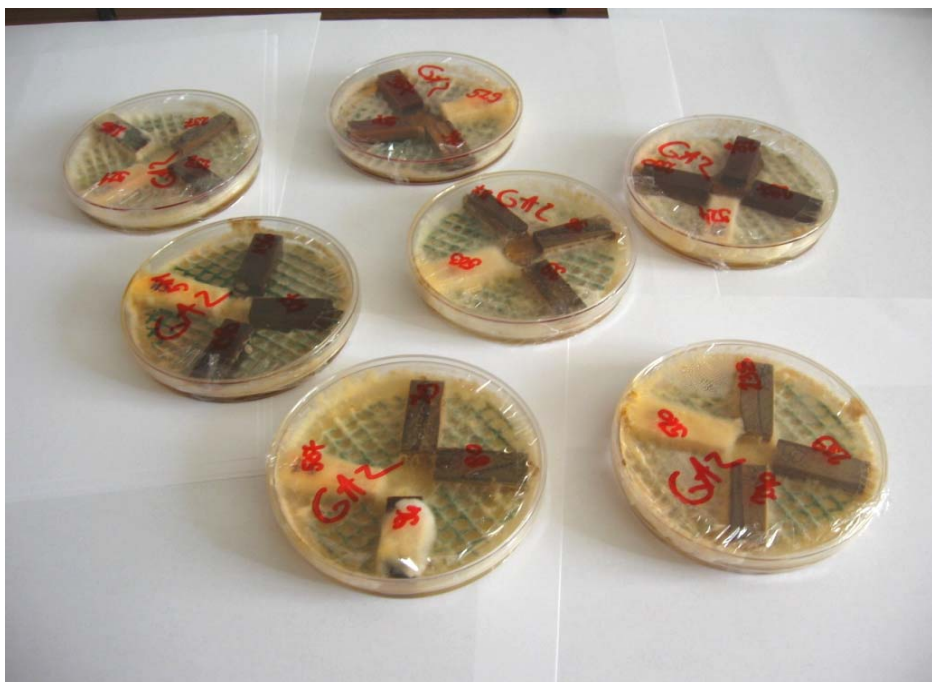
Po desetih dneh, ko je glivna kultura prerasla gojišče, smo v petrijevke vstavili vzorce. Predhodno smo vse vzorce 24 ur sušili v sušilniku (slika 3, desno), jih nato stehali na elektronski tehtnici (slika 4) in določili maso v absolutno suhem stanju.

Vstavljanje vzorcev v petrijevke je potekalo v brezprašni komori - laminariju (slika 6, levo), ki zagotavlja sterilnost hranilnega gojišča. Vzorce smo vstavljali po točno določenem zaporedju. Skupine po dvajset vzorcev, zaščenih z istim sredstvom in prepojenih z istim pufrom, smo razdelili na štiri dele (štiri glive). Po pet vzorcev iz posamezne skupine smo izpostavili izbrani glivi. Določena kombinacija petih vzorcev je bila posamezni glivi izpostavljena samo enkrat. Vsaka petrijevka je vsebovala štiri vzorce in sicer: tri impregnirane in en neimpregniran vzorec, ki je veljal kot kontrola. Vzorce smo postavili na mrežico in s tem preprečili pretirano navlaževanje. Razporejeni so bili v obliki zvezde, ki je onemogočala medsebojni stik vzorcev in preprečevala medsebojno interakcijo (slika 7).

Tako pripravljene petrijevke, z inokuliranim hranilnim gojiščem in vstavljenimi vzorci, smo za osem tednov postavili v rastno komoro (sliki 6, desno in 8), z optimalnimi pogoji (temperatura 25 °C, vlažnost 75 %).

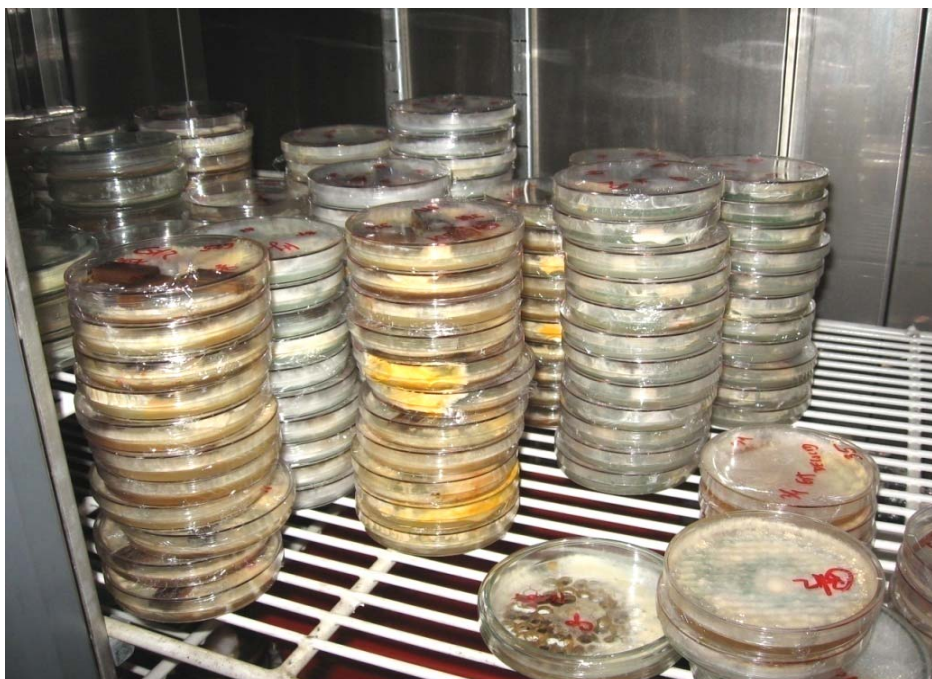


slika 6: Brezprašna komora - laminarij za inkulacijo (levo) in rastna komora (desno)



Slika 7: Petrijevke z vzorci izpostavljeni glivi *Gloeophyllum trabeum*

Po preteku osmih tednov smo vzorce odstranili iz petrijevk, z njih očistili prerasel micelij ter še mokre stehtali. Nato smo vzorce sušili 24 ur, jih ponovno stehtali in določili izgubo mase.



Slika 8: Notranjost rastne komore s petrijevkami

Izgubo mase vzorcev po izpostavitvi glivam smo izračunali po formuli ...2, kot to predvideva standard SIST EN 113 (1995)

$$\text{izguba mase} = \frac{m_1 - m_2}{m_1} * 100 \% \quad [\dots 2]$$

m_1 = začetna masa [g]

m_2 = končna masa [g]

