

GDK: 844.41(045)=163.6

Prispelo / Received: 05. 07. 2009

Sprejeto / Accepted: 23. 12. 2009

Kratek znanstveni prispevek

Short communication

MINIMALNE FUNGICIDNE IN FUNGISTATIČNE KONCENTRACIJE BOROVIH UČINKOVIN ZA KURATIVNO ZAŠČITO LESA

Boštjan LESAR¹, Miha HUMAR²

Izvleček

V raziskavi smo določili minimalno fungicidno mejno vrednost borove kisline in bakrovega sulfata pentahidrata za tri glive rjave (*Gloeophyllum trabeum*, *Serpula lacrymans* in *Antrodia vaillantii*) in tri glive bele trohnobe (*Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus* in *Hypoxylon fragiforme*). Kurativno učinkovitost smo določali tako, da smo okužene smrekove in bukove lesne vzorce za 10 min potopili v vodno raztopino bakrovih oziroma borovih učinkovin. Zatem smo jih postavili na sterilno hranilno gojišče in opazovali preraščanje. Rezultati kažejo, da so borove učinkovine boljši fungicidi kot bakrove spojine. Minimalna inhibitorna koncentracija borove kisline v lesu za kurativno zaščito je približno petkrat višja od mejne inhibitorne koncentracije za preventivno zaščito.

Ključne besede: bakrove spojine, borove spojine, glive razkrojevalke lesa, kurativna zaščita lesa

MINIMAL FUNGICIDAL AND FUNGISTATIC CONCENTRATIONS OF BORON COMPOUNDS FOR WOOD REMEDIATION

Abstract

Minimal remedial fungicidal concentrations of boric acid and copper sulphate pentahydrate for three brown (*Gloeophyllum trabeum*, *Serpula lacrymans* and *Antrodia vaillantii*) and three white rot (*Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus* and *Hypoxylon fragiforme*) fungi were determined. Remedial efficacy was determined on infested spruce and beech wood specimens, which were immersed into selected copper- or boron-based preservative solutions for ten minutes. The treated specimens were transferred to nutrient medium and fungal growth was monitored. The results showed that boron compounds were better fungicides than the copper ones. Furthermore, minimal remedial boron fungicidal concentration is approximately five times higher, than the preventive minimal inhibitory concentration.

Key words: copper compounds, boron compounds, wood-decay fungi, remedial treatments of wood

INTRODUCTION

UVOD

Področje kemične zaščite lesa se v zadnjem času močno spreminja, saj je bilo kar nekaj klasičnih aktivnih učinkovin odstranjenih s trga po uvedbi direktive o biocidih (BPD 98/8/EC). Borove spojine so ene izmed najstarejših aktivnih učinkovin, ki so ostale na trgu. Večina znanih podatkov o učinkovitosti borovih spojin proti glivam razkrojevalkam lesa je le za preventivno zaščito lesa (BEACHLER / ROTH 1956; BECKER 1959; CARR 1964; DRYSDALE 1994; LESAR / HUMAR 2009). Kljub temu da se borove spojine množično uporabljajo tudi za kurativno zaščito lesa (RICHARDSON 1995), je malo znanih podatkov o mejnih vrednostih borovih učinkovin za takšen namen uporabe. Kurativno učinkovitost borovih spojin proti glivam razkrojevalkam smo primerjali z

učinkovitostjo najpomembnejših komercialnih fungicidov-bakrovih pripravkov.

MATERIALI IN METODE

MATERIALS AND METHODS

Vzorci beljave smrekovine (*Picea abies*) in bukovine (*Fagus sylvatica*) (1 cm x 1,5 cm x 4 cm) smo označili, avtoklavirali in za šest tednov izpostavili šestim glivam razkrojevalkam lesa, kot zahteva standard SIST EN 113. Uporabili smo tri glive rjave trohnobe, in sicer navadno tramovko *Gloeophyllum trabeum*, sivo hišno gob *Serpula lacrymans* in belo hišno gobo *Antrodia vaillantii*, ter tri glive bele trohnobe, in sicer pisano ploskocevko *Trametes versicolor*, bukovega ostrigarja *Pleurotus ostreatus* in ogljeno kroglico *Hypoxylon fragiforme*. Vzorce bukovine smo izpostavili beli trohnobi,

¹ B. L., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, Slovenija, t: +38614231161f; +38614235035, e: bostjan.lesar@bf.uni-lj.si

² doc. dr. M. H., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, Slovenija, t: +38614231161f; +38614235035, e: bostjan.lesar@bf.uni-lj.si

Preglednica 1: Vpliv potapljanja z glivami koloniziranih vzorcev v vodno raztopino borove kisline različnih koncentracij na rast gliv. Rast gliv je bila ocenjena vizualno, z ocenami med 0 (popolno zaviranje rasti gliv pri vseh vzorcih) in 3 (micelij gliv raste iz vseh okuženih vzorcev). V oklepajih so podane standardne deviacije.

