

GDK 841+844.2

Prispelo / Received: 11.01.2002
Sprejeto / Accepted: 25.04.2002

Izvirni znanstveni članek
Original scientific paper

TRANSLOKACIJA BAKRA IZ ZAŠČITENEGA LESA, IZPOSTAVLJENEGA GLIVAM RAZKROJEVALKAM LESA

Miha HUMAR^{*}, Franc POHLEVEN^{**}, Polona KALAN^{***}, Sam AMARTEY^{****}

Izvleček:

Na področju zaščite lesa se v zadnjem času pojavljajo na baker odporni sevi gliv, kar v praksi predstavlja velik problem. Tolerantne glive ogrožajo zaščiten les v uporabi z običajno trajnostjo nad 30 let, saj les, okužen s tolerantnimi sevi gliv, lahko propade že v nekaj letih. Mehanizmi tolerantnosti še niso povsem pojasnjeni. Velik pomen se pripisuje oksalni kislini, ki jo intenzivno tvorijo tolerantne glive. Z laboratorijskimi poskusi smo ugotovili, da je poleg tega mehanizma pomemben tudi aktivni transport bakra v micelij gliv. Pri glivah, ki ne izločajo oksalne kisline, je translokacija bakra povzročena z difuzijo.

Ključne besede: zaščita lesa, bakrovi pripravki, tolerantnost na baker, oksalna kislina, *Antrodia vaillantii*

COPPER TRANSLOCATION FROM PRESERVED WOOD EXPOSED TO WOOD DECAY FUNGI

Abstract:

Copper tolerance by wood decay fungi is one of the most significant problems in the field of wood preservation. These fungi are a potential danger for preserved wood in use, wood with an expected lifespan of 30 years. However, the nature of the fungal tolerance is still not completely understood. The resistance of some species of wood decay fungi to copper has been connected to their production of copious amounts of oxalic acid. However, oxalic acid production is not the only factor responsible for this phenomenon. Laboratory experiments have shown that one other important mechanism is active copper transport of copper tolerant fungi and diffusion of copper by intolerant ones.

Key words: wood preservation, copper based preservatives, copper tolerance, oxalic acid, Antrodia vaillantii

^{*} BF, Oddelek za lesarstvo, Rožna dolina c.VIII/34, 1000 Ljubljana, SVN

^{**} prof. dr., BF, Oddelek za lesarstvo, Rožna dolina c.VIII/34, 1000 Ljubljana, SVN

^{***} dr., Gozdarski inštitut Slovenije, Večna pot 2, 1000 Ljubljana, SVN

^{****} FPRC, Buckinghamshire Chilterns, University College, Velika Britanija

VSEBINA
CONTENTS

1 UVOD	
INTRODUCTION.....	163
2 MATERIAL IN METODE	
MATERIAL AND METHODS	164
3 REZULTATI IN RAZPRAVA	
RESULTS AND DISCUSSION	166
4 SKLEPI	
CONCLUSIONS	170
5 SUMMARY	170
6 VIRI	
REFERENCES.....	171
ZAHVALA	
ACKNOWLEDGEMENT.....	173

1 UVOD

INTRODUCTION

Bakrove spojine se že več kot 150 let uporabljajo za zaščito lesa. Letno se v svetu v ta namen porabi več kot 25.000 ton bakrovih pripravkov, količina pa še vedno narašča (RICHARDSON 1993, HUGHES 1999, PRESTON 2000). Razlogov za to je več:

- že v relativno nizkih koncentracijah baker učinkovito zavira rast gliv, bakterij in alg, na višje rastline pa pri nizkih koncentracijah ne vpliva negativno, ampak je celo nujno potreben za njihov pravilni razvoj (GUPTA 1979);
- zaščitna sredstva na osnovi bakra so relativno poceni in razmeroma varna v primerjavi z ostalimi zaščitnimi pripravki (RICHARDSON 1997);
- zaradi strupenosti ali njihove okoljske neprimernosti velja prepoved oziroma strožji nadzor nad nekaterimi klasičnimi zaščitnimi sredstvi za les (PCP, TBTO, Lindan) (POHLEVEN 1998);
- hiter razvoj dežel tretjega sveta in s tem povezana večja poraba zaščitnega lesa (RICHARDSON 1997).