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

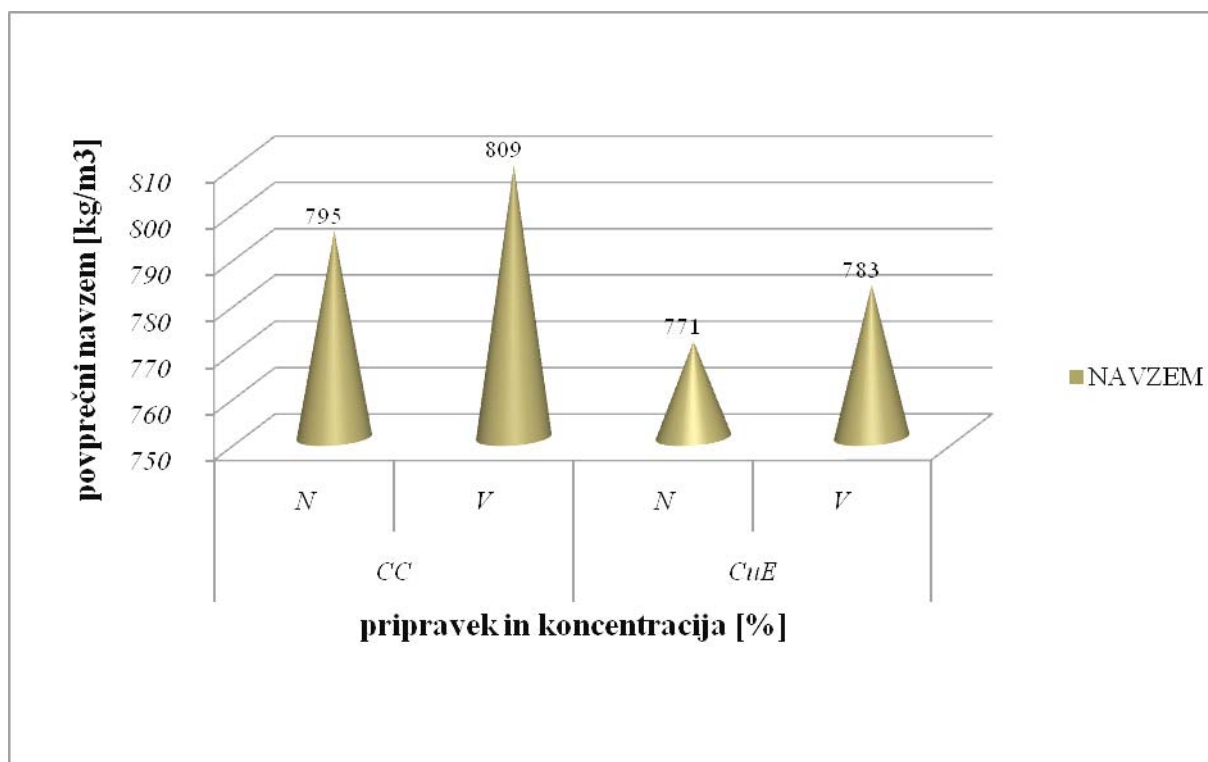
4.1 MOKRI NAVZEM

Mokri navzem smo vzorcem določali po impregnaciji v vakuumski komori. Povprečni navzem je bil med 770 in 808 kg/m³ (preglednica 7, slika 9). Pretekle raziskave kažejo, da smrekovina ne velja za najbolj impregnabilen les (Lesar s sod., 2009), vendar pa je bil zaradi velike specifične površine vzorcev navzem po pričakovanjih precej visok. Do relativno visokega navzema pride tudi zaradi načina impregnacije. Pri vakuumskem postopku, ki smo ga uporabili, pride zaradi podtlaka do boljšega prodiranja impregnacijskega sredstva v lumne celic kot le pri namakanju.

Preglednica 7: Povprečni navzem zaščitnega pripravka glede na sestavo pripravkov

Pripravek	Koncentracija	Povprečni navzem [kg/m ³]
CC	N (c _{Cu} = 0,10 %)	795
	V (c _{Cu} = 0,25 %)	809
CuE	N (c _{Cu} = 0,10 %)	771
	V (c _{Cu} = 0,25 %)	783

Predstavljeni rezultati kažejo, da so mokri navzemi pri obeh pripravkih (CC in CuE) primerljivi. Do manjših razlik pride zaradi nehomogenosti vzorcev, napak pri merjenju... V splošnem so mokri navzemi vzorcev zaščiteneh s pripravkom CC nekoliko višji od mokrega navzema vzorcev zaščiteneh s pripravkom CuE (slika 9). Teh razlik ne znamo pojasniti.

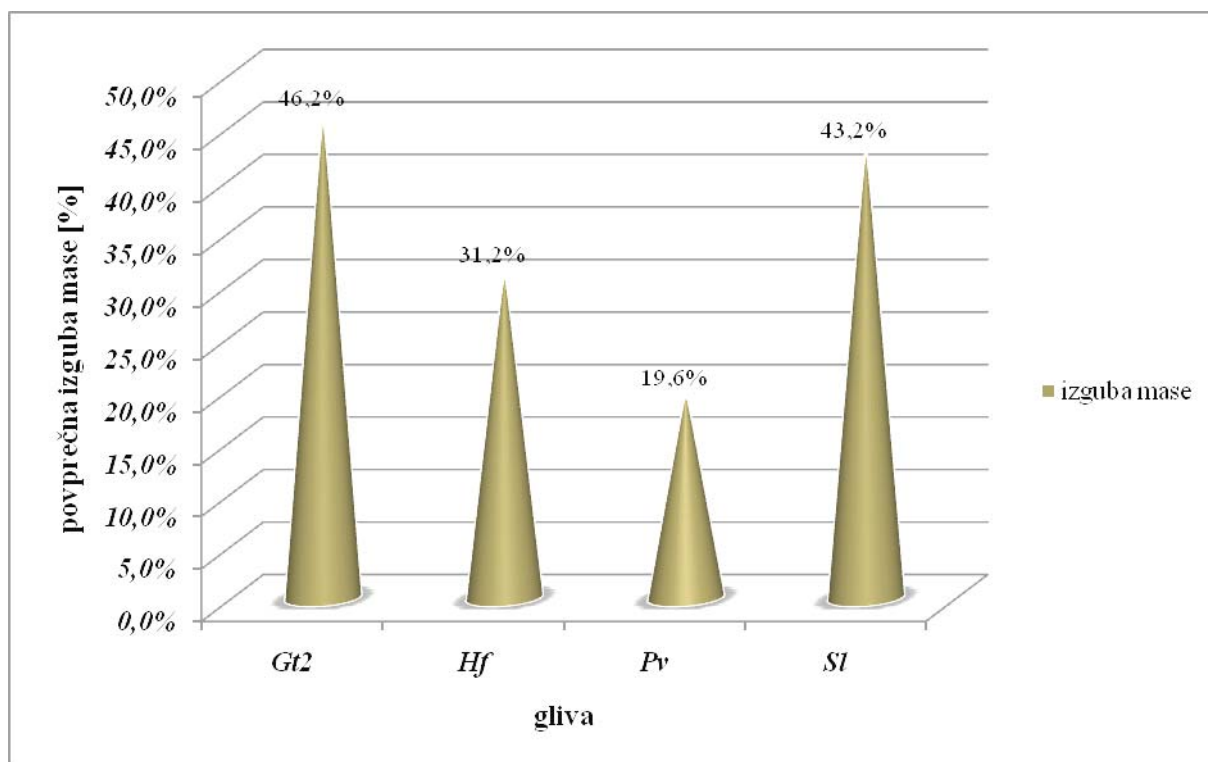


Slika 9: Povprečni mokri navzemi preizkušancev v odvisnosti od sestave pripravkov

4.2 IZGUBA MASE KONTROLNIH VZORCEV

Delovanje gliv in s tem povezano izgubo mase smo določevali z nestandardno mini blok metodo. Pri vstavljanju vzorcev v petrijevke smo bili posebej pazljivi, da se vzorci med seboj niso dotikali, tako da ni prišlo do vpliva zaščitnega sredstva na delovanje gliv. S kontrolnimi vzorci smo tudi preverili ali je bil postopek pravilno izveden in ali so bili uporabljeni izolati gliv dovolj vitalni.