Table 1: Influence of immersion of fungal colonised specimens into boron-based aqueous solutions of various concentrations on fungal growth. Fungal growth was estimated visually, with marks between 0 (complete retardation of fungal growth in all specimens) and 3 (fungal mycelia grew from all infested specimens). Standard deviations are given in the parentheses.

Vrsta glive Fungal species	Izguba mase Mass loss %	Mokri navzem Uptake of solution kg/m ³	Koncentracija bora v raztopini (ppm) Boron concentration in a solution (ppm)				
			0	1000	2500	5000	8700
			Rast gliv (0 – popolno zaviranje; 3 – ni zaviranja rasti) Fungal growth (0 – complete retardation; 3 – no retardation)				
<i>Antrodia vaillantii</i>	8,5 (2,9)	78,9 (46,4)	3	3	2	1	1
<i>Gloeophyllum trabeum</i>	24,3 (3,8)	49,8 (23,8)	3	3	0	0	0
<i>Serpula lacrymans</i>	11,5 (3,5)	128,6 (25,3)	3	3	1	1	0
<i>Pleurotus ostreatus</i>	9,2 (3,9)	89,8 (31,7)	3	3	2	0	0
<i>Trametes versicolor</i>	17,4 (3,5)	272,4 (62,1)	3	3	1	0	0
<i>Hypoxylon fragiforme</i>	15,1 (5,0)	401,0 (42,8)	3	3	2	0	0

vzorci smrekovine pa glivam rjave trohnobe. Po šestih tednih glivnega razkroja smo vzorcem v sterilnih razmerah odstranili površinski micelij in jih za 10 min potopili v vodne raztopine borove kisline (BA) in bakrovega sulfata različnih koncentracij (preglednici 1, 2). Kontrolne vzorce smo namočili le v sterilizirano destilirano vodo. Zatem smo vzorce položili v petrijevke s hranilnim gojiščem in jih postavili v rastno komoro (T = 25°C, RH = 85 %). Po enem tednu smo vizualno ocenili rast gliv iz zaščitnih in nezaščitnih vzorcev. Ocenjevali smo z ocenami od 0 – popolno zaviranje rasti do 3 – ni zaviranja rasti. Po ocenjevanju smo vzorcem gravimetrično določili izgubo mase in izračunali povprečje za vse vzorce,

izpostavljene določeni glivi (skupaj za vse vzorce kontrolne in impregnirane). Povprečni navzem zaščitnih pripravkov smo ocenili iz primerjave s potapljanjem, glivam izpostavljenih vzorcev, v destilirano vodo za vsako glivo posebej. Gostota in viskoznost zaščitnih pripravkov sta bili primerljivi z destilirano vodo. Poleg tega smo v eni izmed naših starejših raziskav (neobjavljeni podatki) navzemov vode in zaščitnih pripravkov na osnovi borove kisline ter modre galice ugotovili, da so le-ti primerljivi. Zaradi zagotavljanja sterilnosti ga nismo mogli določati na vseh vzorcih, temveč le na izbranih, ki smo jih potem izločili. Določili smo ga gravimetrično in ga izračunali na podlagi petih vzporednih meritev.

Preglednica 2: Vpliv potapljanja z glivami koloniziranih vzorcev v vodno raztopino bakrovega sulfata različnih koncentracij na rast gliv. Rast gliv je bila ocenjena vizualno, z ocenami med 0 (popolno zaviranje rasti gliv pri vseh vzorcih) in 3 (micelij gliv raste iz vseh okuženih vzorcev). V oklepajih so podane standardne deviacije.

Table 2: Influence of immersion of fungal colonised specimens into copper-based aqueous solutions of various concentrations on fungal growth. Fungal growth was estimated visually, with marks between 0 (complete retardation of fungal growth in all specimens) and 3 (fungal mycelia grew from all infested specimens). Standard deviations are given in the parentheses.