Največja slabost zaščitnih sredstev na osnovi bakra je izpiranje. Baker namreč s komponentami lesa ne reagira, zato se iz lesa izpira (RICHARDSON 1993). Druga slabost bakrovih pripravkov je pojav na baker odpornih sevov gliv (ZABEL 1954, TSUNODA / NAGASHIMA / TAKAHASHI 1997, WOODWARD / DE GROOT 1999). Tolerantne glive ogrožajo zaščiten les, to je les z največjo funkcionalno in komercialno vrednostjo (HUMAR / POHLEVEN 2000). Znano je, da odpornost gliv na baker močno variira tako med posameznimi vrstami kot med posameznimi izolati (ZABEL 1954, DA COSTA 1959). Uspevanje gliv v toksičnih okoljih je v največji meri odvisno od fizioloških značilnosti posamezne vrste. Toleranco razumemo kot sposobnost organizma, da preživi na močno kontaminiranem gojišču zaradi svojih specifičnih mehanizmov, s katerimi lahko zmanjša toksičnost kovine (GADD 1993). Toleranca posameznih vrst gliv na baker je že dolgo znana, kljub temu je mehanizem tolerance še vedno nepojasnen (HIRT 1949, ZABEL 1954, DA COSTA 1959, TSUNODA / NAGASHIMA / TAKAHASHI 1997, POHLEVEN *et al.* 1999, HUMAR / PETRIČ / POHLEVEN 2001).

Pomembno vlogo pri toleranci ima zagotovo oksalna kislina. Med trohnenjem lesa baker v lesu reagira z oksalno kislino in pri tem nastane v vodi netopen bakrov oksalat. Čeprav način delovanja bakra na glive še ni popolnoma jasen, vemo, da le v vodi topen baker deluje fungicidno. Glive s transformacijo bakra v netopen bakrov oksalat povzročijo, da je ta neučinkovit (SUTTER / JONES / WÄLCHLI 1983, RICHARDSON 1997, POHLEVEN *et al.* 1999). S poskusi so celo dokazali, da glive lahko uspevajo na podlagi, kjer so velike količine bakrovega oksalata (SUTTER / JONES / WÄLCHLI 1983).

Na splošno so glive bele trohnobe manj tolerantne na zvišane koncentracije bakra kot glive povzročiteljice rjave trohnobe (TSUNODA / NAGASHIMA / TAKAHASHI 1997). To dejstvo dobro sovпада s podatki o izločanju oksalne kisline. Že Takao (1965) navaja, da glive bele trohnobe izločajo manj oksalne kisline kot glive rjave trohnobe. Največja toleranca je bila opažena pri glivah iz rodu *Antrodia* (SCHMIDT / WHITTEN / NICHOLAS 1981). Pri tolerantnih glivah, ki so preraščale nezaščiten les, so v lumnih celic in na hifah našli kalcijev oksalat (TSUNODA / NAGASHIMA / TAKAHASHI 1997). Zato domnevajo, da pri zaščitenem lesu namesto kalcijevega oksalata nastaja bakrov oksalat (STEPHAN / LEITHOFF / PEEK 1996).

S pretvorbo bakra v bakrov oksalat lahko pojasnimo pomemben del vzrokov za odpornost gliv na baker. Vendar to zagotovo ni edini mehanizem. Pohleven s sodelavci (1999) meni, da imajo glive različno razvito sposobnost selektivnega sprejema bakra v celice gliv. Poleg naštetih mehanizmov ima verjetno veliko vlogo tudi translokacija bakra iz lesa. Namen tega prispevka je osvetliti do sedaj velikokrat zanemarjeno povezavo med translokacijo bakra iz zaščitenega lesa in toleranco gliv na baker.

2 MATERIAL IN METODE MATERIAL AND METHODS

Izhodne kulture micelija smo vzeli iz zbirke gliv Biotehniške fakultete, Oddelek za lesarstvo, Katedra za patologijo in zaščito lesa. Tri uporabljene glive povzročajo rjavo trohnobo (*Antrodia vaillantii* L037 (Pv2), *Gloeophyllum trabeum* ZIM L017 (Gt) (RASPOR *et al.* 1995) in *Leucogyrophana pinastri* HTP 592 (Yf)), zelo razširjena pisana ploskocevka (Tv) (*Trametes versicolor* (L.: Fries) Pilát) pa belo trohnobo. Kljub temu, da

v naravi zelo redko najdemo glive bele trohnobe na lesu iglavcev, smo večino eksperimentov opravili na smrekovem lesu. V laboratorijskih pogojih te gobe nimajo konkurence in zato lahko razkrajajo tudi iglavce (GREEN / HIGHLEY 1997). Glivi *Antrodia vaillantii* in *Leucogyrophana pinastri* sta po naših predhodnih ugotovitvah tolerantni na baker (HUMAR / PETRIČ / POHLEVEN 2001, HUMAR *et al.* 2001).

