

GDK 844.2 : 176.1 *Fagus sylvatica* L.

SUKCESIJA IN INTERAKCIJA GLIV POVZROČITELJIC PIRAVOSTI BUKOVINE

Nataša VESEL TRATNIK* , Franci POHLEVEN**

Izvleček

Članek obravnava sukcesijo in interakcijo med tremi glivami, povzročiteljicami piravosti, pahljačico (*Schizophyllum commune*), škrlatnordečo slojevko (*Chondrostereum purpureum*) in ogljeno kroglico (*Hypoxylon fragiforme*). Vzorce bukovega lesa smo izpostavili dvema in trem glivam v različnem časovnem zaporedju. Z izgubo mase lesa smo določili, kako različne kombinacije izpostavitve gliv vplivajo na razkroj lesa.

Največjo izgubo mase lesnih vzorcev je primarno povzročila ogljena kroglica, ne glede na število in kombinacijo gliv, ki so ji sledile.

Zelo izrazita interakcija se je pojavila med pahljačico in ogljeno kroglico, ki se je na lesu odrazila kot neenakomeren razkroj. Področja različnih stopenj razkroja so bila obrobljena s temnimi črtami. Interakcija med škrlatnordečo slojevko in ogljeno kroglico pa je povzročila izločanje metabolitov turkizne barve, ki so obarvali micelij in les.

Ključne besede: sukcesija, interakcija, glive bele trohnobe, bukovina, izguba mase

SUCCESSION AND INTERACTION OF WHITE ROT FUNGI ON BEECH WOOD

Abstract

The article deals with the succession and interaction of three fungi which most frequently cause white rot on beech wood: *Schizophyllum commune*, *Chondrostereum purpureum* and *Hypoxylon fragiforme*. The loss of weight was measured after the test specimens had been exposed to different combinations of the fungi for one, two and three months.

The results of the tests have shown that the greatest decay was caused by *Hypoxylon fragiforme* regardless of the number and the strain of the fungi that followed.

The most particular interaction occurred between *Hypoxylon fragiforme* and *Schizophyllum commune* and appeared as unequal wood decay. In the interaction between *Hypoxylon fragiforme* and *Chondrostereum purpureum* the medium and the wood were coloured turquoise blue.

Key words: succession, interactions, white rot fungi, beech wood, weight loss

*Mag. dipl. ing. les., Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo, 61000 Ljubljana, Rožna dolina, c. VIII/34, SLO

**Prof. dr., prof. biol., Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo, 61000 Ljubljana, Rožna dolina, c. VIII/34, SLO

KAZALO

1	UVOD	165
2	SUKCESIJA GLIV POVZROČITELJIC PIRAVOSTI	165
3	SINERGISTIČNO IN ANTAGONISTIČNO DELOVANJE MED GLIVAMI POVZROČITELJICAMI PIRAVOSTI	167
4	MATERIAL IN METODE	168
4.1	UGOTAVLJANJE RAZGRADNJE LESA POD VPLIVOM GLIV POVZROČITELJIC PIRAVOSTI	168
5	REZULTATI IN RAZPRAVA	169
5.1	IZGUBA MASE VZORCEV POD VPLIVOM GLIV POVZROČITELJIC PIRAVOSTI	169
5.2	INTERAKCIJE MED GLIVAMI.....	172
6	POVZETEK	173
	SUMMARY	174
	VIRI	175

1 UVOD

Pri bukvi se pojavlja netipična bela trohnoba, imenovana piravost. Bukovino hkrati okuži več vrst gliv, le-te pa delujejo sukcesivno, to je v določenem časovnem zaporedju. Med njimi zato prihaja do tekmovanja za prostor in hrano in s tem do medsebojnega delovanja ali interakcij.

Sukcesija mikroorganizmov in njihova interakcija je zelo usklajen proces. V začetku razkroja ima pomembno vlogo vlažnost lesa in relativna zračna vlaga. Nadaljnji potek razgradnje lesa pa je odvisen predvsem od hitrosti degradacije hranilnih snovi in interakcij med glivami.