Naravna odpornost smrekovih vzorcev je bila po pričakovanjih zelo slaba. Povprečna izguba mase je bila najmanj 19 % kar dokazuje, da so bile glive dovolj vitalne in so dobro razkrajale les. Največjo izgubo mase kontrolnih preizkušancev smo zabeležili pri vzorcih izpostavljenih navadni tramovki (*Gt2*) (46,2 %), nekoliko nižja izguba (43,2 %) pa je bila izračunana pri sivi hišni gobi (*Sl*). Nezaščiteni vzorci, okuženi z ogljeno kroglico (*Hf*) so izgubili 31,2 % mase, najnižjo izgubo mase pa smo zabeležili pri beli hišni gobi (*Pv*) (19,6 %) (slika 10). Razlog za tako nizko izgubo mase vzorcev izpostavljenih beli hišni gobi lahko pripišemo temu, da glive, ki so tolerantne na baker hitro in učinkovito prerastejo les, nimajo pa tako učinkovitih mehanizmov za razgradnjo kristalinične celuloze, kot na primer gliva *Gloeophyllum trabeum*.



Slika 10: Povprečne izgube mase nezaščenih smrekovih preizkušancev po osmih tednih izpostavitve lesnim glivam

4.2.1 Vpliv vrednosti pH na izgubo mase kontrolnih vzorcev

Gobe pri svoji rasti in razkroju ustvarijo svoje idealno pH okolje, ki je v večini primerov kislega značaja. V tem delu raziskave nas je zanimalo kako sprememba vrednosti pH substrata vpliva na razkrojne procese, na neimpregniranih vzorcih smrekovine.

Največjo izgubo smo po pričakovanjih zabeležili pri vzorcih prepojenimi z vodo. Zanimivo je, da je bila pri vseh glivah, z izjemo *Gt2*, izguba mase vzorcev prepojenih z vodo nižja od izgube mase vzorcev, ki niso bili prepojeni z vodo. Najvišjo izgubo mase vzorcev prepojenih z vodo smo zaznali pri *Gt2* (45,1 %), najnižjo pa pri *Pv* (11,6 %). Očitno smo že s samo prepojitvijo z vodo iz lesa izprali del hranilnih učinkovin (ekstrativov), ki omogočijo hitrejšo kolonizacijo lesa (sliki 10 in 11).

Prepojitev s pufri je v vseh primerih močno zavrla rast gliv, kar nakazuje, da imajo že sami pufri določen vpliv na delovanje lesnih gliv. Sestavine pufrov v osnovi nimajo biocidnega učinka, saj so bili vzorci preraščeni z glivami, temveč ovirajo delovanje encimskih in

neencimskih mehanizmov razgradnje lesa. Ta podatek nakazuje, da bi bilo smiselno v eni izmed naslednjih diplomskih nalog raziskati možnosti uporabe pufrov v zaščiti lesa.

Podatki o izgubi mase vzorcev prepojenih s pufri kažejo, da ima vrednost pH substrata neznamenit vpliv na glivo *Hypoxylon fragiforme*. Kljub temu so bile izgube mase vzorcev, prepojenih s pufri, bistveno nižje kot izgube mase kontrolnih vzorcev, ki smo jih nismo prepojili niti z vodo.

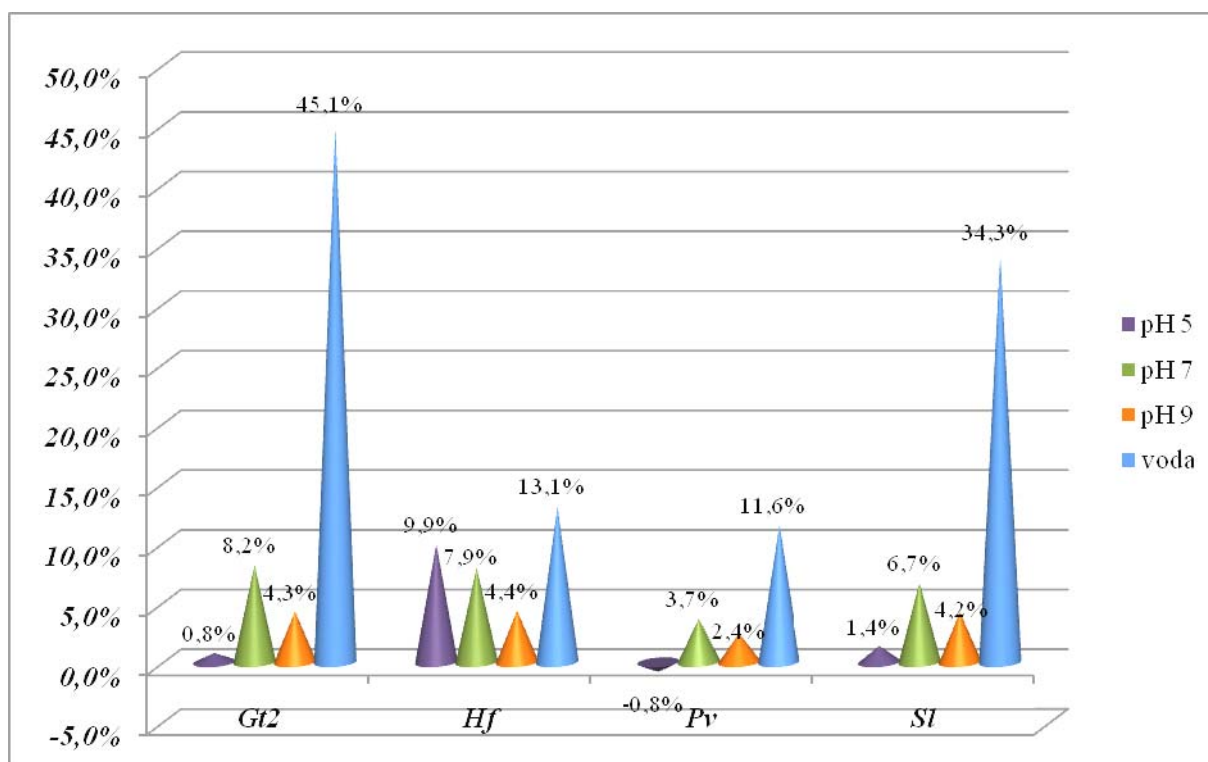
Izguba mase neimpregniranih vzorcev, prepojenih s pufrom pH 5 je 9,9 %. Ta rezultat nakazuje, da je na glivo *Hf* še najmanj vplival ta pufer. V bazičnem okolju, pri vzorcih prepojenih s pufrom pH 9, je bilo delovanje glive *Hf* najbolj zavrto. Izguba mase je znašala le 4,4 %. V nevtralnem območju, pri vzorcih prepojenih s pufrom pH 7, pa je izguba mase po osmih tednih izpostavitve glivi *H. fragiforme* znašala 7,9 %.

Prepojitev vzorcev s pufri je vplivala na pH vrednost lesa. S tem, ko smo porušili optimalno pH vrednost podlage, smo vplivali na delovanje gliv. Za glivo *S. lacrymans* je optimalna pH vrednost podlage 2,4 (Schmidt, 2006), zato smo pričakovali, da bo izguba mase v kislem območju najvišja. Ker pa smo s pufri v les vnesli določene kemikalije je slika nekoliko drugačna. *Sl* je nadpovprečno visoko izgubo mase dosegla pri vzorcih prepojenih z vodo (34,3 %) (preglednica 8, slika 11). Zanimarjive izgube mase pa smo zabeležili pri vzorcih prepojenih s pufrom pH 5. Podobno nizke izgube mase smo opazili tudi pri zakisanih vzorcih, izpostavljenih ostalima glivama rjave trohnobe (*Gt2* in *Pv*).

Nekoliko večje izgube mase smo zabeležili pri vzorcih prepojenih s pufrom pH 7, temu pa so sledile izgube mas vzorcev prepojenih s pufrom pH 9. Ta rezultat nakazuje, da so sestavine pufera pH 5 (CH_3COOH in NaOH) imele zaviralnejši vpliv na razkrojne procese, kot sestavine pufrov pH 7 (KH_2PO_4 in NaOH) in pH 9 ($\text{HO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$ in HCl) (preglednica 8, slika 11).