Vzorci dimenzij $1,5 \times 2,5 \times 5,0$ cm smo izdelali iz beljave smrekovine (*Picea abies* L. Karst.). Absolutno suhi vzorci so bili impregnirani po standardnem postopku s pomočjo vakuuma, kot je opisano v standardu EN 113 (1989). Uporabili smo dva pripravka na osnovi bakra, bakrov(II) sulfat (CuS) in bakrov(II) oktanoat z etanolaminom (CuE). Koncentracija bakra v pripravku je bila v obeh primerih 0,75 %. Impregnirane vzorce smo nato štiri tedne sušili. Prva dva tedna v zaprtih, tretji teden v polzaprtih in zadnji teden v odprtih petrijevkah. Na ta način smo simulirali naravno sušenje. Kontrolne vzorce smo namesto z bakrovim pripravkom impregnirali z destilirano vodo. Vzorcem smo po impregnaciji gravimetrično določili vlažni navzem. Zračno sušene impregnirane in kontrolne vzorce smo pred izpostavitvijo sušili 24 ur v sušilniku pri 103°C. Absolutno suhim smo določili maso in počakali nekaj dni, da so se na zraku, pri sobnih pogojih, ponovno navlažili. V avtoklavu smo jih sterilizirali 40 min pri 1,5 bar in jih naslednji dan vstavili v gojitvene kozarce, kjer je bilo hranilno gojišče preraslo z micelijem. Polagali smo jih na mrežico in s tem preprečili stik vzorcev z gojiščem. Vzorci so bili 16 tednov izpostavljeni glivi, nato smo jih očistili in jim gravimetrično določili izgubo mase.

Po končanju poskusa smo izolirali tudi micelij in hranilno gojišče. S postopkom razklopa oz. mineralizacije prevedemo elemente v raztopino kot ione in jih tako ločimo od osnove. Razklop lesnih vzorcev smo opravili v mikrovalovni peči na mokri način in v zaprtem sistemu. V teflonske lončke smo zatehtali od 0,2 do 0,4 g zdrobljenega organskega materiala in ga prelili s 5 ml dušikove (V) kisline (HNO_3) in 2 ml vodikovega peroksida (H_2O_2). Razklop je potekal v mikrovalovni peči za razklop vzorcev ETHOS 900 pri temperaturi 473 K v laboratoriju za gozdno ekologijo Gozdarskega inštituta Slovenije. Po razklopu smo določili vsebnost bakra v raztopinah z metodo plamenske atomske absorpcijske spektroskopije (FLAAS Thermo Yarrel Ash Scan).

3 REZULTATI IN RAZPRAVA RESULTS AND DISCUSSION

Po 16 tednih izpostavitve so glive vsaj delno razkrojile zaščiten les. Bela hišna goba (Pv2) je bolj razkrojila s CuS zaščiten les kot les, impregniran s CuE. Po drugi strani je bilo pri tramovki in pisani ploskocevki ravno obratno. Gliva *Leucogyropana pinastri* (Yf) je v enaki meri razkrojila vzorce zaščiten z bakrovima pripravkoma (preglednica 1). Kontrolni vzorci so pri vseh glivah izgubili več kot 25 % začetne mase, kar je zadosten dokaz, da so bile kulture gliv aktivne. Celo pisana ploskocevka je razkrojila 28 % mase vzorcev, kar dokazuje, da gliva bele trohnohe, ki jo v naravi redkeje najdemo na lesu iglavcev, v laboratorijskih pogojih lahko dobro razkrajata tudi smrekovino (preglednica 1).