2 SUKCESIJA GLIV POVZROČITELJIC PIRAVOSTI

Okužba in zaporedje naselitve gliv (sukcesija) je odvisna od vzroka poškodbe drevesa, od mikroorganizmov, ki so jim poškodovana drevesa izpostavljena, in, nenazadnje, od hitrosti sušenja lesa skozi te poškodbe (Käärik 1975).

Drevesa, napadena z insekti ali poškodovana zaradi požara ter vetroloma, se okužijo najprej s kvasovkami, sledijo jim nekatere modrivke iz rodov *Ceratocystis* (*Ceratocystis bicolor*), *Verticicladiella*, *Ambrosiella* in druge glive, ki ne povzročajo pravega razkroja lesa, kot sta *Cephalosporium* spp. in *Dipodascus* spp.. Po enem letu do dveh na drevesih, napadenih z insekti, prej omenjene glive izginejo, njihovo mesto pa naselijo prave razkrojevalke lesa *Polyporus abietinus*, *Stereum* spp. in *Peniophora gigantea* (Deacon 1984). Pri drevesih, ki jih je poškodoval požar, pa se to zgodi po treh do štirih letih.

Na svežih ranah vitalnih dreves in sveže posekani bukovi hlodovini se najprej pojavijo bakterije in primarne saprofitske glive, ki povzročajo površinsko obarvanje lesa. Te glive iz parenhimskih celic porabijo enostavne sladkorje in druge ogljikove hidrate. Med najbolj pogostimi sta glivi *Cladosporium herbarum* in *Bispora monilioides*, ki se pojavljata na čelu bukovih hlodov. Glive s svojimi

encimi (saharazo, celulozo in oksidazo) spremenijo pH lesa na vrednosti, ki so ugodnejše za okužbo z glivami povzročiteljicami globinskega obarvanja lesa, v manjši meri pa razgrajujejo tudi celulozo (Manion 1981). Za njimi se na bukovini pojavijo prave razkrojevalke lesa, ki se razvijajo in razkrajajo notranji, jedrovinski del hloda. Najpogosteje so bile identificirane glive *Chondrostereum purpureum*, *Ganoderma applanatum*, *Tramella faginea* in še nekatere druge. Ob teh pa se na hlodovini pojavijo tudi nove razkrojevalke lesa, npr. *Schizophyllum commune*, *Hypoxylon fragiforme* in druge (Rayner 1978). Na koncu procesa razgradnje se na les naselijo še glive sluzavke.

Obširne raziskave Siepmanna (1973), ki je opazoval bukovo hlodovino, skladiščeno v gozdu v obdobju enega do treh let, so pokazale, da se prvi pojavijo trosnjaki škrlatnordeče slojevke (*Chondrostereum purpureum*) in ogljene kroglice (*Hypoxylon fragiforme*), kasneje pa pahljačice (*Schizophyllum commune*) in dlakave slojevke (*Stereum hirsutum*). Podobno zaporedje pojavljanja plodišč na bukovi hlodovini omenjata tudi Rayner in Boddy (1988), kar pa ne pomeni, da v takem zaporedju les tudi okužijo. Znano je, da nekatere glive tvorijo plodišča prej, nekatere kasneje. Na tvorbo plodišč vplivajo klimatski pogoji, encimska sposobnost posameznih gliv in vrstna specifičnost. Izolacija in identifikacija razgrajenega bukovega lesa je pokazala, da se prej omenjene glive pojavljajo istočasno (Rayner Todd 1979).

Sukcesija gliv na lesu, ki je v stiku z zemljo (PTT in elektro drogovi, železniški pragovi), pa je nekoliko drugačna. Raziskave na drogovih kažejo, da se z modrivkami in plesnimi okuži les nad zemljo, z glivami, ki povzročajo mehko trohno ("soft rot"), ter pravimi razkrojevalkami pa les vgrajen v zemljo. Večina izoliranih gliv povzroča le površinska obarvanja, manj kot polovica jih lahko prodre do globine 5 mm, le tri vrste do globine 25 mm in dve vrsti do globine 45 mm. Prave razkrojevalke lesa pa prodirajo še globlje.

