

GDK 841.4 + 844

Prispelo / Received: 16.09.2003

Sprejeto / Accepted: 06.11.2003

Izvirni znanstveni članek

Original scientific paper

## OKUŽBA S PRIPRAVKI CCB ZAŠČITENIH IN IZPRANIH LESNIH VZORCEV Z GLIVAMI RAZKROJEVALKAMI LESA

Miha HUMAR\*, Franc POHLEVEN\*

### Izvleček

Les, zaščiten s pripravki CCB, je odporen proti trohnenju. Vendar v zadnjih letih opažamo, da se na lesu, impregniranem s CCB, pojavljajo okužbe z glivami, tolerantnimi na Cu. V raziskavi smo opazovali preraščanje in penetracijo hif na zaščitenih vzorcih, izpostavljenim glivam razkrojevalkam, in osvetlili vpliv izpiranja na kolonizacijo. Vzorce smo izdelali iz beljave smrekovine (*Picea abies*) in jih impregnirali s 5 % raztopino CCB v skladu s standardom SIST EN 113. Del kondicioniranih vzorcev smo izpirali po standardu SIST EN 84. V tretjino izpranih in neizpranih vzorcev smo vzdolžno zvrtili luknjo in vanjo vstavili palčko ( $r = 1,5$  mm,  $l = 25$  mm). Nato smo odprtino zatesnili z epoksidnim premazom. Sterilizirane impregnirane in neimpregnirane vzorce smo izpostavili dvema na baker tolerantnima sevoma (*Antrodia vaillantii* in *Leucogyrophana pinastri*) in dvema na baker občutljivima izolatoma (*Poria monticola*, *Gloeophyllum trabeum*). Po izpostavitvi smo iz vzorcev previdno odstranili palčko in jo postavili na sterilno hranilno gojišče, kjer smo dva tedna opazovali prisotnost hif. Stopnjo kolonizacije smo ovrednotili tudi z merjenjem CO<sub>2</sub>. Po 16 tednih izpostavitve smo ugotovili še izgubo mase izpostavljenih vzorcev. Neimpregnirane vzorce so najhitreje prerasle hife glive *G. trabeum*. Po drugi strani pa pri vzorcih, impregniranih s CCB, na palčkah tudi po 12 tednih izpostavitve nismo zasledili prisotnosti hif. Prodiranje hif pri izpranih impregniranih vzorcih je bilo bistveno hitrejše. Menimo, da je razlog za intenzivnejšo kolonizacijo izpranih vzorcev, impregniranih s CCB, izprani bor, ki v nižjih koncentracijah ni zaviral preraščanja micelija.

Ključne besede: toleranca na baker, CCB, les, glive razkrojevalke, bor, izpiranje, preraščanje, respiracija

### INFECTION OF CCB PRESERVED AND LEACHED WOOD SPECIMENS WITH WOOD DECAY FUNGI

#### Abstract

CCB treated wood is generally resistant to all wood decay fungi. However, like at CCA impregnated wood, susceptibility of CCB treated wood to copper tolerant fungi have been observed. It was investigated whether the hyphae of brown rot fungi could overgrow on and penetrate into the wood samples. Samples made of Norway spruce (*Picea abies*) were impregnated with 5 % CCB solution according to the EN 113 procedure. After conditioning, part of the samples was leached according to the EN 84 method. A small stick of unimpregnated wood ( $r = 1.5$  mm,  $l = 25$  mm) was inserted into a hole, bored in the center of the sample, and then sealed with epoxy coating. Sterilized, leached and non-leached impregnated and unimpregnated specimens were exposed to two copper-tolerant (*Antrodia vaillantii*, *Leucogyrophana pinastri*) and two copper sensitive (*Poria monticola*, *Gloeophyllum trabeum*) brown rot fungal strains. After exposure, the inserted wood pieces were removed from the specimens and put onto nutrient medium in petri dishes. Growth of the hyphae from those wood pieces was then visually determined. Rate of colonization by the fungi was determined by measurement of CO<sub>2</sub>. Mass losses after 16 weeks of exposure were also determined. The fastest colonization of the unimpregnated specimens was by *G. trabeum*. On the other hand, no fungal growth could be detected on non-leached CCB impregnated specimens even after 12 weeks of exposure. However, significantly more intense colonization by the copper tolerant fungi was detected on the leached CCB treated samples. We concluded that the reason for observed higher susceptibility originates in leached boron, which did not influence, in lower concentrations, fungal growth.