Preglednica 8: Vpliv prepojitve kontrolnih neimpregniranih vzorcev z različnimi pufrskimi raztopinami na izgubo mase smrekovih vzorcev po osemtedenski izpostavitvi lesnim glivam

GLIVA	VREDNOST pH PUFRA			
	pH 5	pH 7	pH 9	H ₂ O
<i>Gloeophyllum trabeum</i>	0,8%	8,2%	4,3%	45,1%
<i>Antrodia vaillantii</i>	-0,8%	3,7%	2,4%	11,6%
<i>Serpula lacrymans</i>	1,4%	6,7%	4,2%	34,3%
<i>Hypoxylon fragiforme</i>	9,9%	7,9%	4,4%	13,1%



Slika 11: Vpliv pufrov z različno vrednostjo pH, na izgubo mase kontrolnih smrekovih vzorcev, po osemtedenski izpostavitvi lesnim glivam

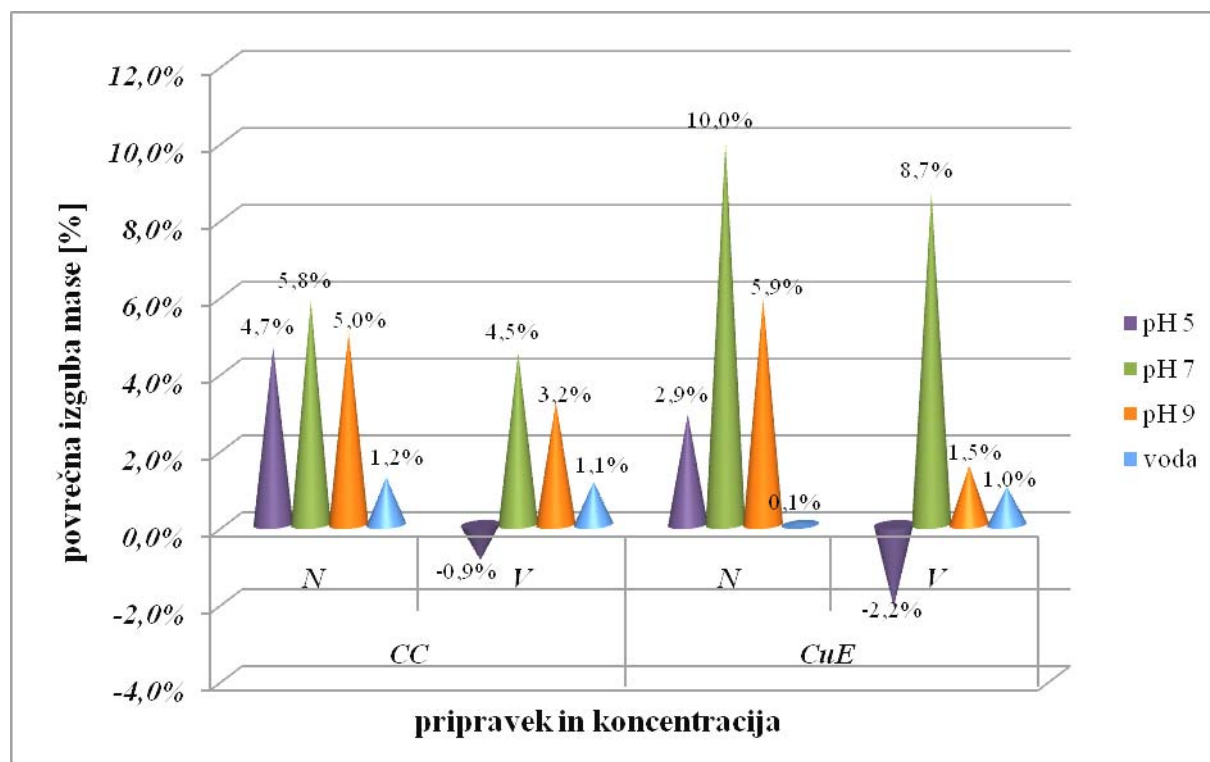
4.3 VPLIV ZAŠČITNEGA PRIPRAVKA, KONCENTRACIJE IN VREDNOSTI pH NA IZGUBO MASE VZORCEV IZPOSTAVLJENIH GLIVI *GLOEOPHYLLUM TRABEUM*

Navadna tramovka ali *Gloeophyllum trabeum* je tipična razkrojevalka lesa, kar se odraža v izrazito visokih izgubah mas kontrolnih vzorcev. Obenem pa je za to vrsto glive značilno, da je občutljiva na bakrove pripravke, saj so le-ti že pri nizkih koncentracijah povsem preprečili razkroj smrekovih vzorcev, ki so bili prepojeni samo z destilirano vodo. Ne glede na zaščitni pripravek in koncentracijo so vzorci, prepojeni z destilirano vodo, izgubili največ 1,2 % mase. Standard SIST EN 113 (1995) pa pravi, da so izgube mase pod 3 % zanemarljive.

Pri impregniranih vzorcih, ne glede na pripravek in koncentracijo ter prepojenih s pufri bazičnih pH vrednosti (pH 7 in pH 9), so izgube bistveno višje. Najvišjo izgubo mase smo zabeležili pri s CuE N zaščenih vzorcih, prepojenih s pufrom pH 7. Izguba mase je znašala kar 10 %. Tudi pri vzporednih vzorcih prepojenih z istim pripravkom, vendar višje koncentracije (CuE V), bakrove učinkovine ne ustavijo razkroja. Pri vzorcih zaščenih s pripravkom CuE V in prepojenih s pufrom pH 7 je izguba mase, po osmih tednih izpostavitve na baker občutljivi glivi *G. trabeum*, še vedno 8,7 % (slika 12).

Podobne rezultate smo opazili tudi pri vzorcih impregniranih s pripravki CC. Podatki, ki kažejo, da je pri višjih vrednostih pH celoten sistem manj učinkovit so presenetljivi. Razlogi za nastalo situacijo so še nepojasnjeni, vendar menimo, da bi na to lahko vplivala naslednja dejstva. Možno je, da pri prepojitvi s pufri pride do intenzivnejšega izpiranja bakrovih učinkovin iz lesa kot pri prepojitvi z destilirano vodo. Poleg tega je možno, da je med sestavinami pufrov in bakrovimi učinkovinami v lesu prišlo do nastanka novih, glivam manj strupenih kompleksov.

Pri vzorcih impregniranih s pripravki višjih koncentracij smo opazili bistveno večjo učinkovitost pripravkov v kislem okolju (pH 5). Očitno je baker za glive v tem (kislem) okolju bolj učinkovit kot v bazičnem območju (slika 12). Presenetilo nas je dejstvo, da smo v določenih primerih opazili celo negativno izgubo mase. Vzrok za to so lahko premalo očiščeni vzorci ali pa nastanek kristalov v celičnih lumnih. O podobnem pojavu poročajo tudi drugi avtorji (Benedikt, 2002).