3 SINERGISTIČNO IN ANTAGONISTIČNO DELOVANJE MED GLIVAMI POVZROČITELJICAMI PIRAVOSTI

V procesu sukcesije imajo pomembno vlogo medsebojni vplivi oz. interakcija med glivami. Med seboj delujejo v različnih oblikah, kot so: tvorba inhibicijskih con, omejevanje rasti določene glive, preraščanje vitalnejšega micelija nad manj vitalnim in vzajemno delovanje ali sinergizem. Do tega pride pri določeni kombinaciji in zaporedju delovanja različnih gliv. Posledica je močan razkroj lesa. Sinergizem je mogoč na dveh ravneh, na ravni hranilnih snovi in na ravni encimov. V prvem primeru ena od gob, ki se pojavljajo istočasno na istem prostoru, s svojim načinom razgradnje lesa preskrbi drugi glivi snovi, zaradi katerih lahko ta gliva deluje bolj agresivno (npr. bakterije proizvedejo tiamin, brez katerega prva gliva ne raste ali pa je njena rast upočasnjena). V drugem primeru pa lahko šele mešanica encimov obeh gliv pospeši razkroj, ki je zato večji, kot če bi delovali glivi posamezno (Hulme Shields 1975).

Pogosta je tudi interakcija v negativnem smislu, ko si glive otežujejo razkroj. V tem primeru govorimo o antagonizmu zaradi tekmovanja ali kompeticije. Gre za tekmo med micelijami različnih gliv ali različnimi izolati iste vrste glive za substrat. Uspejo tiste, ki hitro in učinkovito tvorijo encime, so zmožne tvoriti toksične snovi in imajo visoko toleranco na antibiotike oz. na snovi, ki jih izločajo druge glive. Zaradi antagonizma je razkroj lesa vedno manjši (Vesel Tratnik 1994).

4 MATERIAL IN METODE

4.1 UGOTAVLJANJE RAZGRADNJE LESA POD VPLIVOM GLIV POVZROČITELJIC PIRAVOSTI

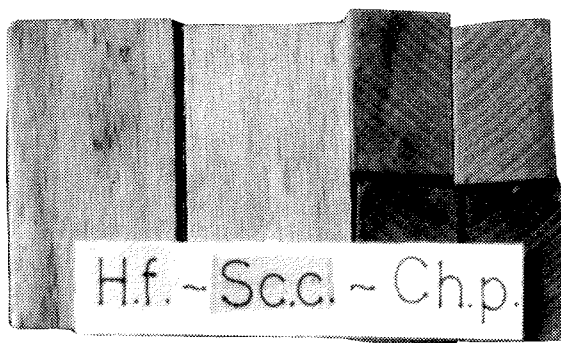
Pri piravosti so prav interakcije med glivami pomemben dejavnik, od katerega je močno odvisna stopnja razkroja lesa (Pohleven, Vesel, Tratnik 1993).

V raziskavi smo bukove vzorce izpostavili trem glivam povzročiteljicam piravosti in to pahljačici (*Schizophyllum commune* Fr. ex Fr.), škrlatnordeči slojevki (*Chondrostereum purpureum* (Pers. ex Fr.) Puosar) in ogljeni kroglici (*Hypoxylon fragiforme* (Pers. ex Fr.) Kickx.) v različnem zaporedju po dva ali tri mesece ter poskušali preko izgube lesne mase določiti stopnjo razkroja lesa. Osnova za to metodo je bil evropski standard EN 113: Bestimmung der Grenze der Wirksamkeit gegenüber holzzerstörenden Basidiomyceten die auf Agar Geuchtet Werden, ki smo ga za naš poskus ustrezno modificirali. Vzorci so bili iz zračno suhega bukovega lesa. Dimenzije in orientiranost vzorcev ustreza zgoraj omenjenemu standardu. V Kollejeve steklenice s hranilno podlago (sladni agar) smo v sterilnih pogojih vstavili po dva vzorca. Pred tem smo jih absolutno posušili do konstantne teže in stehali. Po štirih tednih smo jih v sterilnih pogojih predstavili na medij, preraščen z ustrezno kulturo glive. Micelija predhodne glive nismo odstranili z vzorca, vzorcev tudi nismo obžigali. Nekatere vzorce smo po štirih tednih ponovno predstavljali. Potem, ko so glive nehale delovati, smo vzorce vzeli iz Kollejevih steklenic, jih očistili, absolutno posušili do konstantne teže in stehali. Iz razlike v masi smo ugotovili razkroj, ki ga povzročajo glive v različnih zaporedjih.