Key words: copper tolerance, CCB, wood, wood decay fungi, leaching, boron, overgrow, respiration

\*

Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo, Rožna dolina c. VIII/34, 1000 Ljubljana, SVN

**VSEBINA  
CONTENTS**

|          |                                    |     |
|----------|------------------------------------|-----|
| <b>1</b> | <b>UVOD</b> .....                  | 127 |
|          | INTRODUCTION                       |     |
| <b>2</b> | <b>MATERIAL IN METODE</b> .....    | 128 |
|          | MATERIAL AND METHODS               |     |
| <b>3</b> | <b>REZULTATI IN RAZPRAVA</b> ..... | 130 |
|          | RESULTS AND DISCUSSION             |     |
| <b>4</b> | <b>ZAKLJUČKI</b> .....             | 134 |
|          | CONCLUSIONS                        |     |
| <b>5</b> | <b>SUMMARY</b> .....               | 134 |
| <b>6</b> | <b>VIRI</b> .....                  | 135 |
|          | REFERENCES                         |     |

## **1 UVOD**

### **INTRODUCTION**

Bakrovi pripravki zagotavljajo učinkovito zaščito za sprejemljivo ceno z relativno nizkim okoljskim tveganjem (RICHARDSON 1997). V preteklosti so za zaščito lesa večinoma uporabljali bakrove spojine v kombinaciji s kromom in arzenom - pripravke CCA. Danes pa je uporaba arzena v številnih državah močno omejena ali celo prepovedana. V Sloveniji, Avstriji in Nemčiji je uporaba teh pripravkov prepovedana že skoraj 20 let, zato so pripravke CCA nadomestili z raztopinami CCB, kjer so arzen nadomestili s spojinami bora (HUMAR *et al.* 2002a). Anorganske borove spojine so odličen insekticid, ki v višjih koncentracijah deluje tudi fungicidno.

Največja pomanjkljivost pripravkov CCB je slaba fiksacija borovih soli. Spojine bora, v nasprotju z bakrovimi in kromovimi učinkovinami, z lesom ne reagirajo in se zato iz njega izpirajo (PEYLO / WILLEITNER 1996). Posledica izluževanja biocidov je povečana dovzetnost za napad škodljivcev. V zadnjih letih so pripravki CCB postali neučinkoviti na baker tolerantne seve lesnih gliv. Toleranca gliv na baker je povezana z oksalno kislino, ki jo v velikih količinah izločajo glive rjave trohnobe (SHARP 1975, TSUNODA *et al.* 1997). Oksalna kislina reagira z bakrovimi spojinami v lesu in pri tem nastane netopen in zato nefungiciden bakrov oksalat (POHLEVEN *et al.* 2001 in 2002, HUMAR *et al.* 2001 in 2002b). V literaturi zasledimo navedbe, da se tolerantne glive pojavljajo tudi na drogovih, zaščitenih s pripravki CCB. Vendar laboratorijski eksperimenti z vzorci, impregniranimi s CCB, tolerance lesnih gliv na baker niso potrdili (POHLEVEN *et al.* 2002). Vzrok za to bi lahko bil bor, ki se v impregniranih vzorcih pojavlja v tolikšnih koncentracijah, da ob insekticidnosti deluje tudi fungicidno. V tem prispevku želimo osvetliti vpliv bora v pripravkih CCB na sposobnost tolerantnih gliv, da kolonizirajo in razkrajajo izprane in neizprane lesne vzorce, impregnirane s pripravki CCB.

