

Fonds zur Förderung der Wald- und Holzforschung
c/o Eidg. Forstdirektion
Herrn M. Gautschi
Papiermühlestr.17
3003 Bern

1. Februar 2006

Projektnummer 2005.01

**Schlussbericht Fonds
zur Förderung der Wald- und Holzforschung**

**Behandlung von Fichten- und Tannenkernholz mit *Physisporinus vitreus* zur
Verbesserung der Wegsamkeit**

PD Dr. F.W.M.R. Schwarze und Dr. Klaus Richter

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung.....	3
2	Einleitung	4
2.1	Zielsetzungen	5
3	Behandlung von Fichten- und Tannenkernholz mit <i>Physisporinus vitreus</i> zur Verbesserung der Wegsamkeit	7
3.1	Material und Methoden.....	7
3.2	Ergebnisse	9
4.	Eindringung von Oberflächenbehandlungsmitteln in Holz, welches mit <i>Physisporinus vitreus</i> vorbehandelt wurde (Tauchverfahren)	12
4.1.	Material und Methoden.....	12
4.2	Ergebnisse	13
5.	Eindringung von Oberflächenbehandlungsmitteln in Holz, welches mit <i>Physisporinus vitreus</i> vorbehandelt wurde (Tauch- und Streichverfahren).....	17
5.1	Material und Methoden.....	17
5.2	Ergebnisse	18
6.	Verbesserung der biologischen Wirksamkeit von konventionellen Oberflächenanstrichen gegen Bläue- und Schimmelpilze	23
6.1	Material und Methoden.....	23
6.2	Ergebnisse	25
7.	Schlagbiegeversuche an Fichten- und Tannenkernholz, welches mit <i>Physisporinus vitreus</i> vorbehandelt wurde	26
7.1	Material und Methoden.....	26
7.2	Ergebnisse	27
8.	Aktivitätsnachweis von <i>Physisporinus vitreus</i> im infizierten Fichten- und Tannenkernholz nach Trocknung, erneuter Holzbefeuchtung und Druckimprägnierung mit praxisrelevanten Holzschutzmitteln	29
8.1	Material und Methoden.....	29
8.2	Ergebnisse	31
9.	Histologische Untersuchungen zum Abbauverhalten von <i>Physisporinus vitreus</i> in Fichten- und Tannenkernholz.....	34
9.1.	Material und Methoden.....	34
9.2.	Ergebnisse	35
10.	Diskussion	38
11.	Literatur	42

1. Zusammenfassung

Bei den Nadelhölzern aus der Familie der Pinaceen wie *Abies*, *Larix*, *Picea* und *Pinus* ist bei den Hoftüpfeln der mittlere Teil der Tüpfelmembran zu einem so genannten Torus verdickt. Nach einem Verschluss der Hoftüpfel wird der Wassertransport zwischen benachbarten Tracheiden stark erschwert. Die Inkrustierung des Margos während der Kernholzbildung mit Polyphenolen hat zur Folge, dass selbst nach einer Behandlung mit Vakuum-Druckimprägnierung Schutzmittel nur sehr geringe Eindringtiefen im Fichtenholz erreichen. Im Rahmen der vorliegenden Studien sollten die Grundlagen für ein biotechnisches Verfahren zur Verbesserung der Aufnahme, Verteilung und Eindringtiefe von Imprägniermitteln in Fichtenholz entwickelt werden. Für diesen Zweck wurden Tannen- und Fichtenkernholzproben mit zwei Stämmen des Weissfäuleerregers *Physisporinus vitreus* vorbehandelt und untersucht, ob mittels kontrollierter Abbauprozesse die Tränkbarkeit des Holzes positiv verändert werden kann. Bereits nach einer sechswöchigen Vorbehandlung konnte an Fichtenkernholzproben eine Zunahme der Tränkbarkeit von 300 - 400 % in Fichten- bzw. von 500 - 600 % in Tannenkernholzproben ermittelt werden. Dabei wurde keine signifikante Minderung der Schlagbiegefestigkeit an Fichtenkernholzproben festgestellt. Die Erhöhung der Tränkbarkeit führte zwar nicht zu einer besseren quantitativen Aufnahme wasserlöslicher Anstrichsysteme (im Anstrich- und Tauchverfahren), aber die bläuefreie Zone im Fichtenkernholz wurde deutlich verbessert. Im Vergleich zu unbehandelten Proben, konnte der Wirkstoff IPBC an Holzproben, welche zuvor mit *P. vitreus* behandelt wurden, nach dem Streichen offenbar tiefer in das Holz eindringen. Die histologischen Untersuchungen verdeutlichen, dass die erhöhte Tränkbarkeit von Fichten- und Tannenkernholz nach Vorbehandlung mit *P. vitreus* mit dem Toriabbau in den Tracheiden und Kreuzungsfeldtüpfeln im Holzstrahlparenchym korreliert. Die Studien zum Aktivitätsnachweis zeigten, dass *P. vitreus* nach Abschluss der Behandlung im Holz überdauern kann. Deshalb ist es erforderlich, das Wachstum des Pilzes mittels eines Fungizids oder durch Dampfsterilisation abzutöten. Ein alternatives Verfahren, welches im Rahmen der vorliegenden Studien nicht näher untersucht werden konnte, ist der Einsatz von Mikrowellen. Trotz dieser Einschränkung sind die Ergebnisse vielversprechend. Bei erfolgreicher Umsetzung könnten eine Vielzahl von Behandlungs- und Veredelungsprozessen von Fichtenholz effizienter und wertschöpfender gestaltet und damit die wirtschaftliche Nutzung der wichtigsten Baumart der Schweiz massgeblich verbessert werden. Aus den Ergebnissen und Schlussfolgerungen dieser Studien konnte wurde Antrag auf Erteilung eines Patents beim Deutschen Patentamt eingereicht.

2. Einleitung

Mit einem Anteil von 48 % am Holzvorrat des Waldes ist die Fichte (*Picea abies* Karst.) die mit Abstand wichtigste Baumart in der Schweiz. Fichtenholz besitzt eine geringe natürliche Dauerhaftigkeit und ist zudem nur schwer ausreichend mit Holzschutzmitteln tränkbar. Verantwortlich für diese schlechte Imprägnierbarkeit sind vor allem die im getrockneten Holz „verschlossenen“ Hoftüpfel (Abb. 1), die im lebenden Baum als Verbindungswege für Flüssigkeiten zwischen aneinandergrenzenden Zellen (Tracheiden) dienen. Der Flüssigkeitsaustausch zwischen den Tracheiden (Festigungs- und Wassertransportgewebe) und den Parenchymzellen (Speichergewebe) der Holzstrahlen wird durch die einfach behoften Tüpfel behindert (Abb. 1).