5 REZULTATI IN RAZPRAVA

5.1 IZGUBA MASE VZORCEV POD VPLIVOM GLIV POVZROČITELJIC PIRAVOSTI

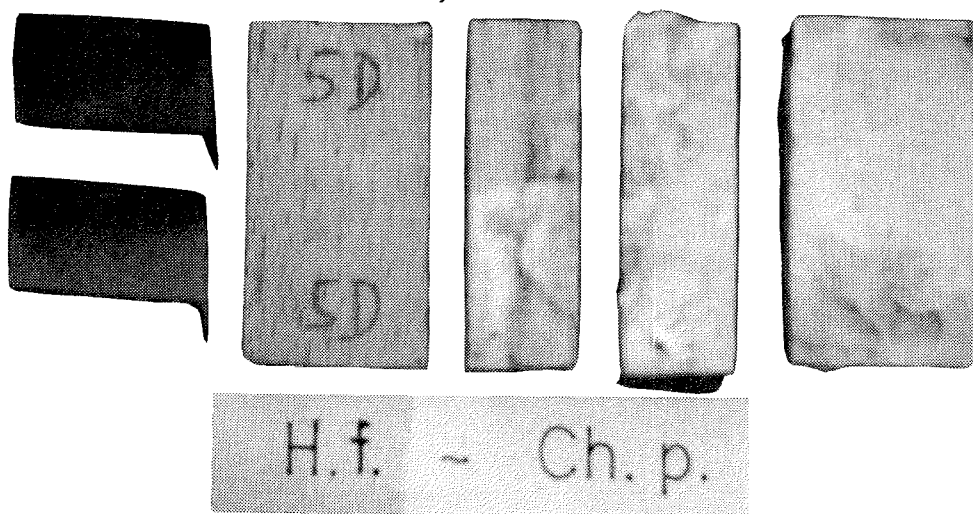
Največjo izgubo mase (26.8 %) so glive v treh mesecih povzročile v zaporedju ogljena kroglica - pahljačica - škrlatnordeča slojevka. Ker vzorcev pri vsakokratnem prestavljanju nismo sterilizirali, ne moremo z gotovostjo napovedati, kakšen delež v celotnem razkroju ima posamezna gliva. Vzorci lesa so bili po poskusu neenakomerno razkrojeni (Slika 1). Močno so bile izražene temne črte med predeli z različno stopnjo razkroja, kar je značilno za piravost. Pisanost lesa in črne črte nastanejo zaradi interakcije med micelijem ogljene kroglice in pahljačice. Petrović (1969) je osem mesecev po inokulaciji hloda s pahljačico opazil enak pojav na površini lesa. Izolacija pisanega lesa je poleg pahljačice dokazala še prisotnost glive *Hypoxylon granulatum*.



Slika 1: Vzorci lesa, izpostavljeni prvi mesec ogljeni kroglici, drugi mesec škrlatnordeči slojevki in tretji mesec pahljačici (Foto: N. Vesel Tratnik)

Figure 1: Beech wood specimens exposed to Hypoxylon fragiforme, Chondrostereum purpureum and Schizophyllum commune the first, the second and the third month respectively