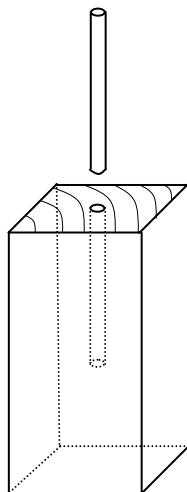
## **2 MATERIAL IN METODE** **MATERIAL AND METHODS**

### **2.1 PRIPRAVA VZORCEV** **PREPARATION OF THE SAMPLES**

Vzorci dimenzij (1,5 × 2,5 × 5,0 cm) smo izdelali iz beljave smrekovine (*Picea abies*, Karst). Impregnirani so bili s 5 % raztopino CCB (34 % CuSO<sub>4</sub>×5H<sub>2</sub>O; 37,3 % K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>; 28,7 % H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) po standardnem postopku s pomočjo vakuuma, v skladu s standardom SIST EN 113 (1989 / SIST EN 113). Kontrolne vzorce smo impregnirali le z destilirano vodo. Vzorcem smo po impregnaciji gravimetrično določili vlažni navzem in jih nato pet tednov sušili, prva dva tedna v zaprtih, tretji teden v polzaprtih, četrti teden v odprtih petrijevkah in zadnji teden v sušilniku pri 75°C. Tako smo simulirali naravno sušenje in fiksacijo pripravka. Del kondicioniranih vzorcev smo nato izpirali v skladu s standardom SIST EN 84 (1994/SIST EN 84). Po končanem izpiranju smo vsem vzorcem določili absolutno suho maso ter jih pred izpostavitvijo glivam 40 min sterilizirali s paro pri tlaku 1,5 bara.

### **2.2 UGOTAVLJANJE PENETRACIJE HIF** **BAITING EXPERIMENT**

Penetracijo hif smo ugotavljali po postopku, ki ga je razvil Kleist s sodelavci. (2002). Cilj poskusa je ugotoviti, kdaj hife gliv prodrejo v sredino vzorcev. V vzorce smo v vzdolžni smeri zavrtali luknjo premera 3 in globine 20 mm, vanjo vstavili leseno palčko za vabo in odprtino zatesnili z epoksidnim debeloslojnim premazom (Epolor, Color), kot je prikazano na sliki 1. Po sterilizaciji smo vzorce izpostavili glivam. V določenih tedenskih presledkih smo vzorce izolirali in v sterilnih razmerah iz vzorcev odstranili palčko ter jo položili na sterilno hranilno gojišče (PDA, Difco). Naslednja dva tedna smo opazovali pojavnost hif. Če smo opazili, da so iz palčk vznikle hife, smo potrdili njihov prodor v centralni del vzorcev.



Slika 1: Skica vzorca za eksperiment z vabo

Figure 1: Scheme of the specimen for baiting experiment

### 2.3 IZPOSTAVITEV GLIVAM EXPOSURE TO THE FUNGI

Sterilne lesne vzorce smo vstavili v gojitvene kozarce s hranilnim gojiščem, preraslim z micelijem (krompirjev glukozni agar, PDA – Difco). Polagali smo jih na mrežico in s tem preprečili stik vzorcev z gojiščem. Uporabili smo naslednje izolate gliv rjave trohnobe: *Gloeophyllum trabeum* – tramovka (Gt2) (ZIM L017), *Antrodia vaillantii* – bela hišna goba (Pv2) (ZIM L037), *Poria monticola* – bela hišna goba (Pm2) (BAM 102) in *Leucogyrophana pinastris* (Yf) (HPT 595) (RASPOR *et al.* 1995). Izolata *A. vaillantii* in *L. pinastris* sta po naših predhodnih ugotovitvah tolerantna na baker (HUMAR / PETRIČ / POHLEVEN 2001, POHLEVEN *et al.* 2002). Vzorci so bili v rastni komori (25 °C, RH = 75 %) izpostavljeni razkroju od enega do 16 tednov. V določenih tedenskih presledkih smo vzorce odstranili z gojišča in jih uporabili za nadaljnje raziskave.