Slika 12: Vpliv prepojitve z različnimi pufri na izgubo mase smrekovih vzorcev, impregniranih z različnimi bakrovimi pripravki po osmih tednih izpostavitve glivi *Gloeophyllum trabeum*

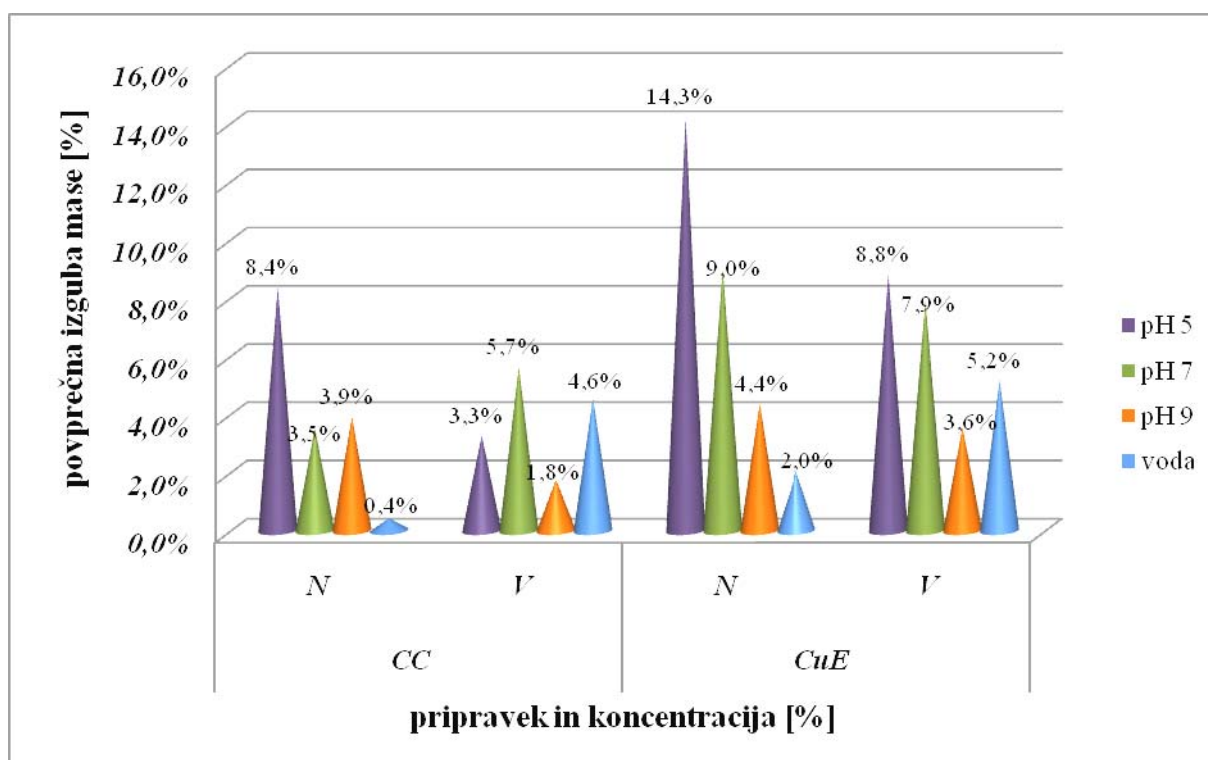
4.4 VPLIV ZAŠČITNEGA PRIPRAVKA, KONCENTRACIJE IN VREDNOSTI pH NA IZGUBO MASE VZORCEV IZPOSTAVLJENIH GLIVI *HYPOXYLON FAGIFORME*

Hypoxylon fragiforme je predstavnica gliv bele trohnobe. Kljub temu, da glive bele trohnobe pretežno razkrajajo les listavcev, je ogljena kroglica razkrojila tudi dobršen del smrekovega vzorca.

V večini primerov smo najnižjo izgubo mase impregniranih vzorcev opazili pri vzorcih prepojenih le z destilirano vodo. Zanimivo je, da so slabšo odpornost na glivni razkroj izkazali vzorci prepojeni s pripravki višjih koncentracij. Ta pojav je že znan in je povezan predvsem z izpiranjem aktivnih učinkovin v hranilno gojišče. O podobnih rezultatih poroča tudi Atelšek (2007).

Ugotovili smo, da se odraža tesna povezanost med vrednostjo pH pufra s katerim smo prepojili impregnirane vzorce in izgubo mase. Bolj kisel puffer kot smo uporabili za prepojitvev

vzorcev, večjo izgubo impregniranih vzorcev smo določili (slika 13). Vzrok za ta rezultat se verjetno skriva v dejstvu, da so bakrove učinkovine bistveno bolj fungitoksične v kislem kot v bazičnem (Gantar, 2003). Za glivo *H. fragiforme* je okolje z vrednostjo pH 5 že dovolj kislo za dober razkroj, med tem ko glive rjave trohnobe zahtevajo bolj kislo okolje. Tako smo največjo izgubo mase z bakrovimi pripravki impregniranih vzorcev (CuE N) zabeležili pri vrednosti pH 5 (14,3%).



Slika 13: Vpliv prepojitve, z različnimi pufri, na izgubo mase smrekovih vzorcev, impregniranih z različnimi bakrovimi pripravki, po osmih tednih izpostavitve glivi *Hypoxylon fragiforme*

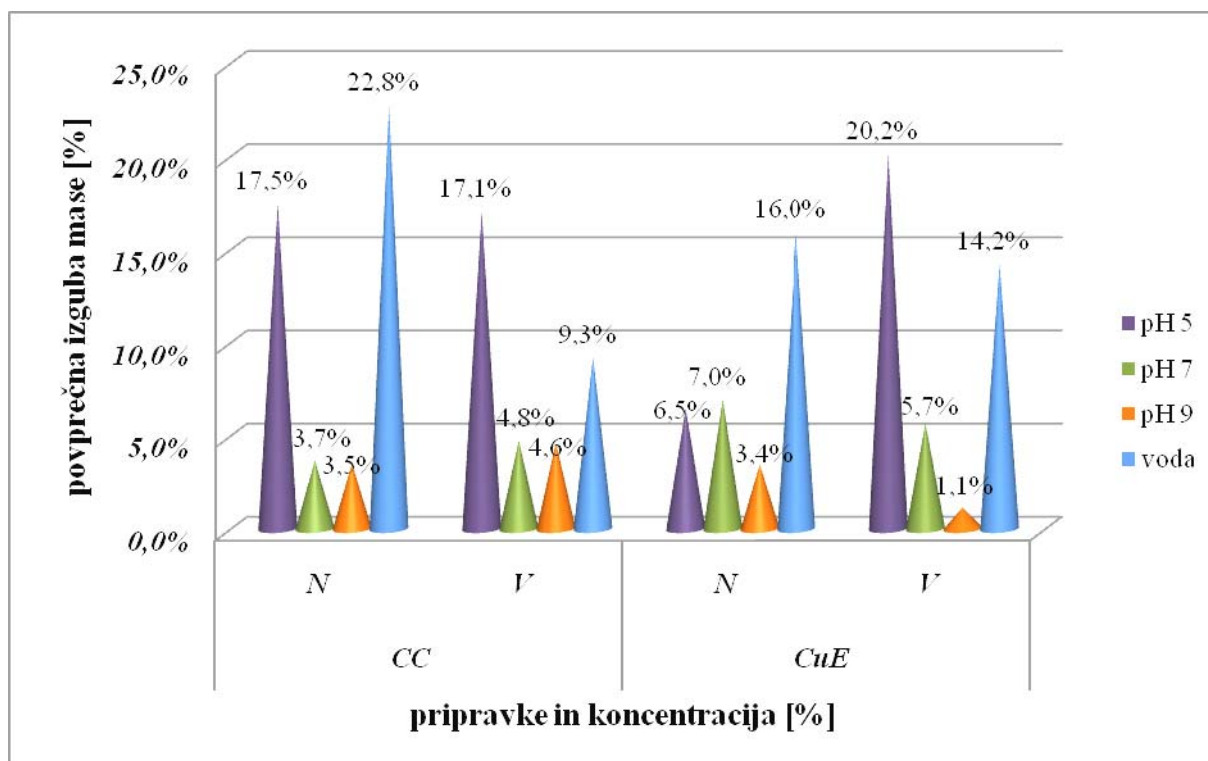
4.5 VPLIV ZAŠČITNEGA PRIPRAVKA, KONCENTRACIJE IN VREDNOSTI pH NA IZGUBO MASE VZORCEV IZPOSTAVLJENIH GLIVI *ANTRODIA VAILLANTII*

Antrodia vaillantii je ena izmed skupine gliv, ki so najbolj tolerantne na bakrove učinkovine. Še posebej je toleranten izolat, ki smo ga uporabili v tej raziskavi (Malnarič, 2001). Glavni razlog za toleranco je dejstvo, da gliva *A. vaillantii* izloča velike količine oksalne kisline, ki reagira z bakrovimi učinkovinami v lesu pri tem nastane v vodi netopen bakrov oksalat

(Bokan, 2004). Izrazita tolerantnost se odraža v izgubah mase pri impregniranih vzorcih, ki so bili prepojeni le z vodo. Vsi ti vzorci so izgubili znaten delež mase, 22,8 % pri pripravkih CC N in 16 % pri pripravkih CuE N (slika 14).