Preglednica 1: Izgube mase in vlažnost z bakrovimi pripravki zaščitenih in nezaščitenih lesnih vzorcev, določene po privzetem evropskem standardu EN 113 (n=7)

Table 1: Mass losses and moisture content of copper impregnated and un-impregnated samples determined according to the standard EN 113 (n=7)

Gliva <i>Fungus</i>	Zaščitni pripravek <i>Preservative solution</i>	Izguba mase [%] <i>Mass loss [%]</i>	Vlažnost lesa [%] <i>Moisture content [%]</i>
Gt	CuS	2	71
	CuE	6	77
	K	49	60
Pv2	CuS	8	67
	CuE	3	120
	K	28	57
Tv	CuS	1	55
	CuE	8	80
	K	28	56
Yf	CuS	6	62
	CuE	6	95
	K	25	55

V preglednici 2 so v prvem stolpcu predstavljene koncentracije Cu v miceliju/hranilnem gojišču, v drugem pa količina Cu v miceliju/hranilnem gojišču. Koncentracije bakra v hranilnem gojišču nam pojasnijo le del aktivnosti glive, vendar med seboj niso vedno primerljive, ker nekatere glive tvorijo obilnejše, druge pa manj bogato podgobje. Tudi koncentracije bakra v hranilnem gojišču so na prvi pogled nizke, vendar je treba upoštevati, da je masa hranilnega gojišča tudi 20-krat večja od mase micelija.

Preglednica 2: Koncentracije bakra in količina bakra v hranilnem gojišču (HG) in miceliju (M), ki je 16 tednov preraščal impregnirane in neimpregnirane vzorce smrekovega lesa ($c_{Cu} = 0,75 \%$) (CuE – Bakrov(II) oktanoat z etanolaminom; CuS – Bakrov(II) sulfat)

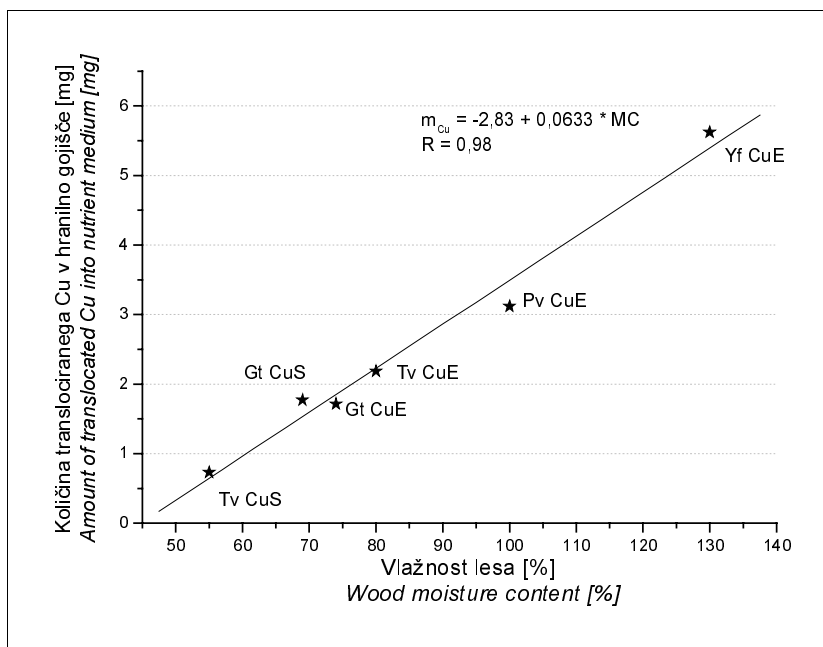
Table 2: Copper concentration and total amount of copper in nutrient medium (HG) and mycelium (M) that overgrew impregnated and non-impregnated Norway spruce samples exposed to wood rotting fungi for 16 weeks. ($c_{Cu} = 0,75 \%$) (CuE – Copper(II) octanoate with ethanolamine; CuS – Copper(II) sulfate)