## 2.4 MERJENJE RESPIRACIJE

### RESPIRATION MEASUREMENTS

Po petih tednih izpostavitve smo z glivami preraščene vzorce pazljivo izolirali in jih vstavili v prazen eksperimentalni kozarec za merjenje koncentracije ogljikovega dioksida. Kozarce smo zaprli s posebnimi pokrovčki z ventili, tesnjenje pa izboljšali z uporabo silikonske paste (Silicon high vacuum, Merck). V zaprtih kozarcih smo najprej izmerili začetno, po eni uri pa še končno koncentracijo ogljikovega dioksida. Razlika med začetno in končno vrednostjo predstavlja količino nadihanega CO<sub>2</sub>. Koncentracijo ogljikovega dioksida smo merili z infrardečim detektorjem (0-3000 ppm; ±5 ppm) (ECHO d.o.o., Slovenia). Postopek merjenja je podrobneje opisan v citirani literaturi (TAVZES *et al.* 2002, HUMAR *et al.* v tisku).

## 3 REZULTATI IN RAZPRAVA

### RESULTS AND DISCUSSION

#### 3.1 IZGUBA MASE IMPREGNIRANIH VZORCEV

##### MASS LOSS OF THE IMPREGNATED SPECIMENS

Nobeden izmed uporabljenih izolatov gliv ni razkrojil vzorcev, zaščiteneh s pripravki CCB, kar so ugotovili že Pohleven in sodelavci (2001 in 2002). Tako pri vzorcih, izpostavljenih tolerantnim (Pv2, Yf) kot tudi pri vzorcih izpostavljenih netolerantnim glivam (Pm2, Gt2) je bila izmerjena izguba mase manjša od 2 % (tabela 1). Po drugi strani pa smo opazili statistično značilno višjo izgubo mase pri impregniranih vzorcih, ki so bili pred izpostavitvijo glivam izprani. Najbolj je razkrojil izprane vzorce na baker toleranten izolat bele hišne gobe (Pv2), ki je v 16 tednih v povprečju razkrojil 8,9 % mase vzorcev. Menimo, da je vzrok za takšno razliko v izpranem boru, ki je v neizpranih vzorcih prekril toleranco na baker. Peylo (1995) poroča, da se iz lesa, zaščitene s CCB, izpere kar 80 % izhodiščnega bora. Zaradi reakcij, ki potečejo med kromovimi spojinami, bakrovimi spojinami ter lesom, je izpiranje Cr in Cu bistveno manjše. Mazela (2000) navaja, da se izpere največ 2 % kromovih in bakrovih ionov. Kljub izpiranju zaščiteneh vzorcev in velikim količinam izpranega bora pa netolerantni glivi (Pm2, Gt2) nista povzročili pomembnejše izgube mase izpranih impregniranih vzorcev (tabela 1). Ta

rezultat nakazuje, da so po izpiranju preostale biocidne komponente v izpranih vzorcih, zaščitenih s CCB, še vedno učinkovite pred netolerantnimi izolati gliv, pred tolerantnimi pa niso več ustrezna zaščita.

Tabela 1: Povprečne izgube mas nezaščitenih smrekovih vzorcev (C), vzorcev, impregniranih s pripravkom CCB (CCB), ter izpranih impregniranih vzorcev (CCB-i) po izpostavitvi glivam rjave trohnobe za 16 tednov. V oklepajih so navedeni standardni odkloni.

Table 1: Average mass losses of Norway spruce wood samples: impregnated with CCB formulation (CCB) and afterwards leached (CCB-i) and control samples (C) exposed to different brown rot fungi for 16 weeks. Standard deviations are given in the parentheses.

| Gliva<br><i>Fungus</i> | Izguba mase / Mass loss [%] |           |           |
|------------------------|-----------------------------|-----------|-----------|
|                        | C                           | CCB       | CCB-i     |
| <i>A. vaillantii</i>   | 31,0 (1,8)                  | 1,8 (0,3) | 8,9 (0,9) |
| <i>L. pinastri</i>     | 20,3 (2,2)                  | 1,2 (0,3) | 2,4 (2,2) |
| <i>P. monticola</i>    | 47,2 (5,4)                  | 0,6 (0,2) | 0,0 (0,1) |
| <i>G. trabeum</i>      | 43,3 (2,5)                  | 1,4 (0,3) | 0,1 (0,0) |