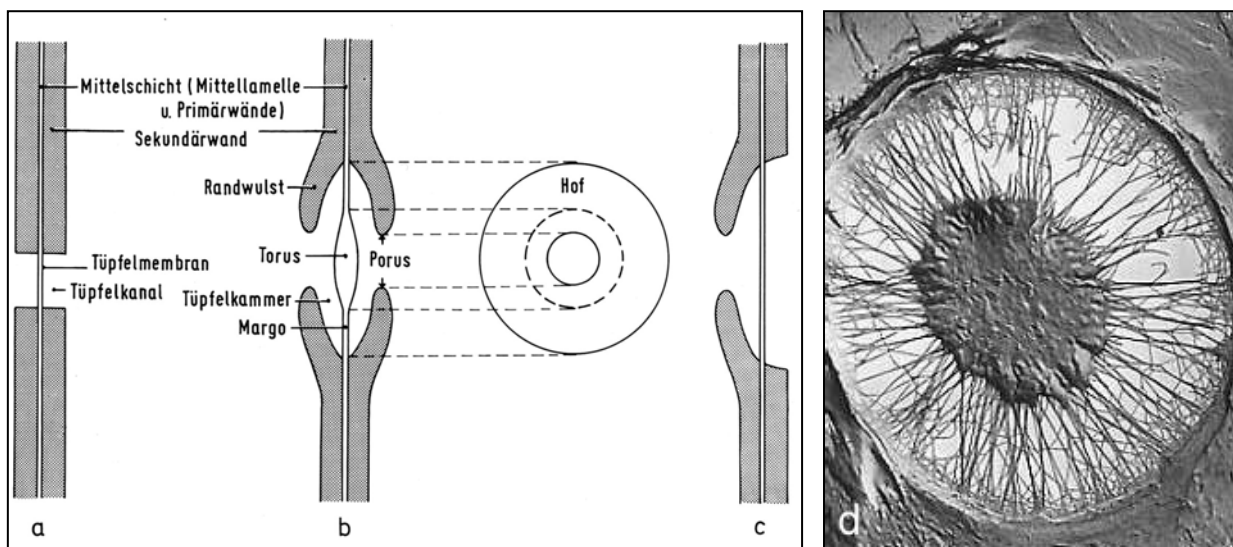


Abbildung 1: Schematische Darstellung verschiedener Tüpfeltypen: Einfache Tüpfel (**1a**), Hoftüpfel (**1b**), einseitig behofter Tüpfel (**1c**) z.B. zwischen Tracheide und Parenchymzelle (aus Grosser 1977). Bei den Nadelhölzern aus der Familie der Pinaceen ist bei den Hoftüpfeln der mittlere Teil der Tüpfelmembran zu einem so genannten Torus verdickt. Der zentral gelegene (konvex, linsenförmig gestaltete) Torus hat eine größere Ausdehnung als die von der Sekundärwand gebildete Porus (Öffnung) des Hoftüpfels (**1b**). Der Torus wird durch Primärwandmaterial (Margo) in seiner Position gehalten (**1d**). Der Margo besteht aus einem Netz aus radial angeordneten, sich zum Teil überkreuzenden Fibrillen, in denen der Torus "aufgehängt" erscheint (**1d**).

Der nicht verdickte und als Margo bezeichnete äussere Bereich der Tüpfelmembran ist für Flüssigkeiten durchlässig. Die Tüpfelmembran ist dehnbar, so dass sie als Ventil wirkt. Bei Druckänderung oder Lufteinbruch in das Zelllumen legt sich der Torus dicht an den Porus und verschliesst den Tüpfel.

Im Laufe der Jahre sind unterschiedliche biotechnische Versuche unternommen worden, um die Wirkung des Tüpfelverschlusses im Fichtenholz rückgängig zu machen (Bergmann 1984; Morrel & Morris 2002; Rosner et al. 1998; Tucker et al. 1998a,b). Bisher wurde keine industrielle Anwendung erfolgreich umgesetzt (Willeitner 1971; Militz 1993a,b). Aus wassergelagertem Stammholz wurden zahlreiche Bakterienstämme isoliert, die innerhalb weniger Wochen die im Splintholz nicht lignifizierten Margofäden der Hoftüpfel abbauten und dadurch die Wegsamkeit erhöhten (Liese 1955; Ellwood & Eckland 1959; Bauch et al. 1970; Forgarty 1973; Johnson 1979). Eine praktische Umsetzung scheiterte aufgrund der ungleichmässigen Überaufnahme von Schutzmitteln oder Farbanstrichen (Willeitner 1971). In Versuchen mit Fichtensägespänen zeigte Militz (1993a,b), dass durch eine Enzymbehandlung die Imprägnierbarkeit von Fichtensplintholz moderat und das von Fichtenkernholz nur im geringen Umfang erhöht wurde. Des weiteren konnten sowohl die Eindringtiefe als auch die Wasseraufnahme gesteigert werden (Militz 1993a,b). Am wirkungsvollsten erwiesen sich Mischpräparate mit verschiedenen Pectinase-, Cellulase- und Hemicellulaseaktivitäten. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen belegten, dass die Tüpfel des Kernholzes aufgrund ihrer dicken Struktur und polyphenolischen Inkrustierungen gegenüber Enzymen resistenter sind, und somit der Abbau langsamer verläuft als bei Splintholztüpfeln (Militz 1993a,b). Ein weiterer Grund für den geringen Einfluss der Enzymbehandlungen könnte auch darin zu suchen sein, dass die Verbesserung der Imprägnierbarkeit nicht nur auf einem enzymatischen Abbau der doppelt behafteten Tüpfel beruht, sondern dass auch der Abbau der Kreuzungsfeldtüpfel im Holzstrahlparenchym von Bedeutung ist (Nicholas & Thomas 1968). Der Nachteil der Enzymbehandlungen besteht in ihrer geringen Stabilität und dem Zeit- sowie Kostenaufwand der Behandlungen. Zusammenfassend ist zu sagen, dass die für eine wirtschaftliche Anwendung notwendige Erhöhung der Wegsamkeit des Fichtenholzes mit Enzymen nicht erreicht werden konnte.

2.1 Zielsetzungen

Das Ziel der vorliegenden Studie besteht in der Entwicklung eines biotechnischen Verfahrens zur Verbesserung der Aufnahmefähigkeit, Verteilung und Eindringtiefe von Imprägniermitteln in Fichtenholz. Man versteht unter dem Begriff "Imprägniermittel", alle flüssig- oder gasförmig ins Holz einzubringende Veredelungssubstanzen.

Dieses Verfahren soll als Alternative und Verfahrensverbesserung für bisher in der Holzschutzpraxis eingesetzte mechanische Vorbehandlungen (Incising, Bohrperforation) dienen (Anon 1999a,b, Kropf und Peyresaubes 1986; Richter 1989). Durch eine biotechnische Vorbehandlung des Holzes mit *Physisporinus vitreus* wird eine partielle bzw. völlige Auflösung der Tüpfelkomponenten und somit eine Verbesserung der Permeabilität des Holzes erreicht.

Konkret sollten folgende Fragen beantwortet werden:

- Wird die Wegsamkeit von Fichten- und Tannenkernholz, welches mit *P. vitreus* vorbehandelt wurde, signifikant verbessert?
- Führt der selektive Abbau der Tori zu einer homogenen Aufnahme von Flüssigkeiten bei der Vakuum-Druckimprägnierung von Holz?
- Wird das Eindringverhalten von Oberflächenbehandlungsmitteln ins Holz, welches mit *P. vitreus* behandelt wurde, positiv beeinflusst?
- Wird die biologische Wirksamkeit von konventionellen Oberflächenanstrichen an Holz, welches mit *P. vitreus* behandelt wurde, gegen Bläue- und Schimmelpilze verbessert?
- Führt eine Vorbehandlung des Holzes mit *P. vitreus* zu einer signifikanten Festigkeitsänderung?
- Ist *P. vitreus* im infizierten Holz nach Trocknung, erneuter Holzbefeuchtung und Druckimprägnierung mit praxisrelevanten Holzschutzmitteln weiterhin aktiv?
- Welchen Einfluss hat die Pilzbehandlung auf die makro- und mikroskopische Erscheinung des Holzes?
- Wie muss eine Pilotanlage konzipiert sein?

Bei erfolgreicher Umsetzung (Labor (in diesem Projekt) → Pilotanlage → Industrie) könnte eine Vielzahl von Behandlungs- und Veredelungsprozessen von Fichtenholz effizienter und wertschöpfender gestaltet werden und damit die wirtschaftliche Nutzung der wichtigsten Baumart der Schweiz massgeblich verbessert werden.



Abbildung 2: Resupinater Fruchtkörper des Weissfäulerregers *Physisporinus vitreus* an einem Fichtenstubben.

3. Behandlung von Fichten- und Tannenkernholz mit *Physisporinus vitreus* zur Verbesserung der Wegsamkeit

Im Gegensatz zu Bakterien und Enzymen bietet der Einsatz holzzersetzender Pilze im Zusammenhang mit der gezielten Verbesserung der Wegsamkeit wesentliche Vorteile. Die Hyphen von Weissfäuleerregern können das Splint- und Kernholz gleichmässig besiedeln und sind in der Lage, die lignifizierten und inkrustierten Tüpfelmembranen im Kernholz abzubauen. Auffälligstes Merkmal des Holzzersetzungsmusters von *P. vitreus* an natürlich wie künstlich infiziertem Fichten- und Douglasienholz ist die bereits im Frühstadium der Holzzersetzung starke Zerstörung der Hoftüpfel zwischen den Tracheiden (Schwarze & Landmesser, 2000). Im Rahmen dieser Studie sollte untersucht werden, ob der bevorzugte Abbau der Hoftüpfel durch den Pilz zu einer signifikanten Erhöhung der Wegsamkeit im Fichten- und Tannenkernholz führt. Eine quantitative Erhöhung der Wegsamkeit des Holzes wurde mittels Wasseraufnahme in Kernholzproben vor- und nach der Pilzbehandlung ermittelt. Mittels des blauen Farbstoffes Neolan Glaucin E-A wurden ausserdem Unterschiede in der qualitativen Aufnahme und Verteilung des Wassers bonitiert.