Ko pa smo z micelijem ogljene kroglice okužene vzorce izpostavili najprej škrlatnordeči slojevki in šele nato pahljačici, je bila razgradnja lesa nekoliko manjša (25,8 % izguba mase lesa). Na vzorcih se (pred prestavljanjem na medij, preraščen s pahljačico) ob ostanku micelija ogljene kroglice vidi zeleno obarvan micelij (Slika 2), kar je posledica izločanja metabolitov. Turkizno zeleno obarvanje micelija omenja tudi Rayner (1978), vendar pri medsebojnem delovanju škrlatnordeče slojevke in pisane ploskocevke. V našem primeru domnevamo, da gre za izločanje metabolitov ogljene kroglice, ki inhibirajo rast škrlatnordeče slojevke. Rayner in Boddy (1988) ter Rayner (1978) navajajo škrlatnordečo slojevko kot občutljivo glivo, saj jo ob stiku druga gliva preraste na umetni podlagi in na lesu. Zaporedje gliv ogljena kroglica - škrlatnordeča slojevka - pahljačica povzroča manjši razkroj lesa, kar si lahko razložimo prav s prenehanjem rasti škrlatnordeče slojevke.

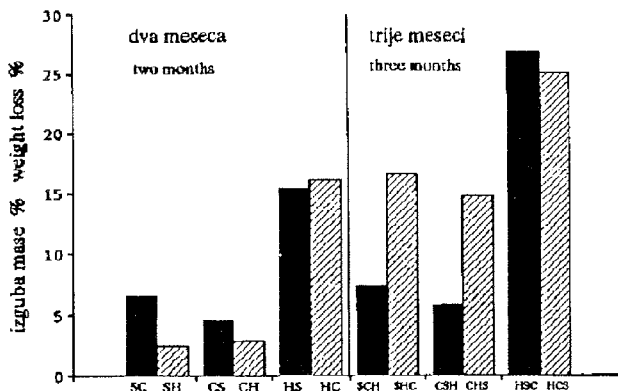


Slika 2: Vzorci lesa, izpostavljeni prvi mesec ogljeni kroglici, drugi mesec pa škrlatnordeči slojevki (Foto: N. Vesel Tratnik)

Figure 2: Beech wood specimens exposed to *Hypoxylon fragiforme* and *Chondrostereum purpureum* the first and the second month respectively

Kombinacija delovanja gliv škrlatnordeča slojevka-ogljena kroglica-pahljačica je povzročila 14,7 % izgubo lesne mase, kombinacija škrlatnordeča slojevka - pahljačica - ogljena kroglica pa samo 5,7 % izgubo mase.

Razkroj je bil podoben, ko smo vzorce izpostavili najprej pahljačici, nato ogljeni kroglici in slednje škrlatnordeči slojevki. Izguba mase je znašala 16,5 %. Če pa smo zamenjali drugo in tretjo glivo, je bil razkroj v treh mesecih le 7,3 % (Slika 3).



Slika 3: Stopnja razkroja vzorcev, izpostavljenih dva in tri mesece glivam v kombinaciji po dve ali tri glive (S-pahljačica, C-škrlatnordeča slojevka, H-ogljena kroglica)

Figure 3: Effect of various combinations of fungi on weight loss over a period of one, two, and three months (S-Schizophyllum commune, C-Chondrostereum purpureum, H-Hypoxylon fragiforme)

Podobne zaključke dobimo, če lesne vzorce izpostavimo kombinaciji delovanja le dveh gliv.

Če na vzorce delujeta pahljačica in ogljena kroglica, se pojavi pisana površina lesa in temne črte. Stopnja razkroja lesa se pri omenjenih zaporedjih močno razlikuje. Ko za pahljačico prestavimo vzorce na ogljeno kroglico, je izguba mase lese le 2.4 %, če pa vrstni red delujočih gliv zamenjamo in na vzorce najprej deluje ogljena kroglica, je izguba lesne mase kar šestkrat večja (15.3 %).

Do podobne razlike v razkroju pride tudi v kombinaciji škrlatnordeča slojevka in ogljena kroglica. Ko deluje na vzorce prva ogljena kroglica, je razkroj 16.0 %, če

pa deluje najprej škrlatnordeča slojevka, se masa lesa zmanjša samo za 2.8 % glede na začetno maso vzorcev.