Gliva Fungus	Zaščitni pripravek Preservative solution	Substrat Substrate	Koncentracija Cu [ppm] Cu concentration [ppm]	Količina Cu [mg] Amount of Cu [mg]
Gt	CuE	M	247 ± 76	0,159
		HG	115 ± 20	1,714
	CuS	M	973 ± 159	0,713
		HG	227 ± 69	1,773
	K	M	0,5 ± 0,2	/
		HG	0,5 ± 0,1	/
Pv2	CuE	M	798 ± 401	0,592
		HG	277 ± 101	3,171
	CuS	M	7653 ± 537	14,6083
		HG	46 ± 31	0,382
	K	M	1,2 ± 0,2	/
		HG	0,5 ± 0,1	/
Tv	CuE	M	700 ± 161	0,853
		HG	520 ± 159	2,732
	CuS	M	382 ± 191	0,642
		HG	267 ± 161	0,7872
	K	M	0,7 ± 0,2	/
		HG	0,5 ± 0,1	/
Yf	CuE	M	1637 ± 422	0,1004
		HG	1089 ± 137	5,623
	CuS	M	39004 ± 5377	11,669
		HG	79 ± 3	0,298
	K	M	0,9 ± 0,2	/
		HG	0,5 ± 0,1	/

Presenetljivo visoke koncentracije Cu so bile v miceliju tolerantnih gliv (Yf, Pv2) v vzorcih, zaščitnih s CuS. V miceliju glive Yf smo izmerili poprečno skoraj 40.000 ppm (4 %) bakra (preglednica 2). Torej je glivi uspelo iz lesa odstraniti približno 10 % bakra, ki smo ga v les vnesli z impregnacijo (impregnirani vzorci so vsebovali povprečno 55 mg bakra). Podoben pojav smo opazili tudi pri beli hišni gobi. Prisotnost bakra na površini micelija gliv smo opazili že s prostim očesom. Verjetno sta obe tolerantni glivi uspeli

spremeniti bakrov(II) sulfat v lesu v netopen bakrov oksalat, ki se je v obliki kristalov izločil na hife gliv. Prisotnost tega mehanizma smo še dodatno potrdili z EPR in FTIR spektroskopskimi raziskavami (HUMAR *et al.* 2001). Podoben pojav je opisan tudi za kristale kalcijevega oksalata. Zato lahko potrdimo, da je formacija bakrovega oksalata v zaščitenem lesu zelo podobna tvorbi kalcijevega oksalata v nezaščitenem lesu (STEPHAN / LEITHOFF / PEEK 1996, TSUNODA / NAGASHIMA / TAKAHASHI 1997). Kako poteka transport netopnega bakrovega oksalata iz vzorcev, si zaenkrat še ne znamo pojasniti. Zanimivo je, da v hranilnem gojišču, na katerem so hife preraščale vzorec, zaščiten s CuS, nismo opazili zvišanja koncentracij Cu (preglednica 2). Rezultat je pričakovan, saj je bakrov oksalat netopen v vodi in zato tudi ni prišlo do difuzije iz hif in lesa v hranilno gojišče.

Do nasprotnega pojava je prišlo pri lesu, zaščitenem s CuE in izpostavljenem tolerantnima glivama. V hranilnem gojišču smo opazili višje koncentracije Cu, medtem ko so koncentracije Cu v miceliju nižje. Vzrok za ta pojav se verjetno skriva v dejstvu, da smo z zaščitnim sredstvom CuE v les vnesli tudi etanolamin. Manjši del v les navzetega etanolamina izhlapi, večji del pa ostane vezan v lesu (HUMAR / PETRIČ 2000). Med procesom razkroja s CuE zaščitenega lesa so glive prav tako izločale oksalno kislino, vendar pri tem ni nastal netopen bakrov oksalat, temveč topen kompleks bakra, etanolamina in oksalne kisline (HUMAR *et al.* 2001). Zaradi topnosti kompleksa je baker ohranil fungicidne lastnosti in zato ni prišlo do večjih izgub mase pri vzorcih, izpostavljenih tolerantni glivi Pv2. Tudi vlažnost vzorcev, impregniranih s CuE, je bila zelo visoka (preglednica 1). Opazili smo, da so se na okuženih vzorcih pojavile celo kapljice, tako da je bila na ta način med vzorci in hranilnim gojiščem vzpostavljena povezava, preko katere je baker lahko difundiral v hranilno gojišče. Ravno tako je v gojišče prehajal tudi baker s površine micelija gliv. Pri tem se postavlja vprašanje, ali je translokacija bakra v tem primeru res rezultat aktivnega delovanja gliv, ali je posledica navlaženja lesnih vzorcev, kar omogoča njegovo difuzijo.