3.1 Material und Methoden

Für die Untersuchungen wurden zwei Reinkulturen von *Physisporinus vitreus* (EMPA 642 und EMPA 643), in Kolleschalen auf 4,0 % MEA angezüchtet. Die Pilzvorkultivierung erfolgte gemäss SOP 000588. Unbehandelte, stirnseitig abgedichtete Kernholzproben (*Picea abies* und *Abies alba*) wurden zur Erfassung der Volltränkbarkeit in entmineralisiertem Wasser bzw. unter Zugabe des blauen Farbpigments Neolan Glaucin E-A vor und nach der Pilzexposition vollgetränkt. Es wurden Holzproben mit möglichst grossem Kernholzanteil ausgewählt. Zur Erfassung des Einflusses der Mantelfläche/Querschnittsabmessungen wurden die Untersuchungen anhand von zwei verschiedenen Probenabmessungen durchgeführt:

100 mm (Faserrichtung) x 10 mm x 15 mm (radial)

100 mm (Faserrichtung) x 25 mm x 15 mm (radial)

Vor der Pilzexposition zur Bestimmung der ersten Volltränkbarkeit (Ausgangs-Volltränkbarkeit ohne Pilzeinwirkung) wurden sämtliche Holzproben 2x im Intervall von 24 h mit Nuvovern, ACR-Emallack, glänzend weiss (2-Komponenten-Polyurethanlack der Fa. Mäder Lacke AG, Killwangen, CH) abgedichtet. Die abgedichteten Holzproben wurden zur Bestimmung des Anfangsdarrgewichtes während 18 - 24 h im Trockenschrank bei 103° C getrocknet (DIN EN 113). Anschliessend wurden die Holzproben bei einem Unterdruck von 7mbar für 20 Min. in entmineralisiertem Wasser evakuiert und nach zweistündiger Lagerung in Wasser, durch Wägen,

die aufgenommene Flüssigkeitsmenge bestimmt. Die Volltränkbarkeit des Kernholzes wurde vor und nach der Behandlung in kg/m³ ermittelt.

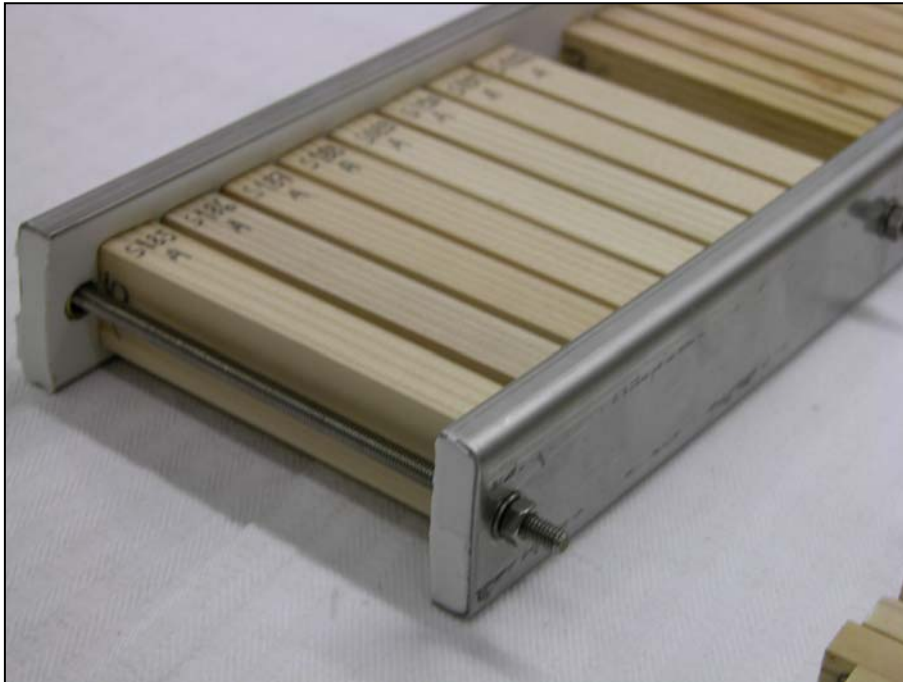


Abbildung 3: Um die Aufnahme von Flüssigkeit über die Hirnseiten während der Druckimprägnierung zu verhindern, wurden die Holzproben mit Weichsilikon überzogen und mit Metallschienen eingespannt. Anschliessend erfolgte eine Imprägnierung in eine wässrige Lösung des blauen Farbstoffes Neolan Glaucin E-A.

Die Pilzexposition erfolgte in Kolleschalen (in Anlehnung an DIN EN 113) über Glasbänkchen, sobald das Pilzmyzel den Nährboden komplett überwachsen hatte. Die sechswöchige Inkubation der Holzproben erfolgte bei $22 \pm 1^\circ\text{C}$ und $70 \pm 5\%$ rel. Luftfeuchtigkeit. Nach Entfernen des anhaftenden Oberflächenmyzels wurden die einzelnen Holzproben gewogen, um später den Feuchtigkeitsgehalt der Holzproben bei Versuchsende anhand des Enddarrgewichtes zu berechnen. Ein möglicher Gewichtsverlust durch Pilzangriff wurde anhand von Anfangsdarr- und Enddarrgewicht erfasst, und mittels sterilen Kontrollen (Nullwerte) korrigiert. Nach der Pilzexposition zur Bestimmung der zweiten Volltränkbarkeit (verbesserte Volltränkbarkeit nach Pilzeinwirkung) wurden die feuchten Holzproben zunächst während 48 h im Trockenschrank bei 30°C vorgetrocknet und anschliessend ihre Hirnenden erneut 1x mit Novovern Emaillack abgedichtet. Anschliessend erfolgte die zweite Volltränkung (gemäss DIN EN 113). Zu diesem Zweck wurden die Holzproben erneut während 18 - 24 h bei 103°C darrgetrocknet (Bestimmung des Enddarrgewichtes). Die erneut abgedichteten Hirnenden der pilzexponierten Holzproben wurden zusätzlich mechanisch abgedichtet, um einer Rissbildung entgegenzuwirken. Dazu wurden die Stirnseiten mit Weichsilikon überzogen und mit Metallschienen hirnseitig eingespannt und in einer wässrigen Lösung von 0,1% Neolan Glaucin E-A, wie oben beschrieben, imprägniert. Ein t-

test zum Nachweis von hoch signifikanten Unterschieden ($p \leq 0.05$) in der Lösungsaufnahme zwischen den Kontrollproben und den behandelten Proben, wurde in Origin 7.5 (Microcal Software Inc.) durchgeführt.

3.2 Ergebnisse

Nach einer Inkubationszeit von sechs Wochen, wurden keine nennenswerten Masseverluste durch *P. vitreus* im Kernholz von *Picea abies* und *Abies alba* verursacht. Die verzeichneten Masseverluste beider EMPA-Stammkulturen lagen jeweils $\leq 1,0$ % (Tabelle 1).

Tabelle 1: Masseverluste (in Gramm) der Kernholzproben von *Picea abies* und *Abies alba* nach 6 Wochen Inkubationszeit mit *Physisporinus vitreus*. (EMPA-Stamm 642 und 643).