Tako kot pri *H. fragiforme*, smo tudi pri *A. vaillantii* ugotovili, da kislo območje (vzorci prepojeni s pufrom pH 5) pozitivno vpliva na razkrojne procese. Pri impregniranih vzorcih, prepojenih s pufrom pH 5, smo določili celo višje izgube mase kot pri kontrolnih vzorcih prepojenih z istim pufrom (sliki 11 in 14). Očitno je, da bakrove spojine celo spodbudijo razkrojne procese lesa pri tej glivi.

Višanje pH vrednosti in s tem prehajanje v bazično okolje negativno vpliva na razkrojne procese bele hišne gobe. Najnižja izguba mase, zanemarljivih 1,1 %, je bila zabeležena pri vzorcih impregniranih s pripravkom CuE V in prepojenih s pufrom pH 9. Ti rezultati kažejo, da glede na to, da je *A. vaillantii* odporna na bakrove pripravke, bi njihovo učinkovitost lahko izboljšali z dvigom puferske kapacitete bazičnih baker-etanolaminskih pripravkov.



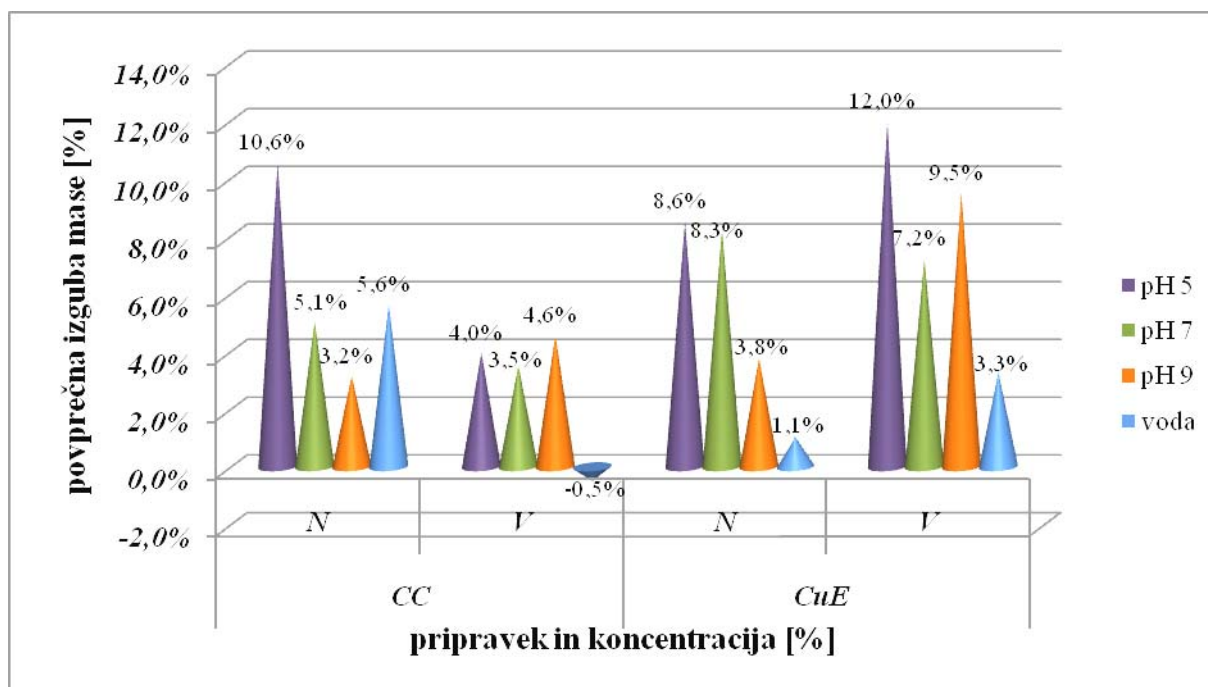
Slika 14: Vpliv prepojitve, z različnimi pufri, na izgubo mase smrekovih vzorcev, impregniranih z različnimi bakrovimi pripravki, po osmih tednih izpostavitve glivi *Antrodia vaillantii*

4.6 VPLIV ZAŠČITNEGA PRIPRAVKA, KONCENTRACIJE IN VREDNOSTI pH NA IZGUBO MASE VZORCEV IZPOSTAVLJENIH GLIVI *SERPULA LACRYMANS*

Bakrovi pripravki že sami po sebi relativno dobro ščitijo les pred razkrojem s sivo hišno gobo. Pri pripravku CuE se je izkazalo, da so pripravki nižjih koncentracij učinkoviteje ščitili les kot pripravki višjih koncentracij. Razlogi za ta pojav so opisani v podpoglavju 4.3.

Podobno kot pri beli hišni gobi, smo tudi pri sivi hišni gobi najvišje izgube mase impregniranih vzorcev opazili pri vzorcih, prepojenih s kislim pufrom. Najbolj pa so bili razkrojeni vzorci impregnirani s pripravkom CuE V in prepojeni s pufrom pH 5 (12 %), sledi jim izguba mase pri vzorcih impregniranih s pripravkom CC N ter prepojenimi s pufrom pH 5 in sicer 10,6 % (slika 15). Najnižje vrednosti in s tem najslabši razkroj lesa pa dobimo pri impregniranih vzorcih, ki smo jih prepojili le z vodo.

Očitno je, da kislo okolje ustreza *S. lacrymans*. Vendar pa tudi bazično okolje v celoti ne prepreči delovanja glive, saj je prepojitev z bazičnimi pufri poslabšala odpornost impregniranega lesa proti sivi hišni gobi v primerjavi z bakrom impregniranimi vzorci, prepojenimi le z vodo.



Slika 15: Vpliv prepojitve, z različnimi pufri, na izgubo mase smrekovih vzorcev, impregniranih z različnimi bakrovimi pripravki, po osmih tednih izpostavitve glivi *Serpula lacrymans*

5 SKLEPI

Rezultate, pridobljene tekom raziskovalnega dela, lahko strnemo v naslednjih ugotovitvah.

Pri kontrolnih vzorcih je največji razkroj dosegla gliva rjave trohnobe *Gloeophyllum trabeum*, kar je bilo pričakovano, saj je gliva odlična razkrojevalka stavbnega in gradbenega lesa, ki je v večini iz lesa smrekovine iz katere so bili izdelani tudi naši vzorci. Najmanj učinkovita je bila gliva *Antrodia vaillantii*. Razlog zato lahko pripišemo temu, da glive ki so tolerantne na baker, hitro in učinkovito prerastejo les, nimajo pa tako učinkovitih mehanizmov za razgradnjo kristalinične celuloze, kot na primer gliva *Gloeophyllum trabeum*.