Vrsta glive Fungal species	Izguba mase Mass loss %	Mokri navzem Uptake of solution kg/m ³	Koncentracija bakra v raztopini (ppm) Copper concentration in a solution (ppm)				
			0	1000	2500	5000	10000
			Rast gliv (0 – popolno zaviranje; 3 – ni zaviranja rasti) Fungal growth (0 – complete retardation; 3 – no retardation)				
<i>Antrodia vaillantii</i>	8,5 (2,9)	78,9 (46,4)	3	3	3	3	3
<i>Gloeophyllum trabeum</i>	24,3 (3,8)	49,8 (23,8)	3	3	3	3	2
<i>Serpula lacrymans</i>	11,5 (3,5)	128,6 (25,3)	3	3	3	2	1
<i>Pleurotus ostreatus</i>	9,2 (3,9)	89,8 (31,7)	3	3	2	1	0
<i>Trametes versicolor</i>	17,4 (3,5)	272,4 (62,1)	3	3	3	2	1
<i>Hypoxylon fragiforme</i>	15,1 (5,0)	401,0 (42,8)	3	3	3	3	2

Preglednica 3: Izračunani suhi navzem borove kisline (BA) v vzorce smrekovine in bukovine, ki so bili pred zaščito 6 tednov izpostavljeni posamezni glivi.

Table 3: Calculated retention of boric acid (BA) into Norway spruce and beech specimens, exposed to wood-decaying fungi for 6 weeks.

Vrsta glive <i>Fungal species</i>	Vrsta lesa <i>Wood species</i>	Mokri navzem <i>Uptake of solution</i> kg/m ³	Koncentracija bora (ppm) / <i>Boron concentration (ppm)</i>				
			0	1000	2500	5000	8700
			Navzem BA* <i>Retention of BA*</i>	Navzem BA* <i>Retention of BA*</i>	Navzem BA* <i>Retention of BA*</i>	Navzem BA* <i>Retention of BA*</i>	Navzem BA* <i>Retention of BA*</i>
<i>Antrodia vaillantii</i>	smreka	78,9 (46,4)	0	0,45	1,13	2,26	3,92
<i>Gloeophyllum trabeum</i>		49,8 (23,8)	0	0,29	0,71	1,42	2,48
<i>Serpula lacrymans</i>		128,6 (25,3)	0	0,74	1,84	3,68	6,40
<i>Pleurotus ostreatus</i>	bukov	89,8 (31,7)	0	0,51	1,28	2,57	4,47
<i>Trametes versicolor</i>		272,4 (62,1)	0	1,56	3,89	7,79	13,55
<i>Hypoxyylon fragiforme</i>		401,0 (42,8)	0	2,29	5,73	11,46	19,95

*Suhi navzem borove kisline (kg/m³)

*Retention of boric acid (kg/m³)

REZULTATI IN RAZPRAVA RESULTS AND DISCUSSIONS

Mokri navzem zaščitnih raztopin je odvisen od lesne vrste in vrste glive, ki so ji bili izpostavljeni vzorci. Višje povprečne navzeme zaščitnih raztopin smo dosegli pri bukovih vzorcih (254 kg/m³), medtem ko so smrekovi vzorci navzeli le 86 kg/m³ (preglednica 3). Menimo, da je vzrok za te razlike v boljši impregnabilnosti bukovine v primerjavi s smrekovino. Navzemi se močno razlikujejo tudi med vzorci, izpostavljeni posamezni glivi, vendar ne moremo potrditi neposredne povezave med izgubo mase, ki jo je povzročila posamezna gliva, in navzemom zaščitne raztopine.

Povprečne izgube mase kontrolnih in impregniranih vzorcev po sedmih tednih razkroja so znašale med 8,5 % (*A. vaillantii*) in 24,3 % (*G. trabeum*), kar kaže, da so bile vse glive aktivne. Vitalnost gliv potrjuje tudi dejstvo, da so glive iz vseh kontrolnih vzorcev, ki so bili 10 min potopljeni v vodi, po tednu dni povsem prerasle petrijevko, kamor smo jih položili po namakanju. Razlike med izgubo mase kontrolnih in impregniranih vzorcev s posamezno zaščitno raztopino niso statistično značilne. V nadaljevanju nas je zanimalo, kakšen kurativen vpliv imajo biocidi. Iz preglednice 1 je razvidno, da na glive ni delovalo desetminutno potapljanje v vodno raztopino borove kisline s 1000 ppm bora, medtem ko je potapljanje vzorcev v raztopino z višjo koncentracijo bora delno ali

Preglednica 4: Izračunani suhi navzem bakrovega sulfata (CuS) v vzorce smrekovine in bukovine, ki so bili pred zaščito 6 tednov izpostavljeni posamezni glivi.