<u><i>Picea abies</i></u>				
	<u>15 cm³</u>		<u>37,5 cm³</u>	
	r_0 (g cm ⁻³)	Masseverlust (g)	r_0 (g cm ⁻³)	Masseverlust (g)
Kontrolle	0,40±0,04	-	0,38±0,02	-
Empa 642	0,38±0,04	0,9±0,35	0,39±0,05	0,8±0,24
Empa 643	0,39±0,04	0,8±0,29	0,39±0,03	0,8±0,24
<u><i>Abies alba</i></u>				
	<u>15 cm³</u>		<u>37,5 cm³</u>	
	r_0 (g cm ⁻³)	Masseverlust (in g)	r_0 (g cm ⁻³)	Masseverlust (g)
Kontrolle	0,40±0,02	-	0,40±0,02	-
Empa 642	0,38±0,02	0,9±0,36	0,38±0,03	0,7±0,24
Empa 643	0,39±0,03	0,7±0,24	0,40±0,02	0,7±0,35

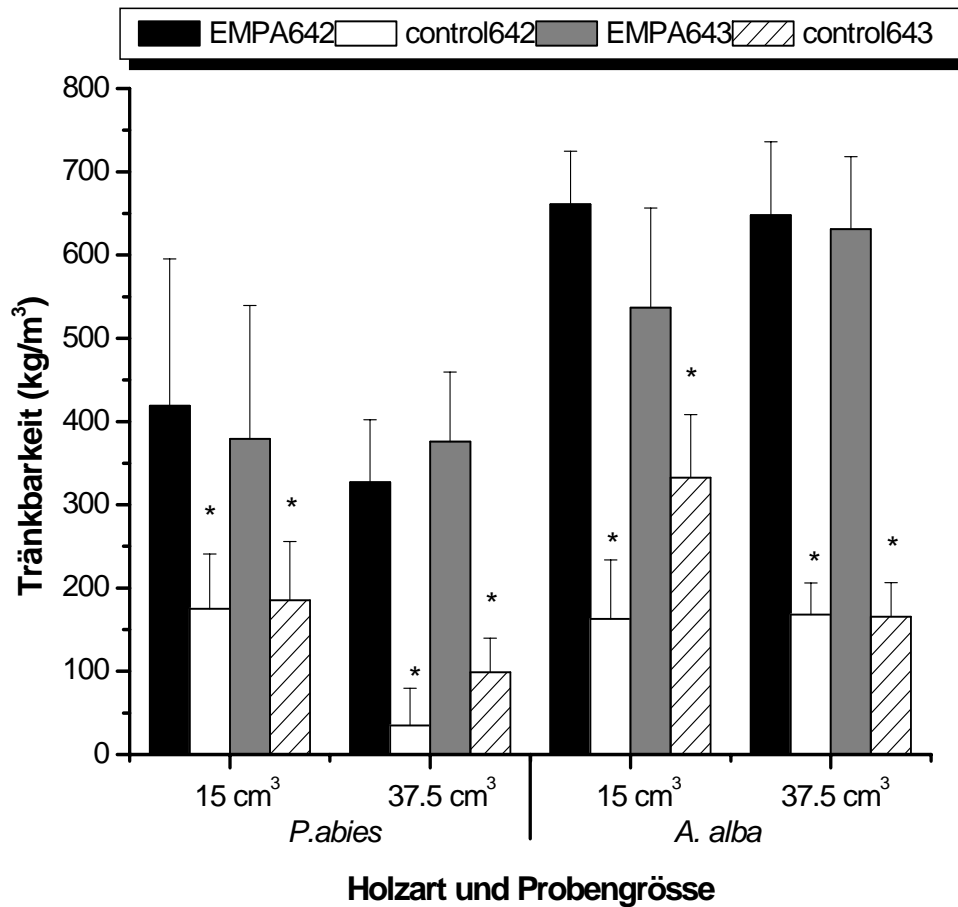


Abbildung 4: Tränkbarkeit von Fichten- und Tannenkernholz nach 6-wöchiger Inkubationszeit mit zwei Stämmen von *Physisporinus vitreus*. (n=16). Sternchen weisen auf signifikante Unterschiede in der Tränkbarkeit zwischen unbehandelten Kontrollen, behandelten Proben und Holzarten.

Nach sechswöchiger Inkubationszeit, konnte im Vergleich zu den Kontrollen eine deutliche Steigerung der Volltränkbarkeit an den pilzvorbehandelten Kernholzproben verzeichnet werden (Abb. 4). An Fichtenkernholzproben wurde eine Zunahme der Tränkbarkeit von 300 - 400 %, an Tannenkernholzproben sogar von 500 - 600 % ermittelt (Abb. 2). Die grösser dimensionierten Kernholzproben wiesen zum Teil eine stärkere Erhöhung der Volltränkbarkeit auf, als die kleineren Kernholzproben (Abb. 5). Die qualitative Veränderung der Tränkbarkeit wird anhand des blauen Farbstoffes Neolan Glaucin E-A verdeutlicht (Abb. 5).

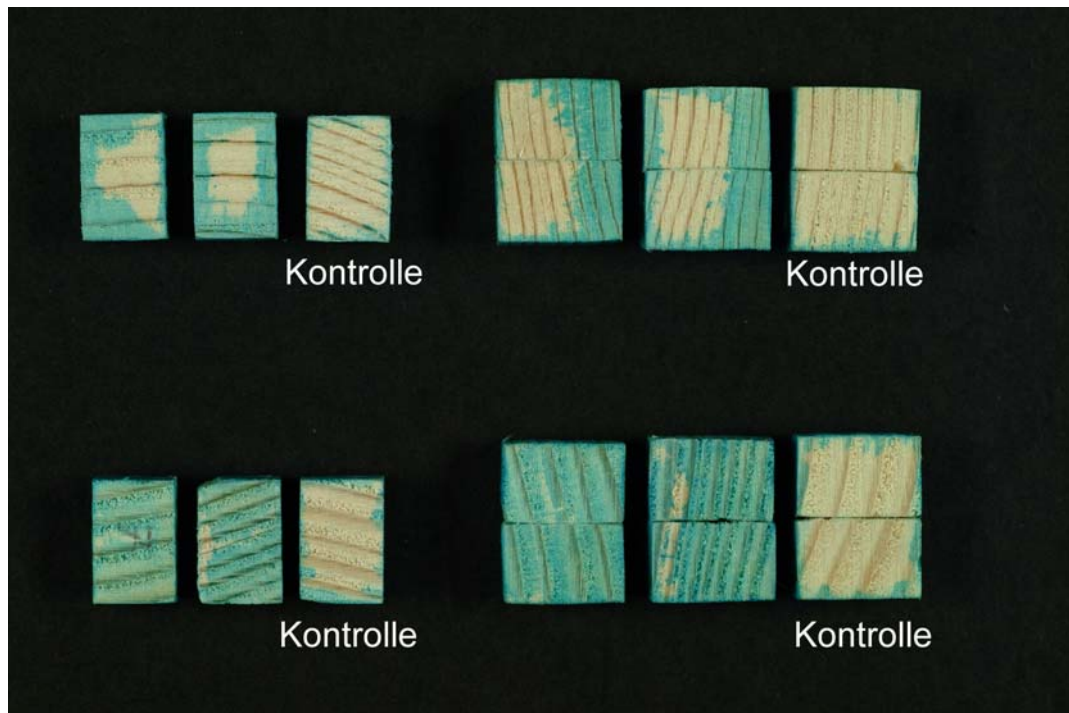


Abbildung 5: Aufnahme und Verteilung von Neolan Glaucin E-A in Fichten- und Tannenkernholzproben nach sechswöchiger Inkubationszeit mit zwei Stämmen von *Physisporinus vitreus*. Obere Reihe Fichtenkernholz; untere Reihe Tannenkernholz. Im Vergleich zu den unbehandelten Kontrollen nehmen die behandelten Holzproben deutlich mehr des blauen Farbstoffes auf.

Im Vergleich zu den Kontrollen konnte an den pilzvorbehandelten Proben eine stärkere Verfärbung nachgewiesen werden. Kernholzproben von *A. alba* waren homogen und über den ganzen Querschnitt bläulich verfärbt. An Kernholzproben von *P. abies* konnte zum Teil eine heterogene Färbung verzeichnet werden, welche auf die einseitige Besiedlung der Holzproben durch das Pilzmyzel während der Inkubationszeit zurückzuführen ist (Abb. 5). An den unbehandelten Kontrollproben war lediglich eine geringe Verfärbung in Randbereichen erkennbar.