Pri vseh glivah rjave trohnobe so bili razkrojni procesi na kontrolnih vzorcih, po prepojitvi s pufrom pH 5, skoraj zavrti. Dobro razkrojeni pa so po pričakovanjih vzorci prepojeni samo z vodo. Iz tega je razvidno, da lahko že s prepojitvijo s pufri zaščitimo les pred delovanjem gliv razkrojevalk.

Netolerantnost glive *Gloeophyllum trabeum* na baker se odraža v rezultatu, da so bakrovi pripravki že pri nižjih koncentracijah uspešno ščitili preizkušance, ki so bili prepojeni samo z vodo. Pri impregniranih vzorcih, prepojenih s pufri z bolj bazičnimi vrednostmi pH, je izguba mase precej visoka, kar je presenetljivo.

Predstavnica bele trohnobe, gliva *Hypoxylon fragiforme*, izjemno dobro uspeva v kislem okolju. Dobljeni podatki pa kažejo, da z višanjem pH vrednosti zaviramo rast glive, saj je bil padeč izgube mase višji tudi od 200 %.

Gliva *Antrodia vaillantii* najboljše razkroja vzorce impregnirane z bakrovimi pripravki ter prepojene s pufrom pH 5 in vodo. Gliva je sposobna sama proizvesti kislino in si s tem ustvariti idealno okolje za dober razvoj. V bazičnem okolju je rast gliv veliko bolj zavrti, kot v kislem.

Tudi gliva *Serpula lacrymans* je tolerantna na bakrove učinkovine, vendar nekoliko manj kot *Antrodia vaillantii*. Za razliko od glive *Antrodia vaillantii*, bazične vrednosti pH ne izboljšujejo delovanja bakrovih zaščitnih pripravkov.

V splošnem bi lahko povzeli, da lahko s pomočjo pufrov uravnavamo učinkovitost bakrovih pripravkov. V višanjem pH vrednosti podlage oziroma s prehodom iz kislega v bazično okolje povečujemo učinkovitost pripravka in s tem zmanjšujemo glivni razkroj. Rezultati so pokazali, da to velja za tri od štirih preizkušenih gliv. Le pri glivi *Gloeophyllum trabeum* so podatki pokazali obrnjeno sliko.

6 POVZETEK

Lesni izdelki za svoj dolgotrajni obstoj potrebujejo ustrezno zaščito. Kadar so izpostavljeni zunanji vplivom in ko konstrukcijske rešitve ne zadoščajo, jim moramo izbrati ustrezno zaščitno sredstvo. V diplomski nalogi smo poskušali ugotoviti kako vrednost pufrov vpliva na trohnenje lesa, zaščenega z bakrovimi pripravki. Večina lesnih gliv za svoj normalen razvoj potrebuje kislo okolje, ki si ga lahko s svojim metabolizmom ustvari tudi sama. S spremembo vrednosti pH in prehodom iz kislega v bazično okolje smo želeli zmanjšati ali vsaj upočasniti glivni razkroj lesa.

Poizkuse smo izvedli z nestandardno mini blok metodo. Vzorce smo najprej vakuumsko impregnirali z raztopino CC in CuE, različnih koncentracij ($c_{Cu} = 0,10\%$ in $c_{Cu} = 0,25\%$), ter jih nato prepojili s pufri: pH 5, pH 7, pH 9 in H₂O. Skupaj s kontrolnimi vzorci smo jih izpostavili glivam rjave trohnobe: *Gloeophyllum trabeum*, *Antrodia vaillantii*, *Serpula lacrymans* in glivi bele trohnobe *Hypoxylon fragiforme* in jim po osmih tednih izračunali izgubo mase.

Rezultati kažejo, da lahko glivo *Antrodia vaillantii*, ne glede na to da je tolerantna na baker, dokaj uspešno zatremo z višanjem vrednosti pH, saj je v bazičnem okolju bistveno manj razkrajala kot v kislem. Prav nasprotno pa se je dogajalo z glivo *Gloeophyllum trabeum*, ki je najbolj delovala prav pri višjih vrednostih pH. Dobljeni podatki so nas nekoliko presenetili, vendar lahko to utemeljimo z določenimi procesi, ki so se zgodili med samo zaščito preizkušancev. Uspešnost rasti in razkroja lesa glive *Hypoxylon fragiforme* je prav tako kot pri glivi *Antrodia vaillantii*, oslABLJENA v bazičnem okolju. Rezultatov, ki bi kazali na uspešnost spremembe vrednosti pufrom na razkroj, žal nismo dosegli pri glivi *Serpula lacrymans*. Gliva je ne glede na pufer, uspešno razkrajala les.

7 VIRI

1. Akamatsu Y., Takahashi M., Shimada M. 1994. Production of oxalic acid by wood-rotting *Basidiomycetes* grown on low and high nitrogen culture media. *Material und organismen*, 28, 3: 250-264
2. Atelšek J. 2007. Določanje minimalne koncentracije zaščitnega pripravka na osnovi bakra in etanolamina za zaščito lesa pred trohnenjem. Diplomsko delo. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za lesarstvo: 37 str.
3. Benedik J. 2002. Tolerantnost gliv rjave trohnobe na komercialna zaščitna sredstva na osnovi bakrovih spojin. Diplomsko delo. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za lesarstvo: 50 str.
4. Benko R., Kervina – Hamović L., Gruden M. 1987. Patologija lesa. Lesna fitopatologija. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za lesarstvo: 2 - 98
5. Biocidal Products Directive (98/8/EC). 1998. Official Journal of the European Communities L. 123: 1-63
6. Bokan M. 2004. Razstrupljanje lesa, zaščitenege s sredstvi na osnovi bakra in kroma z lesnimi glivami. Diplomsko delo. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za lesarstvo: 67 str.
7. Carile M., Watkinson S.C. 1994. The fungi. London, Academic press limited: 482 str
8. Collet O. 1992. Variation in copper tolerance among isolates of the brown-rot fungi *Postia placenta* (Fr.) M. Lars. & Lomb. and *Antrodia xantha* (Fr.) Ryv. *Material und organismen*, 27, 4: 263 - 271
9. Collet O. 1992a. Comparative tolerance of the brown-rot fungus *Antrodia vaillantii* (DC.:Fr.) Ryv. isolates to copper. *Holzforschung*, 46, 4: 293 -298
10. Connell M. 2004. Issues facing preservative suppliers in changing market for treated wood. Bruselj, COST E22, 8s.
11. Da Costa E.W.B. 1959. Abnormal resistance of *Poria vaillantii* (D.C. ex Fr.) Cke. strains to copper-chrome-arsenate wood preservatives. *Nature*, 183, 7:910-911
12. De Groot R.C., Woodward B. 1998. *Wolfiporia cocos* - a potential agent for composting or bioprocessing Douglas-fir wood treated with copper-based preservatives. *Forest products journal*, 32, 3: 195 - 215