Če deluje ogljena kroglica kot druga gliva, ne pride do izraza njeno agresivno delovanje, kar lahko pomeni, da ogljena kroglica poprej z drugo glivo razkrojenega lesa ni sposobna še bolj razkrojiti. Razgradni procesi so verjetno posledica delovanja prve glive, ali pa je zaradi spremenjenih pogojev v lesu (vlaga, topne hranilne snovi) delovanje ogljene kroglice upočasnjeno oz. inhibirano.

Če ogljena kroglica na vzorce deluje kot prva ali celo druga, v primerih, ko na vzorce delujejo vse tri glive, pride do sinergizma ali usklajenega delovanja med glivami. Nekoliko manjši je učinek, ko deluje ogljena kroglica druga (Slika 3). Iz tega lahko sklepamo, da ima ogljena kroglica pomembno vlogo prav v začetni fazi razkroja bukovega lesa, v primeru, da so na les že poprej delovale druge glive, pa je njeno delovanje moteno ali onemogočeno.

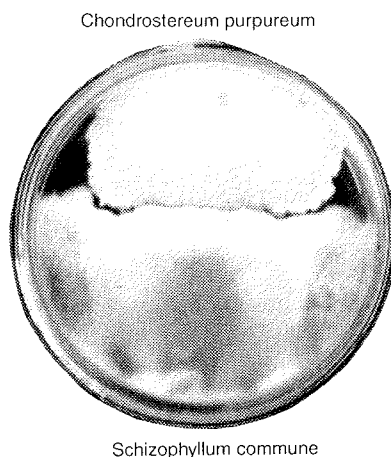
5.2 INTERAKCIJE MED GLIVAMI

Poleg razlike v izgubi mase lesa so med poskusom glive tudi vidno delovale med seboj. Najbolj značilna je interakcija med glivama *Schizophyllum commune* in *Chondrostereum purpureum*, ki se na umetni podlagi kaže kot tvorba inhibicijske cone (Slika 4). Ob stiku teh dveh gliv škrlatnordeča slojevka preneha rasti. Na lesu se interakcija kaže kot pisanost lesa z različnimi področji razkrojnih stopenj. Področja obdajajo temne črte, ki jih tvori podgobje z značilnimi nabrekliimi hifami (Slika 1).

Med škrlatnordečo slojevko in ogljeno kroglico se micelij in les turkizno obarvata (Slika 2).

Rezultati raziskave kažejo, da bi bili škrlatnordeča slojevka in pahljačica lahko dobra antagonista ogljeni kroglici. Opazili smo tvorbo metabolitov v kombinaciji

s škrlatnordečo slojevko. Metabolite bi lahko uspešno uporabili kot naravno kemično sredstvo v zaščiti lesa pred okužbo z glivami.



Slika 4: Medsebojno delovanje škrlatnordeče slojevke in ogljene kroglice (Foto: N. Vesel Tratnik)

Figure 4: Interaction between *Chondrostereum purpureum* and *Schizophyllum commune*

6 POVZETEK

Članek obravnava sukcesijo in interakcijo med tremi glivami povzročiteljicami piravosti pahljačico (*Schizophyllum commune*), škrlatnordečo slojevko (*Chondrostereum purpureum*) in ogljeno kroglico (*Hypoxylon fragiforme*). Vzorce bukovega lesa smo izpostavili dvema in trem glivam v različnem časovnem zaporedju. Z izgubo mase lesa smo določili, kako različne kombinacije gliv vplivajo na razkroj lesa.

Raziskava je pokazala, da je za razkroj lesa zelo pomembno zaporedje delovanja gliv oz. sukcesija in njihovo medsebojno delovanje. Največji razkroj lesa povzroča ogljena kroglica, ko deluje na lesne vzorce prva, ne glede na kasnejšo izpostavitve vzorcev drugim glivam. Med ogljeno kroglico in ostalima dvema glivama je v različnem zaporedju prišlo do vzajemnega delovanja ali

sinergizma. Kot primarna ogljena kroglica s svojimi encimi močno razgradi celično steno in jo tako pripravi za nadaljnji razkroj z drugimi glivami. Če pa je ogljena kroglica delovala zadnja, je prišlo do antagonističnega učinka in zato tudi do desetkrat manjšega razkroja. Škrlatnordeča slojevka in pahljačica sta slabi razkrojevalki lesa, obenem pa ogljeni kroglici onemogočita agresivno delovanje, če delujeta pred njo.