Die Ergebnisse zeigten zweifelsfrei, dass eine Vorbehandlung des Kernholzes von *P. abies* und *A. alba* mit *P. vitreus* zu einer signifikanten Zunahme der Tränkbarkeit des Kernholzes führt. Es kann daher angenommen werden, dass der enzymatische Abbau der Tüpfelmembranen durch den Weißfäuleerreger *Physisporinus vitreus* (EMPA Stammkulturen 642 und 643) somit hervorragend geeignet ist, um die Wegsamkeit des Kernholzes zu erhöhen und das Eindringen von fungizid ausgestatteten Grundierungen und Lasuren für die Oberflächenbehandlung zu verbessern.

4. Eindringung von Oberflächenbehandlungsmitteln in Holz, welches mit *Physisporinus vitreus* vorbehandelt wurde - Tauchverfahren

Der Toriabbau und die verzeichnete Erhöhung der Wegsamkeit von Fichtenholz durch eine Vorbehandlung mit *P. vitreus* könnten auch zu einer verbesserten Verankerung von Oberflächenbeschichtungen und damit zu einer grösseren Dauerhaftigkeit führen. In einer ersten Versuchsserie sollte die grundsätzliche Richtigkeit dieser Hypothese überprüft werden.

4.1. Material und Methoden

Holzproben: 2 x 12 mm axial gepaarte Proben, 110 x 40 x 15 mm Fichte (*Picea abies*), **halbrift**, pro Probenpaar 'a'-Probe als unbehandelte Kontrolle, 'b'-Probe behandelt. Die Proben wurden für einen Zeitraum von 28 Tagen in Kolleschalen mit zwei Stammkulturen von *P. vitreus* inkubiert. Für die Oberflächenbehandlung (ES115) wurden vier kommerziell erhältliche Oberflächenbehandlungsmittel mit unterschiedlichen Binde- und Lösungsmitteln ausgewählt (Tabelle 2). Die Probenbehandlung erfolgte durch Tauchen (15 sec), welches dem Zeitrahmen für Tauchgrundierungen z.B. bei Fensterbeschichtung (Stirnseite nicht abgedichtet) entspricht. Es wurden jeweils drei Wiederholungsproben pro Behandlungsvariante und Pilzbehandlung/Kontrolle behandelt.

Tabelle 2: Oberflächenbehandlungsmittel, die an unbehandelten und mit *Physisporinus vitreus* behandelten Fichtenkernholzproben geprüft wurden.

Behandlung	Probe	Produkt	Bemerkung	Behandlung	Farbe
1	1-3	ICP	Lösemittelhaltiges Alkyd	Tauchen 15sec	rötlich
2	4-6	Wesso Acryl Tauschgrund	wässriges Acrylat	Tauchen 15sec	weiss
3	7-9	Pentol TGHybrid	wässriges Acryl- Alkyd-Hybrid	Tauchen 15sec	grün
4	10-12	NP118F, eingefärbt mit Rhodamin	wässriges (+ Aceton/Alkohol) Fluoralkensilan	Tauchen 15sec	rötlich

Als Parameter für die Bewertung wurden die Probenmasse, Aufnahmemengen, Oberflächenbehandlungsmittel nass und trocken nach 15 Tauchen und visueller Beurteilung der

Eindringtiefe an geschliffenen Probenquerschnitten (aus Längsmittle der Proben) herangezogen. Auf eine quantitative Bewertung der Eindringtiefe wurde verzichtet.

4.2 Ergebnisse

Bei den behandelten Proben ist kein Masseverlust feststellbar (Abbildung 6). Die etwas grössere Abweichung beim Probenpaar 1 bleibt ungeklärt. Die Aufnahmemengen der Oberflächenbehandlungsmittel sind bei den behandelten 'b'-Proben gegenüber den 'a'-Proben (Referenzprobe ohne Pilzvorbehandlung) nicht erhöht (Abbildung 6).

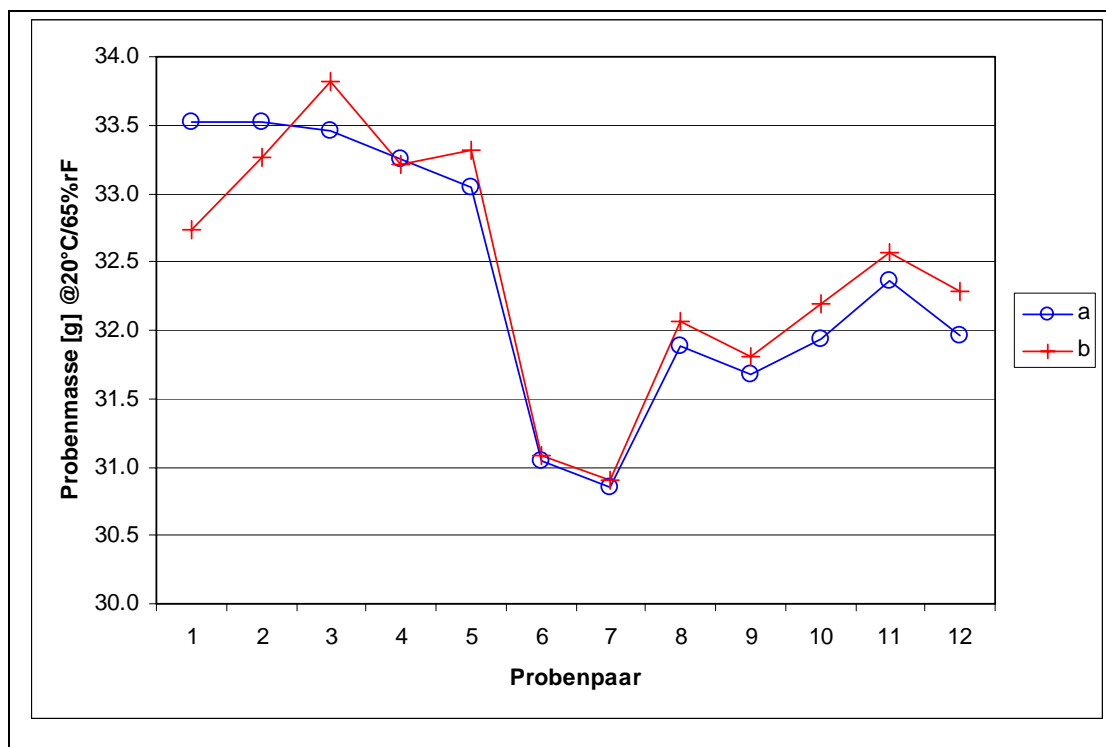


Abbildung 6: Vergleich der Probenmassen der axial gepaarten Proben ('a'-Proben: nicht-pilzvorbehandelte Referenzen, 'b'-Proben: nach Pilzvorbehandlung).

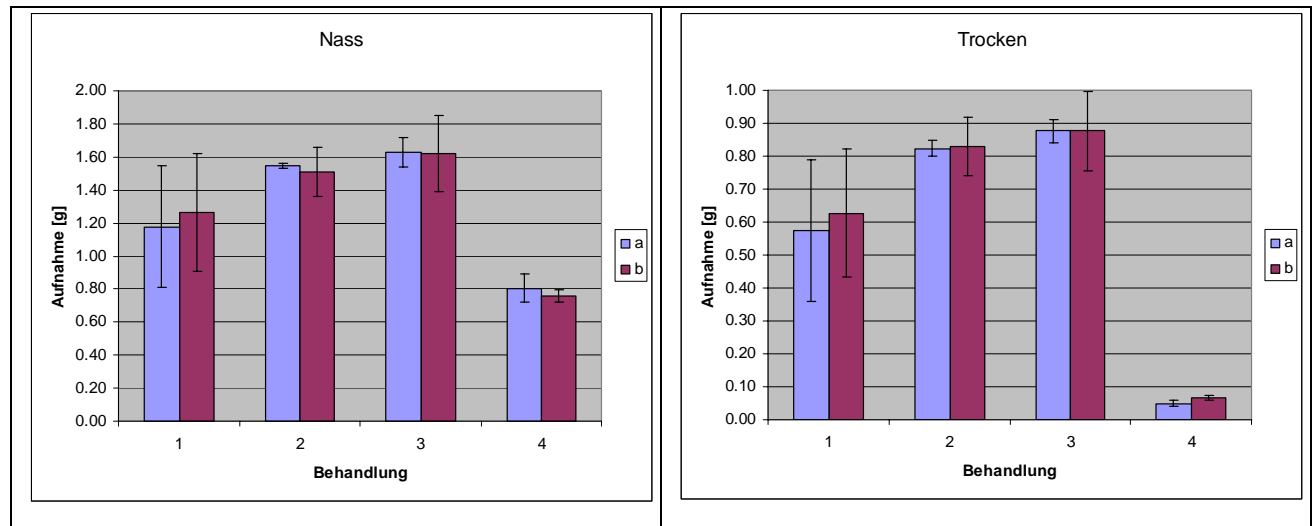


Abbildung 7: Aufnahmemengen der Oberflächenbehandlungsmittel nach 15 Tauchen als Mittelwerte und Standardabweichung von jeweils 3 Wiederholungsproben (links: nass; rechts: trocken).