### 3.2 KOLONIZACIJA LESNIH VZORCEV COLONIZATION OF THE SPECIMENS

Nezaščitene kontrolne vzorce je najhitreje okužila tramovka (Gt2), sledila pa ji je bela hišna goba (Pm2). Hife glive *G. trabeum* so že po enem tednu izpostavitve dosegle palčkovo v sredini večine neipregniranih vzorcev. Po dveh tednih izpostavitve so vse glive razen *L. pinastri* kolonizirale vse kontrolne vzorce (tabela 2). Pri glivi *L. pinastri* (Yf) smo popolno kolonizacijo vzorcev zasledili šele po treh tednih izpostavitve. Ti podatki se dobro ujemajo z izmerjeno respiracijo CO<sub>2</sub> in izgubami mas nezaščitenih vzorcev. Na baker netolerantna izolata *G. trabeum* in *P. monticola*, katerih hife so najhitreje dosegle palčko v sredini nezaščitenih vzorcev, sta po petih tednih izpostavitve tudi najbolj prerasli vzorce. Na intenzivnost procesa trohnenja lahko sklepamo iz velike produkcije CO<sub>2</sub>. Tramovka je v eni uri proizvedla kar 1127 ppm CO<sub>2</sub>, kar je skoraj še enkrat več kot na baker toleranten izolat *A. vaillantii* (560 ppm CO<sub>2</sub>/h) (tabela 3). Glive, ki so najhitreje in najintenzivnejše

kolonizirale nezaščitene vzorce, so v 16 tednih razkrojile tudi največji delež mase lesa. Na primer, na baker tolerantna gliva *L. pinastri*, ki je najpočasneje prerasla vzorce in je nadihala relativno malo ogljikovega dioksida, je v 16 tednih razkrojila le 20,3 % mase kontrolnih vzorcev. Ta vrednost je bistveno manjša od izgube mase, ki jo je povzročil na baker občutljivi izolat *P. monticola* (Pm2) (47,2 %) (tabeli 1 in 3).

Tabela 2: Deleži koloniziranih nezaščitanih smrekovih vzorcev (C), vzorcev, impregniranih s pripravkom CCB (CCB), ter izpranih impregniranih vzorcev (CCB-i) po izpostavitvi glivam rjave trohnobe za en, dva, pet, osem ali dvanajst tednov.

Table 2: Percentages of colonized untreated specimens (C) and CCB impregnated unleached (CCB) and leached specimens (CCB-i) exposed to the different fungi for one, two, five, eight and twelve weeks.

| Gliva<br>Fungus      | Delež koloniziranih vzorcev / Percentage of colonized specimens [%] |     |       |                   |     |       |                    |     |       |                    |     |       |                      |     |       |
|----------------------|---|-----|-------|-------------------|-----|-------|--------------------|-----|-------|--------------------|-----|-------|----------------------|-----|-------|
|                      | 1 teden / 1 week  |     |       | 2 tedna / 2 weeks |     |       | 5 tednov / 5 weeks |     |       | 8 tednov / 8 weeks |     |       | 12 tednov / 12 weeks |     |       |
|                      | C   | CCB | CCB-i | C                 | CCB | CCB-i | C                  | CCB | CCB-i | C                  | CCB | CCB-i | C                    | CCB | CCB-i |
| <i>A. vaillantii</i> | 0   | 0   | 0     | 100               | 0   | 0     | 100                | 0   | 33    | 100                | 0   | 66    | 100                  | 0   | 100   |
| <i>L. pinastri</i>   | 0   | 0   | 0     | 60                | 0   | 0     | 100                | 0   | 0     | 100                | 0   | 33    | 100                  | 0   | 100   |
| <i>P. monticola</i>  | 0   | 0   | 0     | 100               | 0   | 0     | 100                | 0   | 0     | 100                | 0   | 0     | 100                  | 0   | 0     |
| <i>G. trabeum</i>    | 66  | 0   | 0     | 100               | 0   | 0     | 100                | 0   | 0     | 100                | 0   | 0     | 100                  | 0   | 0     |