13. De Groot R.C., Woodward B. 1999. Using copper - tolerant fungi to biodegrade wood treated with copper - based preservatives. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 44: 17 - 27
14. Eaton R.A., Hale M.D.C. 1993. *Wood: decay, pests and protection*. London, Chapman & Hall: 546 str.
15. Flemming C.A., Trevors J.T. 1989. Copper toxicity and chemistry in the environment: a review. *Water, air and soil pollution*, 44: 143 - 158
16. Gadd G.M. 1993. Interactions of fungi with toxic metals. *New Phytologist*, 124: 25 - 60
17. Gantar M. 2003. Vpliv zakisanja na fungicidne lastnosti CCB pripravkov. Ljubljana, Diplomsko delo. Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za lesarstvo: 68 str
18. Green III F., Larsen M.J., Winandy J.E., Highley T.L. 1991. Role of oxalic acid in incipient brown-rot decay. *Material und Organismen*, 26: 191-213.
19. Gupta U. 1979. *Copper in the Enviroment. Part 1* New York, John Wiley and Sons: 215 str.
20. Hirt R.R. 1949. An isolate of *Poria xantha* on media containing copper. *Phytopathologist*, 39, 1: 31-36
21. Hughes A. S. 1999. Studues on the fixation mechanisms, distribution and biological performance of copper based timber preservatives. Ph. D. thesis, London, Imperial College of Science, Technology and Medicine: 313 str.
22. Humar M. 2004. Zaščita lesa danes – jutri. *Les* 56: 184 – 188
23. Humar M. 2009. Kako zaščititi les. Inovativna lesena gradnja. Strokovni seminar, Ljubljana. 23. marec 2009. Kitek Kuzman M. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo: 37-41
24. Humar M., Bučar B., Pohleven F. 2006. Brown-rot decay of copper-impregnated wood. *International Biodeterioration & Biodegradation*, vol. 58, no. 1, 9-14 str.
25. Humar M., Petrič M., Pohleven F. 2001. Changes of pH of impregnated wood during exposure to wood-rotting fungi. *Holz als Roh- und Werkstoff*, 59, 288-293.
26. Humar M., Petrič M., Pohleven F., Šentjurs M. 2000. Changes of EPR spektra of wood, impregnated with copper based preservatives, during exposure to *Antrodia vaillantii*. IRG/WP, Document 00 - 10355: 9 str.
27. Humar M., Pohleven F. 2000. Značilnosti razkroja lesa z rjavo trohno. *Les*, 52, 7-8: 229-234

28. Humar M., Pohleven F. 2003. Razstrupljanje odpadnega s CCA ali CCB pripravki zaščitenega lesa z lesnimi glivami. *Les*, 55, 4: 48-53
29. Illman B. L., Bajt S., Highley T.L. 1996. Fungal degradation of wood treated with metal-based preservatives: 2. Redox states of chromium. The International Research Group on Wood Preservation, IRG/WP 96-10164
30. Jellison J., Connolly J., Goodell B., Doyle B., Illman B., Fekete F., Ostrfsky A. 1997. The role of cations in the biodegradation of wood by the brown rot fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 39, 3: 165-179
31. Kervina-Hamović L. 1990. Zaščita lesa. Ljubljana, BF - Oddelek za lesarstvo: 126 str.
32. Langendorf G. 1961, *Handbuch für den Holzschutz*. Leipzig, VEB Fachbuchverlag: 330 str.
33. Leithoff H., Peek R-D. 1998. Biological detoxification processes. IRG/WP 98- 50120: 13 str.
34. Malnarič A. 2001. Ugotavljanje tolerantnosti nekaterih sevov gliv iz rodu *Antrodia* na bakrove spojine. Diplomsko delo. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Odd. za lesarstvo: 60 str.
35. Micales J.A. 1995. Induction of oxalic acid by carbohydrate and nitrogen sources in the brown-rot fungus *Postia placenta*. *Material und organismen*, 28, 3: 197 – 207
36. Nurmi A.J., Lindroos L. 1994. Recycling of treated timber by copper smelter. The International Research Group for Wood Preservation. IRG/ WP50030-94: 6 str.
37. Pohleven F. 2000. Ogroženost lesnih predmetov kulturne dediščine z glivami. *Les v restavraciji*, RES 4: 25-30
38. Pohleven F., 1998. The current status of use of wood preservatives in some European countries – summary of the answers to the questionnaire – the last correction in February 1998. Bruselj, COST E2: 2 str.
39. Pohleven F., Breznikar Š., Kalan P., Petrič M. 1999. Determination of absorption, accumulation and transport of copper in mycelium of some wood decay fungi. IRG / WP 99 - 10323: 11 str.
40. Pohleven F., Petrič M. 1992. Ekološke perspektive zaščite lesa pred škodljivci. *Nova revija*, 43, 3: 94 - 98
41. Pohleven, F., Humar, M., Amartej, S., Benedik J. 2002. Tolerance of Wood Decay Fungi to Commercial Copper Based Wood Preservatives. International research group for wood preservation. IRG/WP 02-30291: 12 str.

42. Preston A. 2000. Trends of today that will influence the industry tomorrow. Forest product journal, 50, 9: 12-19
43. 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.
44. Richardson B. A. 1993. Wood Preservation. Second edition. London, Glasgow, E & FN Spon: 226 str.
45. Richardson H. W. 1997. Handbook of copper compounds and applications. New York, M. Dekker: 93 - 122
46. Schmidt O. 1994. Holz – Bauenpilze. Berlin, Springer – Verlag: 246 str.
47. Schmidt O. 2006. Wood in tree fungi. Berlin, New York, Springer: 70 – 74
48. Seifert K. 1968. Zur Systematik der Holz – fräulen Ihre Chemischen und Physikalischen Kennzeichen. Holz als Roh und Werkstoff, 26 , 6: 208 – 215
49. SIST EN 113. Determination of toxic values of wood preservatives against wood destroying Basidiomycetes cultured on an agar medium. 1995: 25 str.
50. 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.
51. Stephan I., Leithoff H., Peek R. D., 1996. Microbial conversion of wood treated with salt preservatives. - Material und Organismen 30, 4: 179-199
52. Sutter H.P., Jones E.B.G., Walchli O. 1983. The mechanism of copper tolerance in *Poria placenta* (Fr.) Cke. and *Poria vaillantii* (Pers.) Fr. Material und Organismen, 18, 4: 241 - 262
53. Suttie E., Englund F. 2008. Market challenges – Outcome of a questionnaire, Bruselj, COST E37. 21 s.
54. Syrjanen T. 1999. Recycling of impregnated timber. Part 1: Crushing, combusting plants, amount, costs and logistics. IRG/WP 99 - 50131: 8 str.
55. Takao S. 1965. Organic acid production by *Basidiomycetes*. Applied microbiology, 13, 5: 732-737
56. Tsunoda K., Nagashima K., Takahashi M. 1997. High tolerance of wood-destroying brown-rot fungi to copper-based fungicides. Material und Organismen, 31, 1: 31 - 44
57. Uhelj A. 2006. Vpliv lastnosti vode na izpiranje bakrovih pripravkov iz lesa. Diplomsko delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo: 32 str.

58. Unger A., Schniewind A.P., Unger W. 2001. Conservation of wood Artifacts. Berlin, Springer, 578 str.
59. Woodward B., De Groot R. 1999. Tolerance of *Wolfporia cocos* isolated to copper in agar media. Forest Products Journal, 49, 3: 87-94
60. Wu L., Lin S. 1990. Copper tolerance and copper uptake of *Lotus purshianus* (Benth.) Clem. & Clem. and its symbiotic *Rhizobium loti* derived from the copper mine waste population. New phytologist, 116: 531 - 539
61. Yang V.W., Illman B.L. 1999. Optimum growth conditions for the metal-tolerant wood decay fungus, *Meruliporia incrassata* TFFH 294. IRG/WP, Document 99 - 50142: 8 str.
62. Zabel R.A., Morrell J.J. 1992. Wood microbiology-decay and its prevention. New York, Academic press: 476 str.

ZAHVALA

Za vso pomoč in spodbudo pri pisanji diplomske naloge se najlepše zahvaljujem mentorju doc. dr. Mihi Humarju.

Hvala recenzentu prof. dr. Francu Pohlevnu za strokovno recenzijo ter vsem na Katedri za patologijo in zaščito lesa za pomoč pri izvajanju eksperimentalnega dela naloge.

Hvala vsem sošolcem in prijateljem za nepozabna študentska leta.

Končna zahvala pa je namenjena staršema, ki sta mi omogočila študij in ki sta verjela vame.

Hvala!