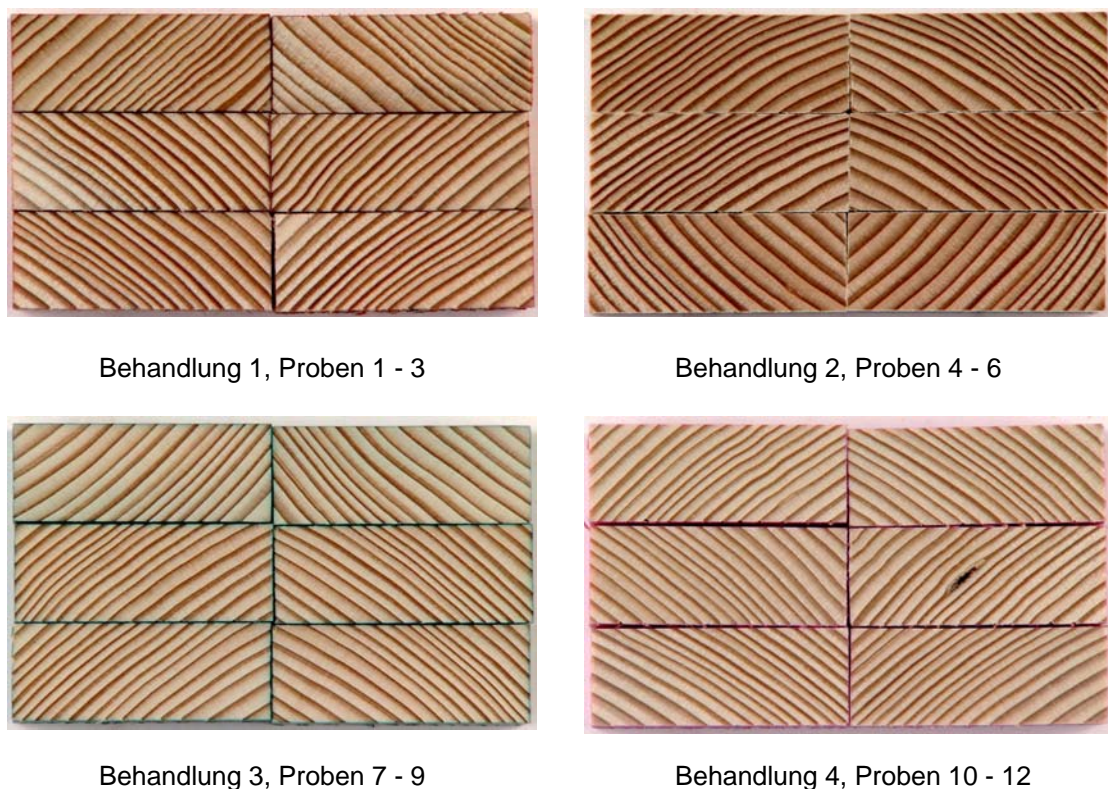
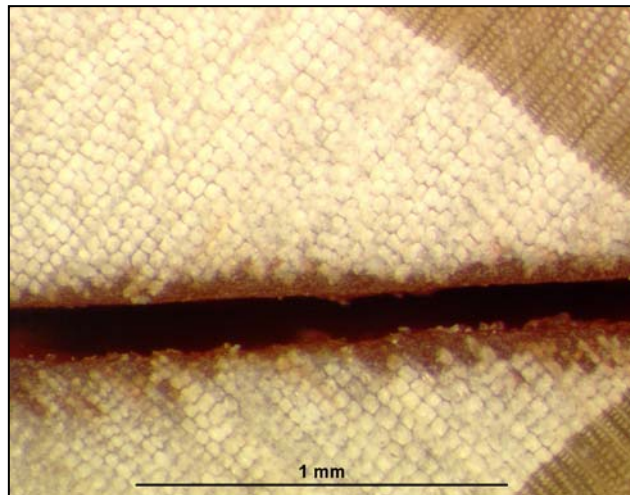
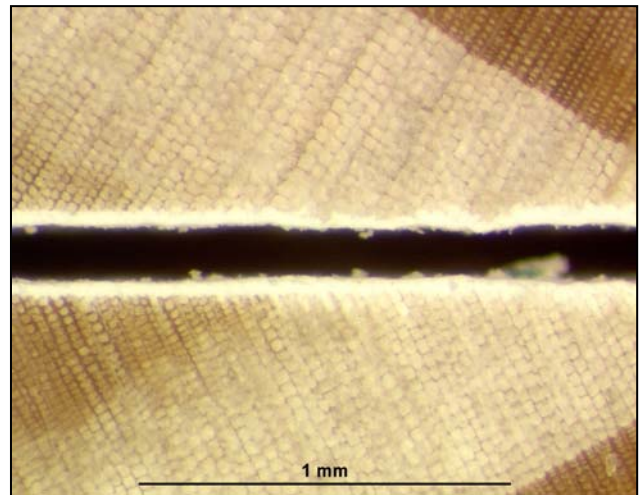


Abbildung 8: Makroskopische Aufnahmen der geschliffenen Holzprobenquerschnitte (Von oben nach unten, unbehandelte 'a'-Holzproben in linker Spalte, behandelte 'b'-Holzproben in rechter Spalte, pilzvorbehandelte Fläche jeweils oben).

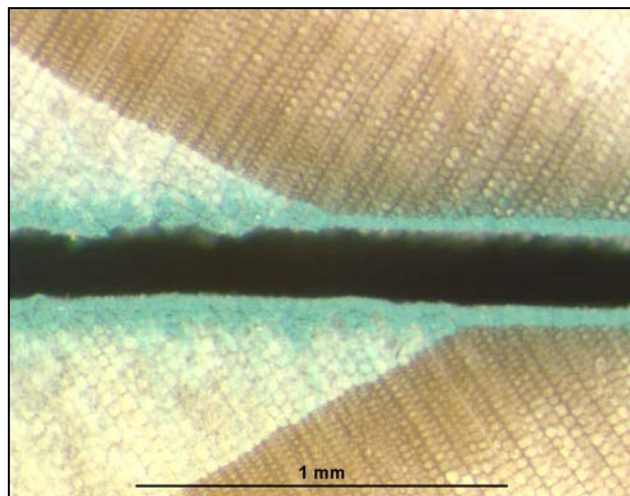
Aus den makroskopischen Aufnahmen der geschliffenen Probenquerschnitte wird die allgemein nur sehr geringe Eindringtiefe ersichtlich (Abb. 8). Die Oberflächenbehandlungsmittel dringen meist nur ein bis zwei Zellreihen tief ein. Bei den Behandlungsvarianten 1 bis 3 ist an der Holzoberfläche ein dünner Beschichtungsfilm vorhanden (Abb. 9).