Po petih tednih izpostavitve na neizpranih zaščitanih vzorcih nismo zasledili znakov okužbe. To je dobro razvidno tako iz koncentracij CO<sub>2</sub> kot tudi iz eksperimenta z vabo. (tabeli 2 in 3) Neizprani vzorci so torej dobro zaščiteni pred tolerantnimi kot tudi netolerantnimi sevi gliv. Nekoliko se razlikuje le gliva *L. pinastri*. Na zaščitanih vzorcih, izpostavljenih tej tolerantni glivi, smo po petih tednih izpostavitve izmerili malo povišane koncentracije CO<sub>2</sub> (10 ppm CO<sub>2</sub>/h). Ta vrednost je približno šestdesetkrat manjša od koncentracij, izmerjenih na nezaščitanih vzorcih. Vendar tudi hife seva glive *L. pinastri* kot tudi hife drugih izolatov še po 12 tednih izpostavitve niso prodrle do vabe v sredini neizpranega zaščitene vzorca.

Na izpranih vzorcih smo lahko že s prostim očesom opazili, da sta tolerantna seva gliv (Pv2, Yf) že po dveh tednih izpostavitve prerasla zaščitene vzorce. Najbolj intenzivno rast micelija smo opazili pri vzorcih, izpostavljenih tolerantnemu izolatu *A. vaillantii*. S pomočjo merjenja respiracije smo ta opazovanja še ovrednotili. Gliva *A. vaillantii*, ki je



razkrajala izprane impregnirane vzorce, je v primerjavi s kontrolnimi vzorci tvorila le za tretjino manj ogljikovega dioksida. Po drugi strani pa je na baker občutljiva gliva *G. trabeum* med preraščanjem izpranih zaščitenih vzorcih tvorila stokrat manj CO<sub>2</sub> kot pri kontrolnih vzorcih. Najmanj intenzivno kolonizacijo izpranih zaščitenih vzorcev smo opazili pri vzorcih, izpostavljenih glivi *P. monticola* (tabela 3). Kljub temu da so tolerantne glive v celoti obrasle izprane zaščitene vzorce že po petih tednih izpostavitve, so prve hife glive *A. vaillantii* prodrle do palčke v sredini vzorcev šele po petih tednih. Tolerantna seva Pv2 in Yf sta s hifami prodrli do vabe v vseh izpranih impregniranih vzorcih šele dvanajst tednov po izpostavitvi (tabela 3). Ti rezultati nakazujejo, da tolerantni sevi gliv relativno lahko prerastejo površino impregniranih vzorcev, počasneje pa prodrejo v notranjost zaščitenih vzorcev. To lahko pojasnimo z distribucijo biocidov po izpiranju. Iz površine zaščitenih vzorcev se je zagotovo izpral večji delež aktivnih učinkovin kot iz globljih delov, kar se ujema z rezultati Dagarina (2003), ki opisuje, da je bila pred izpiranjem najvišja koncentracija biocidov na površini vzorcev, po izpiranju pa je najvišjo koncentracijo ugotovil približno 1 mm pod površino.

Tabela 3: Respiracija pri okuženih nezaščitenih smrekovih vzorcih (C), vzorcih, impregniranih s pripravkom CCB (CCB), ter pri izpranih impregniranih vzorcih (CCB-i) po izpostavitvi glivam rjave trohnoobe za pet tednov.