Legenda / Legend: MC – vlažnost / moisture content

Slika 1: Korelacija med vlažnostjo z bakrovimi pripravki zaščitenega lesa, ki je bil 16 tednov izpostavljen delovanju gliv, in izmerjeno količino bakra v hranilnem gojišču

Figure 1: Correlation between moisture content and amount of copper translocated from the copper treated sample into the nutrient medium.

Pri vzorcih lesa, izpostavljenih netolerantnima glivama (Tv in Gt), smo opazili nekoliko drugačne rezultate. Glivi sta približno v enaki meri translocirali baker iz lesa, zaščitenega s CuS, kot iz lesa, zaščitenega s CuE (preglednica 2). Za obe glivi je značilno, da ne izločata tolikšnih količin oksalne kisline kot tolerantni, temveč zakisata les z drugimi organskimi kislinami (TAKAO 1965, HUMAR / PETRIČ / POHLEVEN 2001, HUMAR *et al.* 2001). Zato se baker v netolerantnih glivah v manjši meri ali pa sploh ne transformira v bakrov oksalat. Kljub temu glivi zakisata les (HUMAR / PETRIČ / POHLEVEN 2001) in na ta način povečata mobilnost bakra. Menimo, da v tem primeru prav tako pride do difuzije bakra iz lesa v hranilno gojišče preko micelija ali vodnih kapljic v stiku z vzorcem in hranilnim gojiščem. Hitrost difuzije bakra v hranilno gojišče je v veliki meri odvisna od vlažnosti vzorcev, kar se vidi iz zelo značilne korelacije med

vlažnostjo in translokacijo. Z naraščajočo vlažnostjo narašča mobilnost bakra, kar se odraža v zvišani koncentraciji Cu v hranilnem gojišču (grafikon 1). Torej je translokacija Cu v teh primerih posledica zvišane vlažnosti in ne aktivnega transporta bakra, ki je značilen za hife tolerantnih gliv (Pv in Yf), ki preraščajo vzorce, zaščitene z bakrovim sulfatom.

Opisana translokacija je zelo zanimiva tudi iz drugega vidika. Glive bi lahko uporabili za okolju prijazno razstrupljanje odsluženega zaščitenelega lesa. Odslužen les bi izpostavili tolerantnim lesnim glivam, nato pa bi sproščene aktivne komponente izprali iz lesa (HUMAR / POHLEVEN 2001).

4 SKLEPI **CONCLUSIONS**

Po izpostavitvi z bakrovimi pripravki zaščitenelega lesa glivam, smo v miceliju in hranilnem gojišču zaznali zvišane koncentracije bakra. Menimo, da sta vzroka za translokacijo bakra dva: aktivni transport bakra iz lesa in difuzija. Aktivni transport igra odločilno vlogo pri tolerantnih glivah, ki izločajo veliko oksalne kisline, pri tem v lesu nastane netopen bakrov oksalat. V primerih, ko v lesu ne nastaja netopen bakrov oksalat, glive pa močno navlažijo les, smo opazili močno soodvisnost med vlažnostjo lesa in količino translociranega bakra. Menimo, da z naraščajočo vlažnostjo lesa narašča tudi difuzija bakra v podlago. Opisane mehanizme bi lahko koristno uporabili za odstranjevanje bakrovih spojin iz odpadnega zaščitenelega lesa.

5 SUMMARY

*All fungi translocated copper from copper treated samples. We found two mechanisms responsible for this phenomenon. The first mechanism is the diffusion of copper and the other is the active transport of copper into the mycelium. The active transport was found to be the most important mechanism of the copper tolerant fungi *Antrodia vaillantii* and *Leucogyropana pinastris* for decaying copper sulphate treated samples. These two fungi*

excrete copious amounts of oxalic acid that reacts with copper sulphate in wood into copper oxalate.

The mechanism of diffusion was further supported by a strong correlation between the moisture content of the samples and the amount of translocated copper into the nutrient medium. During the initial stages of decay, fungi moisturized the samples and increased moisture content above the fibre saturation point. Fungi excrete different type of organic acids (not oxalic acid) in which the normally poorly soluble copper becomes soluble. Therefore, diffusion takes place and copper from the cell wall diffuses into the free water in cell lumens and further into the nutrient medium and mycelium.