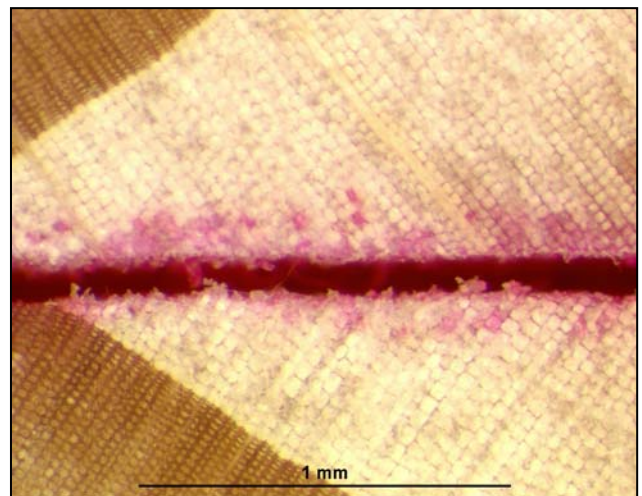
Behandlung 1, Proben 1 - 3



Behandlung 1, Proben 4 - 6



Behandlung 1, Proben 7 - 9



Behandlung 1, Proben 10 - 12

Abbildung 9: Vergleich des Eindringverhaltens zwischen der behandelten Fläche ('b'-Probe, jeweils unten) und der gleichen Fläche resp. dem gleichen Jahrringbereich der unbehandelten Referenz ('a'-Probe, jeweils oben).

Es waren keine grundsätzlichen Unterschiede zwischen den Behandlungsvarianten und insbesondere kein Einfluss der Pilzvorbehandlung erkennbar. Ein Vergleich der Eindringtiefen unter leichter Vergrößerung zeigte ebenfalls keine Verbesserung durch eine Pilzvorbehandlung (Abb.7). Erkennbar ist jedoch das unterschiedliche Eindringverhalten der verschiedenen Oberflächenbehandlungen: Die lösemittelhaltige Behandlung 1 dringt erwartungsgemäss am tiefsten ein, gefolgt von der wässrigen Hydrophobierung mit geringem Festkörpergehalt (Behandlung 7). Das wässrige Acrylat- und das Hybridsystem (Behandlungen 2 und 3) dringen nur sehr wenig ein. Bei den behandelten 'b'-Proben sind zwischen der direkt behandelten Vorderseite und der (obenliegenden) Rückseite keine Unterschiede erkennbar.

5. Eindringung von Oberflächenbehandlungsmitteln in Holz, welches mit *Physisporinus vitreus* vorbehandelt wurde (Tauch- und Streichverfahren)

Da die erste Versuchsserie, mit einer Kurzzeit-Tauchbehandlung (15) mit vier ausgewählten Oberflächenbehandlungsmitteln, keine Erhöhung der Eindringtiefe im Holz ergab, welches mit *P. vitreus* behandelt wurde, sollte mit einer zweiten Versuchsserie überprüft werden, ob bei einer längeren Tauchzeit (30 Minuten) oder einem mechanischen Auftrag (Streichen) der Beschichtungsstoffe ein (positiver) Effekt feststellbar ist.

5.1 Material und Methoden

Acht 'behandelte' (B) und sechs 'unbehandelte' (U) Holzproben, 110 x 40 x 10 mm von Fichte wurden gemäss DIN EN 152.1 behandelt (Tabelle 3). Im Gegensatz zur ersten Versuchsserie sind diese Proben nicht axial gepaart, und es wurden keine Wiederholungsproben eingesetzt. Für die Behandlung 3 standen zudem keine unbehandelten Proben zur Verfügung. Die Holzproben wurden für 28 Tage mit *P. vitreus* inkubiert. Von den verfügbaren 15 behandelten Proben wurden acht zufällig ausgewählt. Die Oberflächenbehandlungen (ES115) erfolgten mit vier ausgewählten, kommerziell erhältlichen Oberflächenbehandlungsmittel gemäss Tabelle 3.

Für die Bewertung wurden die Parameter: Probenmasse, Aufnahmemengen Oberflächenbehandlungsmittel trocken und visuelle Beurteilung der Eindringung an geschliffenen Probenquerschnitten (aus Längsmittle der Proben) herangezogen. Auf eine quantitative Bewertung der Eindringtiefe wurde verzichtet.

Tabelle 3: Oberflächenbehandlungsmittel, die an unbehandelten und mit *Physisporinus vitreus* behandelten Fichtenkernholzproben geprüft wurden.

Behandlung	Probe	Produkt	Bemerkung	Behandlung	Farbe
1	FiB1+FiB2 FiB2+FiU2	ICP	lösemittelhaltiges Alkyd	Tauchen 30 min Streichen	rötlich
2	FiB3+FiB3 FiB4+FiU3	Wesso Acryl Tauchgrund	wässriges Acrylat	Tauchen 15 min Streichen	weiss
3	FiB7 FiB8	Pentol TGHybrid	wässriges Acryl- Alkyd-Hybrid	Tauchen 30 min Streichen	grün
4	FiB5+FiB5 FiB6+FiU6	NP118F, eingefärbt mit Rhodamin	wässriges (+ Aceton/Alkohol) Fluoralkensilan	Tauchen 30 min Streichen	rötlich

5.2 Ergebnisse

Die nachfolgenden Ergebnisse müssen wegen der geringen Probenzahl grundsätzlich als 'orientierend' betrachtet werden. Dies gilt insbesondere für die Detailaussagen zum Verhalten der verschiedenen Oberflächenbehandlungsmittel und der Auftragsweise. Die generelle Schlussfolgerung zur Wirksamkeit der Pilzbehandlung scheint allerdings gesichert zu sein.

Ein allfälliger Masseverlust durch die Pilzbehandlung konnte nicht überprüft werden, da die Ausgangsgewichte der behandelten Proben nicht verfügbar waren und auch keine 'echten' Probenpaare vorhanden sind. Offensichtlich weisen die behandelten Proben aber eine etwas höhere Rohdichte auf als die unbehandelten Referenzproben (Abbildung 10).

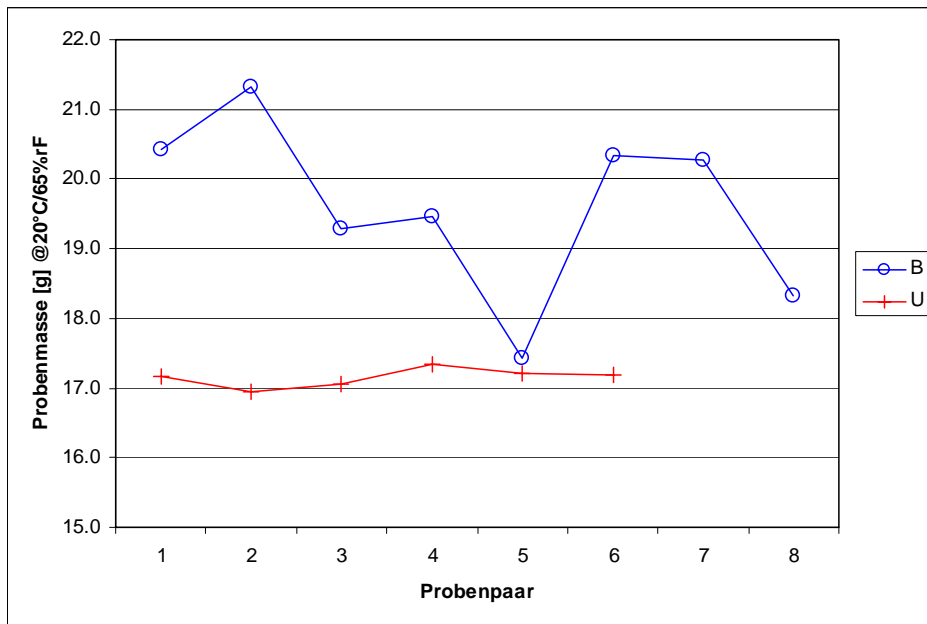


Abbildung 10: Vergleich der Probenmassen der Proben ('B'-Proben: nach Pilzvorbehandlung, 'U'-Proben: nicht-pilzvorbehandelte Referenzen).

Die Aufnahmemengen der Oberflächenbehandlungsmittel sind bei den behandelten 'B'-Proben gegenüber den 'U'-Proben (Referenzproben ohne Pilzvorbehandlung) nicht erhöht (Abb. 11). Ein deutlicher Unterschied in der Aufnahmemenge besteht aber zwischen der Tauchbehandlung und dem Pinselauftrag bei den Behandlungen 2 und 3, wobei die höhere Aufnahme nur auf eine verstärkte Schichtbildung und nicht auf eine tiefere Eindringung zurückzuführen ist.