Table 3: Respiration at infested unimpregnated wood samples (C) and CCB impregnated unleached (CCB) and leached specimens (CCB-i) exposed to different fungi for five weeks.

| Gliva / Fungus       | Respiracija / Respiration [ppm CO <sub>2</sub> /h] |     |       |
|----------------------|--|-----|-------|
|                      | C  | CCB | CCB-i |
| <i>A. vaillantii</i> | 560  | 0*  | 357   |
| <i>L. pinastri</i>   | 662  | 10  | 157   |
| <i>G. trabeum</i>    | 1127   | 0*  | 10    |
| <i>P. monticola</i>  | 1031   | 0*  | 0*    |

\* Pod mejo detekcije / Below detection limit

Menimo, da so vzroki za večjo dovzetnost izpranih zaščitenih vzorcev v koncentraciji bora, ki je pri neizpranih vzorcih dodatno deloval tudi kot fungicid. Po izpiranju je v lesu ostala zadostna količina bakra za zaščito lesa pred glivami, netolerantnimi na baker. Preostale komponente pa za zaščito lesa pred tolerantnimi glivami niso bile učinkovite.

#### 4 ZAKLJUČKI CONCLUSIONS

Bor ima v lesu, zaščitenem s pripravki CCB, velik vpliv na dovzetnost okužbe s sevi gliv, tolerantnimi na baker. Na neizpranih vzorcih, zaščitenih s pripravki CCB, po petih tednih izpostavitve glivam skoraj ni bilo opaziti posledic okužbe z glivami rjave trohnobe. Po drugi strani pa smo po petih tednih izpostavitve izpranih impregniranih vzorcev opazili, da sta tolerantni glivi *A. vaillantii* in *L. pinastri* prerasli in razkrojili vzorce skoraj tako intenzivno kot nezaščiteni kontrolni vzorce. Vendar pa sta izolata potrebovala veliko več časa, da sta kolonizirala celoten volumen impregniranih vzorcev. Vzrok za opisano večjo dovzetnost izpranih zaščitenih vzorcev na okužbo s tolerantnimi glivami je zagotovo izpiranje borovih biocidov iz lesa. Med postopkom izpiranja se je iz vzorcev izlužil znaten delež bora, ki je pri neizpranih vzorcih rabil tudi kot sekundarni fungicid. Po izpiranju pa so v lesu še vedno ostale zadostne količine biocidnih komponent za zaščito lesa pred glivami, netolerantnimi na baker.

#### 5 SUMMARY

*In many countries worldwide, including Slovenia, where CCA has been forbidden for almost 20 years, CCB is being used as a suitable alternative. We believe, however, that there is an important knowledge gap regarding the CCB treated wood: leaching of boron and its influence on the resistance against copper tolerant and copper sensitive fungal strains. Fungal tolerance to copper was found to be closely related to oxalic acid excretion by wood rotting fungi, which reacts with copper in wood to form an insoluble copper oxalate. It has been stated that copper has to be soluble to have a fungicidal effect. However, copper oxalate is insoluble and therefore has no such effect.*

*Some copper tolerant fungal strains on CCB impregnated Norway spruce samples did not exhibit tolerance in laboratory tests. We presumed that the reason for this observation could be the presence of boron in the unleached impregnated wood. Boron has been shown to leach out from CCB impregnated wood in use. The main objective of this work was to elucidate the influence of boron leaching from CCB preserved wood samples on wood decay and colonization by a number of brown rot fungi.*

*In order to elucidate this presumption, three different experiments were performed: EN 113, respiration measurements after five weeks of incubation, and baiting experiments,*

where the ability of hyphae to penetrate into the center were studied. For these experiments, samples were impregnated with 5 % CCB solution. They were then conditioned and approximately half of them were leached according to the EN 84 procedure. Eventually they were exposed to four brown rot fungal strain, tolerant to copper (*Antrodia vaillantii*, *Leucogyrophana pinastri*) and sensitive to copper (*Poria monticola*, *Gloeophyllum trabeum*). After certain period of exposure, the samples were isolated and used for respective experiments.

Boron in CCB preserved wood has been found to influence the colonization of wood by fungal strains. After five weeks of exposure, virtually no growth was observed on unleached CCB impregnated samples exposed to brown rot fungi. On the other hand, five-weeks was enough for the copper tolerant fungi (*A. vaillantii* and *L. pinastri*) to overgrow the surface of the CCB impregnated leached specimens, but not enough for the fungal hyphae to penetrate the center of all the specimens. Furthermore, these results show that after leaching of the CCB treated wood, the wood becomes susceptible to decay by the copper tolerant strains but not the copper sensitive species, most likely because of the decreased boron concentrations as a consequence of leaching.