However, the phenomenon of copper translocation can be interesting from two different points of view. The first is that understanding of this phenomenon can lead to the development of a new, more resistant generation of copper based wood preservatives. Secondly, we could use selected copper tolerant fungi for environmentally friendly bio-recycling of spent preserved wood.

6 VIRI REFERENCES

- 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.
- EN113, 1989. Wood preservatives: Determination of the toxic values against wood destroying basidiomycetes cultured on agar medium.- European Commission, 32 s.
- GADD, G. M., 1993. Interactions of fungi with toxic metals.- *New Phytologist* 64, 2: 25-60.
- GREEN, III F. / HIGHLEY T. L., 1997. Mechanism of brown-rot decay: Paradigm or paradox.- *International Biodeterioration & Biodegradation* 39, 3: 113-124.
- GUPTA, U., 1979. Copper in the environment.- New York, John Wiley & Sons, 215 s.
- HIRT, R. R., 1949. An isolate of *Poria xantha* on media containing copper.- *Phytopathologist* 39, 1: 31-36.

- HUGHES, A.S., 1999. Studies 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 s.
- HUMAR, M. / PETRIČ, M. / POHLEVEN, F., 2001. Changes of the pH value of impregnated wood during exposure to wood-rotting fungi.- *Holz Roh - Werkst.* 59: 288-293.
- HUMAR, M. / PETRIČ, M. / POHLEVEN, F. / ŠENTJURC, M. / KALAN, P., 2001. Changes of copper EPR spectra during exposure to wood rotting fungi.- *Holzforschung*, v tisku.
- HUMAR, M. / POHLEVEN, F., 2001. Recycling of CCA or CCB treated waste wood.- V: DENAC M. / MUSIL, V. / PREGRAD, B. (Ur.), Commodity science in global quality perspective: products, technology, quality and environment. Proceedings of the 13th IGWT Symposium, Maribor, Ekonomsko-poslovna fakulteta, s. 1409-1413.
- HUMAR, M. / PETRIČ, M., 2000. Etanolamin v zaščitenem lesu.- *ZbGL.* 61: 143-159.
- HUMAR, M. / POHLEVEN, F., 2000. Značilnosti razkroja lesa z rjavo trohno.- *Les* 52: 229-234.
- 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 s.
- POHLEVEN, F. / BREZNIKAR, Š. / KALAN, P. / PETRIČ, M., 1999. Determination of absorption, accumulation and transport of copper in mycelium of some wood decay fungi.- The International Research Group on Wood Preservation, IRG/WP 99-10323, 9 s.
- PRESTON, A., 2000. Wood preservation. Trends of today that will influence the industry tomorrow.- *Forest products journal* 50, 9: 12-19.
- 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, B. A., 1993. Wood Preservation (Second edition).- London, E & FN Spon, 226 s.
- RICHARDSON, H. W., 1997. Handbook of copper compounds and applications.- New York, M. Dekker, s. 93-122.

- SCHMIDT, C. J. / WHITTEN, B. K. / NICHOLAS, D. D., 1981. A proposed role for oxalic acid in nonenzymatic wood decay by brown-rot fungi.- Proceedings, American Wood Preservation Association 77: 157-164.
- STEPHAN, I. / LEITHOFF, H. / PEEK, R. D., 1996. Microbial conversion of wood treated with salt preservatives.- Material und Organismen 30, 4: 179-199.
- SUTTER, H. P. / JONES, E. B. G. / WÄLCHLI, O., 1983. The mechanism of copper tolerance in *Poria placenta* (Fr.) Cke. and *Poria vaillantii* (Pers.) Fr.- Material und Organismen 18, 6: 241-262.
- TAKAO, S., 1965. Organic acid production by basidiomycetes: I. Screening of acid-producing strains.- Applied Microbiology 13, 12: 732-737.
- 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.
- WOODWARD, B. / DE GROOT, R., 1999. Tolerance of *Wolfiporia cocos* isolated to copper in agar media.- Forest Products Journal 49, 3: 87-94.
- ZABEL, R. A., 1954. Variations in preservative tolerance of wood-destroying fungi.- Forest product research society journal 4, 2: 166-169.

ZAHVALA

ACKNOWLEDGEMENT

Avtorji se zahvaljujejo Biffaward, Protimsolignum-Osmose, Arch Timber Protection in CSI Timber Protection za financiranje raziskave.