Table 4: Calculated retention of copper sulphate (CuS) into Norway spruce and beech specimens, exposed to wood-decaying fungi for 6 weeks.

Vrsta glive <i>Fungal species</i>	Vrsta lesa <i>Wood species</i>	Mokri navzem <i>Uptake of solution</i> kg/m ³	Koncentracija bakra v raztopini (ppm) <i>Copper concentration in a solution (ppm)</i>				
			0	1000	2500	5000	10000
			Navzem CuS* <i>Retention of CuS*</i>	Navzem CuS* <i>Retention of CuS*</i>	Navzem CuS* <i>Retention of CuS*</i>	Navzem CuS* <i>Retention of CuS*</i>	Navzem CuS* <i>Retention of CuS*</i>
<i>Antrodia vaillantii</i>	smreka	78,9 (46,4)	0	0,31	0,77	1,55	2,69
<i>Gloeophyllum trabeum</i>		49,8 (23,8)	0	0,29	0,49	0,98	1,70
<i>Serpula lacrymans</i>		128,6 (25,3)	0	0,51	1,26	2,52	4,39
<i>Pleurotus ostreatus</i>	bukov	89,8 (31,7)	0	0,35	0,88	1,76	3,06
<i>Trametes versicolor</i>		272,4 (62,1)	0	1,07	2,67	5,34	9,29
<i>Hypoxyylon fragiforme</i>		401,0 (42,8)	0	1,57	3,93	7,86	13,68

*Suhi navzem bakrovega sulfata pentahidrata (kg/m³)

*Retention of copper sulphate pentahydrate (kg/m³)

popolnoma zavrlo rast glivnega micelija. Nižje koncentracije bora torej ne zavirajo rasti, ampak jo v določenih razmerah celo pospešujejo, saj je bor poznan tudi kot eden izmed elementov, ki jih glive nujno potrebujejo za rast in razvoj (LLOYD 1998). Med testiranimi glivami je največjo odpornost izkazala ogljena kroglica. Rast micelija je popolnoma zavrlo komaj 11,5 kg borove kisline na m³ (BAE) (preglednici 1, 3), medtem ko je tramovko zavrlo že 0,71 kg/m³ BAE. Popolne zaustavitve rasti nismo mogli določiti pri beli hišni gobi, rasla je tudi še iz vzorcev, ki so bili potopljeni v nasičeno raztopino borove kisline (87000 ppm; navzem 3,92 kg/m³ BAE). Iz dinamike zaviranja micelija pri različnih navzemih sklepamo, da je minimalna kurativna inhibitorna koncentracija borove kisline v lesu za zaustavitev rasti bele hišne gobe primerljiva z minimalno kurativno inhibitorno koncentracijo BA pri sivi hišni gobi (6,40 kg/m³ BAE). Pri glivah bele trohnobe smo ugotovili popolno zaviranje rasti micelija pri vseh treh glivah po potapljanju okuženih vzorcev v pripravek s 5000 ppm bora. Vendar pa se količine borove kisline v lesu potrebne za zaviranje rasti močno razlikujejo. Rast bukovega ostrigarja zavre že 2,57 kg/m³ BAE, medtem ko je za prekinitev rasti ogljene kroglice potrebnih kar 11,46 kg/m³ BAE (preglednici 1, 3). Iz primerjave kurativne učinkovitosti borove kisline na lesne glive lahko zaključimo, da so glive bele trohnobe nekoliko bolj odporne proti borovi kislini kot pa glive rjave trohnobe. Ta rezultat je v skladu s prejšnjimi raziskavami preventivne učinkovitosti borovih spojin (CARR 1964; LESAR / HUMAR 2009). Za kurativno zaščito pred zgoraj omenjenimi glivami je zahtevan minimalni navzem 11 kg/m³ BAE, kar je približno petkrat več kot za preventivno zaščito (BEACHLER / ROTH 1956; BECKER 1959; CARR 1964). Zanimivo je, da smo v novejših raziskavah ugotovili, da so borove učinkovine boljši fungicidi, kot so ugotovili v preteklosti (LESAR / HUMAR 2009). Tako starejše raziskave navajajo bistveno višje mejne vrednosti, potrebne za preventivno zaščito (2 kg/m³ BAE), kot nakazujejo zadnje raziskave (0,8 kg/m³ BAE).