Intenzivno interakcijo smo opazili med pahljačico in ogljeno kroglico. Posledica so bili neenakomerno razkrojeni vzorci lesa. Med škrlatnordečo slojevko in ogljeno kroglico pa so se izločali metaboliti, ki so turkizno obarvali kulturo micelija in les.

Nova spoznanja na področju sukcesije in interakcije med glivami povzročiteljicami piravosti so osnova za nadaljnje raziskave predvsem v smer iskanja glivnih metabolitov, ki bi fungicidno delovali na lesne glive.

SUMMARY

The article deals with the succession and interactions of three fungi which most frequently cause white rot on beech wood: *Schizophyllum commune*, *Chondrostereum purpureum* and *Hypoxylon fragiforme*. The loss of weight was measured after the test specimens had been exposed to different combinations of fungi for one, two and three months.

The results of the tests have shown that the degree of wood decomposition depends on the interaction between the fungi as well as on the succession of their exposure to other fungi.

The greatest decay was caused by *Hypoxylon fragiforme* regardless of the number and the strain of the fungi that followed.

Between the different combinations of *Hypoxylon fragiforme* and the other two fungi the synergetic effect occurred. Our results also show that *Hypoxylon fragiforme* causes specific zone lines in beech and plays an important role in the initial phase of wood decomposition. Enzyme activities prepare wood to be infected by the other sorts of fungi.

When *Hypoxylon fragiforme* was the last fungus to act an antagonistic effect was observed and the loss of weight was ten times as low as when this fungus was the first to act. *Schizophyllum commune* and *Chondrostereum purpureum* are weak destroyers.

The most visible interaction occurred between *Hypoxylon fragiforme* and *Schizophyllum commune* appearing as unequal wood decay. In the interaction between *Hypoxylon fragiforme* and *Chondrostereum purpureum* the medium and the wood were coloured turquoise blue.

The new knowledge on the succession and interactions of the white rot fungi creates the basis for further studying of fungal metabolites.

VIRI

- DEACON, J. W. (1984) : Introduction to moderne mycology. Basic microbiology, Blackwell scientific publications, 2nd edition, London, 239 s.
- HULME, M. A. / SHIELDS, J. K. (1975): Antagonistic and synergistic effects for biological control of decay. V: Biological Transformation of wood by microorganisms, Springer - Verlag, Berlin, s. 54 - 63
- KÄÄRIK, A. (1975): Succession of microorganisms during wood decay. V: Biological Transformation of wood by microorganisms, Springer - Verlag, Berlin, s. 39 - 51
- PETROVIĆ, M. (1969): Doprinos poznavanju morfologije i biologije *Hypoxylon granulosum* Bull. narodni šumar, 23, 8-9, s. 429 - 444

- POHLEVEN, F. / VESEL TRATNIK, N. (1993): The interaction of white rot fungi during wood decay. The international research group on wood preservation, IRG/WP 93-60016
- RAYNER, A. D. M. (1978): Interaction between fungi colonising hardwood stumps and their possible role in determining patterns of colonisation and succession. *Annals of Applied Biology*, 89, 1, s. 131 - 134
- RAYNER, A. D. M. / TODD, N. K. (1979) : Population and community structure and dynamics of fungi in decaying wood. *Adv. Bot. Res.*, 7, s. 23 - 54
- RAYNER, A. D. M. / BODDY, L. (1988) : Fungal decomposition of wood, its biology and ecology. Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore, John Wiley and Sons, 587 s.
- VESEL TRATNIK, N. (1994) : Interakcija in encimska aktivnost gliv pri piravosti bukovine. Magistrsko delo, Ljubljana, 161 s.