## 6 VIRI REFERENCES

- DAGARIN, F., 2003. Interakcije amoniakalnega bakrovega(II) oktanoata s komponentami lesa, proučevane z EPR spektroskopijo. Doktorska disertacija, Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo, 150 s.
- 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.
- HUMAR, M. / POHLEVEN, F. / AMARTEY, S. / KALAN, P., 2002a. Translokacija bakra iz zaščitenega lesa, izpostavljenega glivam razkrojevalkam lesa. = Copper translocation from preserved wood exposed to wood decay fungi. *Zbornik gozdarstva in lesarstva* 67: 159-171.
- HUMAR, M. / PETRIČ, M. / POHLEVEN, F. / ŠENTJURČ, M. / KALAN, P., 2002b. Changes of copper EPR spectra during exposure to wood rotting fungi. *Holzforschung* 56: 229-238.
- HUMAR, M. / POHLEVEN, F. / ŠENTJURČ, M., in press. Effect of oxalic, acetic acid and ammonia on leaching of Cr and Cu from preserved wood. *Wood Science and Technology*, v tisku

- KLEIST, G. / MORRIS, I. / MURPHY, R., 2002. Invasion and colonisation of bamboo culm material by stain and decay fungi. IRG/WP 02-10453, 10 s.
- MAZELA, B., 2000. Estimation of leachability of copper and chromium compounds from wood impregnated with CCB and CB preservatives. Drevarsky vyskum 45: 33-42.
- PEYLO, A. / WILLEITNER, H., 1996. Probleme mit Bor bei der Aussenverwendung. Holz-Zentralblatt 122: 15, 23.
- PEYLO, A., 1995. Auswaschung von Boraten aus chemisch geschütztem Holz. Hamburg, PhD Dissertation, 144 s.
- POHLEVEN, F. / HUMAR, M. / AMARTEY, S. / BENEDIK, J. 2002. Tolerance of Wood Decay Fungi to Commercial Copper Based Wood Preservatives. IRG/WP 02-30291, 12 s.
- POHLEVEN, F. / MALNARIČ, A. / HUMAR, M. / TAVZES, Č., 2001. Copper Tolerance of various *Antrodia vaillantii* isolates. IRG/WP 01-10406, 8 s.
- RASPOR, P. / SMOLE-MOŽINA, S. / PODJAVORŠEK, J. / POHLEVEN, F. / GOGALA, N. / NEKREP, F.V. / ROGELJ, I. / HACIN, J., 1995. ZIM: zbirka industrijskih mikroorganizmov. Katalog biokultur; Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Katedra za biotehnologijo, 98 s.
- RICHARDSON, H.W., 1997. Handbook of copper compounds and applications. New York, M. Dekker, s. 93-122.
- SHARP, R.F. 1975. The interactions of fungi, wood preservative and wood. The movement of copper by hyphae as observed with a model technique. Wood science and technology 9: 99-111.
- SIST EN 113, 1989. Zaščitna sredstva za les – Določanje meje učinkovitosti proti glivam odprtotrosnicam. Brussels, 14 s.
- SIST EN 84, 1994. Zaščitna sredstva za les – Umetno pospešeno staranje zaščitnega lesa pred biološkimi testiranjmi – Izpiranje. Brussels, 16 s.
- TAVZES, C. / POHLEVEN, J. / POHLEVEN, F. / KOESTLER, R.J., 2002. Anoxic eradication of fungi in wooden objects. Art, biology, and conservation: biodeterioration of works of art: New York, The Metropolitan museum of art, s. 116-117.
- TSUNODA, K. / NAGASHIMA, K. / TAKAHASHI, M., 1997. High tolerance of wood-destroying brown-rot fungi to copper-based fungicides. Material und Organismen 31: 31-44.