V nasprotju z borovo kislino se je bakrov sulfat izkazal kot slabši fungicid za kurativno zaščito lesa. Prvo manjše zaviranje rasti smo opazili pri vzorcih, ki so bili izpostavljeni bukovemu ostrigarju in so potopljeni v raztopino z 2500 ppm Cu navzeli 0,88 kg modre galice na m³, medtem ko smo po namakanju delno razkrojenih vzorcev v pripravek z najvišjo koncentracijo bakrovih učinkovin ($c_{Cu} = 10000$ ppm) popolno zaviranje rasti zaznali le pri vzorcih, izpostavljenih bukovemu ostrigarju (preglednici 2, 4). Močno zaviranje rasti (ocena 1) pa smo ugotovili pri sivi hišni gobi in pisani ploskocevki.

Kljub temu da so bili pri vseh testnih glivah navzemi modre galice višji od navzema borove kisline, nismo mogli določiti minimalne količine modre galice za kurativno zaščito lesa za zaščito pred belo hišno gobo, tramovko, sivo hišno gobo, pisano ploskocevko in ogljeno kroglico (preglednici 2, 4). Rezultat za belo hišno gobo ni presenetljiv, saj je znana velika tolerantnost bele hišne gobe do bakrove učinkovine (HUMAR *et al.* 2005). Ob primerjavi navzema elementarnega bora in bakra ugotovimo, da za zaščito že okuženega lesa potrebujemo v lesu najmanj 2 kg bora (B) na m³ in več kot 3,5 kg bakra (Cu), kar potrjuje večjo učinkovitost borovih učinkovin na lesne glive.

SUMMARY

In the present study, minimal remedial fungicidal concentrations of boric acid and copper sulphate for three brown rot fungi (*Gloeophyllum trabeum*, *Serpula lacrymans* and *Antrodia vaillantii*) and three white rot fungi (*Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus* and *Hypoxylon fragiforme*) were determined. Remedial efficacy was determined on infested spruce and beech wood specimens, which were immersed into the selected copper- or boron-based preservative solutions for ten minutes. The treated specimens were transferred to a nutrient medium and fungal growth was monitored. Retention of preservative solution was gravimetrically determined on five parallel samples; each group of samples was exposed to a respective fungal species. The results showed that retention of preservative solution was much higher at beech samples compared to the spruce samples. The reason for such effect is intrinsically better treatability of beech wood. In our research, white rot fungi were more resistant to boron compounds than brown rot fungi, which is in line with published data. The results show that boron compounds are better remedial fungicides than copper compounds. Furthermore, minimal remedial boron fungicidal concentration is much higher than the preventive minimal inhibitory concentration.

ZAHVALA ACKNOWLEDGEMENT

Avtorja se zahvaljujeva Javni agenciji za raziskovalno dejavnost republike Slovenije za finančno podporo v okviru projekta L4-0820-0481 in programske skupine P4-0015-0481. Za tehnično podporo se zahvaljujemo diplomantu Gašperju Rajnerju, univ.dipl.inž.les.

VIRI **LITERATURE**

- BEACHLER, RH. / ROTH, H., 1956. Laboratory leaching and decay tests on pine and oak blocks treated with several preservative salts. Proc. AWWA, 24-34.
- BECKER, G., 1959. Beitrag zur Kenntnis der Wirksamkeit von Borverbindungen als Holzschutzmittel gegen Insekten und Pilze. Holz als Roh und Werkstoff 12: 484-489.
- BIOCIDAL PRODUCTS DIRECTIVE (98/8/EC). 1998. Official Journal of the European Communities L 123, 1-63
- CARR, D., 1964. Diffusion impregnation for House Timbers Part 2. International Pest Control, 13-19.
- DRYSDALE, J., 1994. Boron Treatments for the Preservation of Wood - A Review of efficacy data for fungi and termites. International Research Group for Wood Protection IRG/WP 94-30037, 21.
- HUMAR, M. / ŠENTJURC, M. / AMARTEY, S.A. / POHLEVEN, F., 2005. Influence of acidification of CCB (Cu/Cr/B) impregnated wood on fungal copper tolerance. Chemosphere 58, 743-749.
- LESAR, B. / HUMAR, M., 2009. Re-evaluation of fungicidal properties of boric acid, Eur. J. Wood Products, DOI 10.1007/s00107-009-0342-0
- LLOYD, J.D., 1998. Borates and their biological applications. International Research Group for Wood Preservation. IRG/WP 30178, 26.
- RICHARDSON, B., 1995. Remedial treatment of buildings, 2nd Edition – Oxford Butterworth-Heinemann, 344 s.
- STANDARD SIST EN 113., 1996. Zaščitna sredstva za les – določanje meje učinkovitosti proti glivam odprtozrnicam, 32 s.