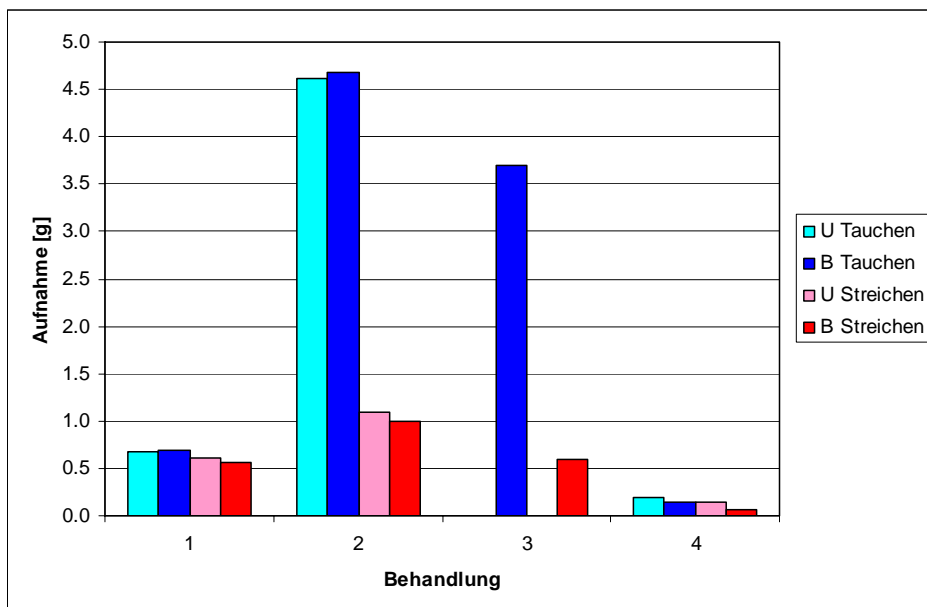


Abbildung 11: Aufnahmemengen (trocken) an Oberflächenbehandlungsmittel nach 30-minütigem Tauchen und Streichen jeweils für eine behandelte und unbehandelte Probe.

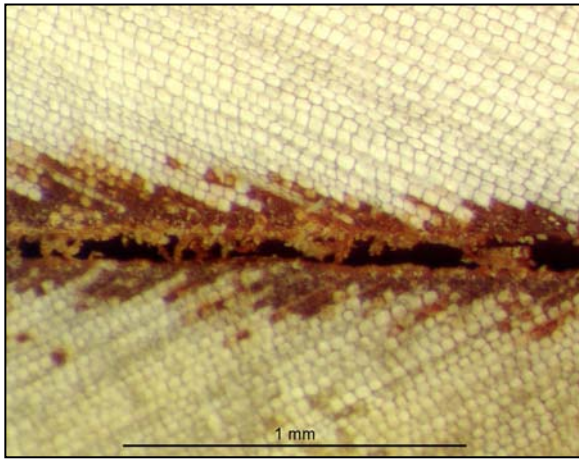
Wegen der unterschiedlichen Filmbildung darf die erfasste Aufnahmemenge generell nicht mit der Eindringtiefe gleichgesetzt werden. Die Eindringtiefen sind meist sehr gering und betragen nur wenige Zellreihen. Nach der Tauchbehandlung ist bei den Behandlungsvarianten 2 bis 3 an der Holzoberfläche ein dicker Beschichtungsfilm vorhanden (Abb. 12 und 13).

Ein Vergleich der Eindringtiefen unter schwacher mikroskopischer Vergrößerung zeigte, wie bei der ersten Versuchsserie, keine generelle Verbesserung durch eine Pilzvorbereitung (Abb. 12 und 13). Als schwache Tendenz ist bei der Behandlung 1 bei den pilzvorbereiteten Proben eine leicht höhere Eindringung (v.a. beim Pinselauftrag) zu beobachten, bei Behandlung 4 jedoch gerade das Gegenteil.

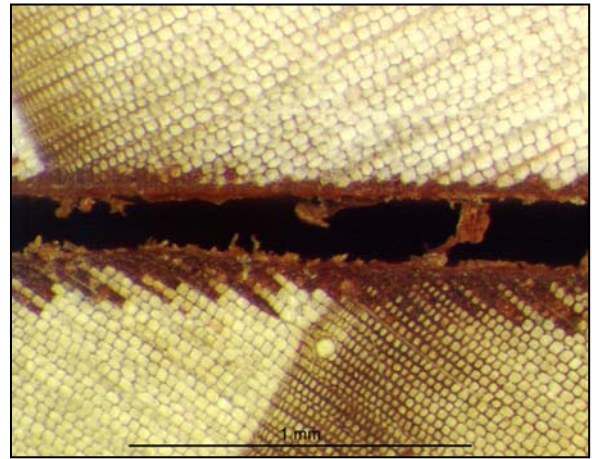
Erkennbar ist wiederum das unterschiedliche Eindringverhalten der verschiedenen Oberflächenbehandlungen. Die lösemittelhaltige Behandlung 1 dringt erwartungsgemäss am tiefsten ein, gefolgt von der wässrigen Hydrophobierung mit geringem Festkörpergehalt (Behandlung 4). Das wässrige Acrylat- und das Hybridsystem (Behandlungen 2 und 3) dringen nur sehr wenig ein. Das Eindringverhalten der verschiedenen Behandlungen ist in beiden Versuchsserien sehr ähnlich (Tabelle 4). Tendenziell ist in der Versuchsserie 2 bei den Behandlungen 1 und 4 ein geringfügigeres Eindringverhalten zu beobachten. Die Tauchbehandlung und der Pinselauftrag führen zu ähnlichen Eindringtiefen (Tabelle 4). Bei den pilzbehandelten 'B'-Proben (und auch bei den Referenzproben) sind zwischen der direkt pilzbehandelten Vorderseite und der (in der Petrischale oben liegenden) Rückseite keine Unterschiede erkennbar (Abbildung 12, Tabelle 4).

Tabelle 4: Vergleich Eindringtiefen Versuchsserie 2 ('B'-Proben: nach Pilzvorbereitung, 'U'-Proben: unbehandelte Referenzen).

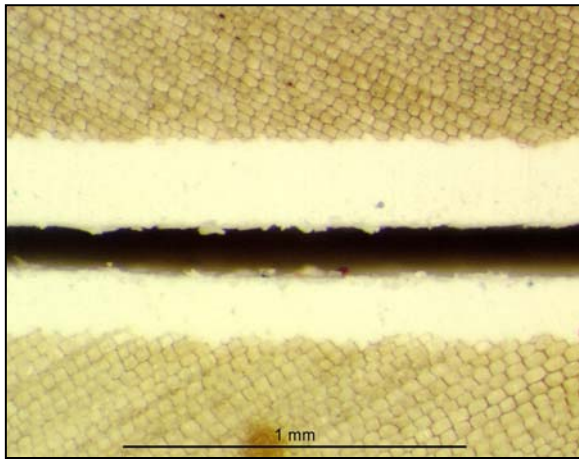
Behandlung	Vergleich mit Serie 1	Vergleich Tauchen/Streichen	Vergleich Vorder-/ Rückseite	Wirkung Pilzvorbereitung
1	2 > 1	T = S	V = R	B > U
2	2 = 1	T = S	V = R	B = U
3	2 = 1	T = S	V = R	kein Vergleich
4	2 > 1	T = S	V = R	B < U



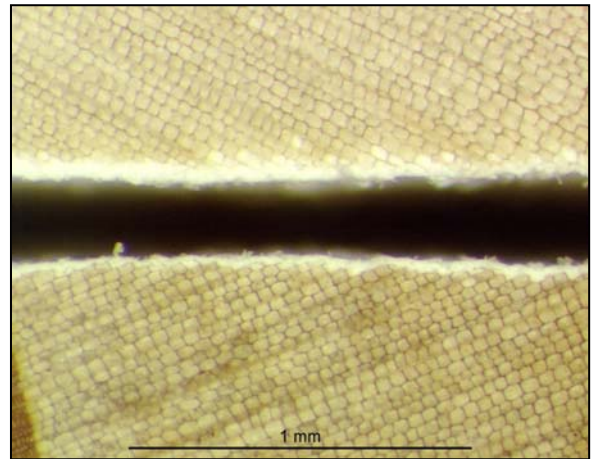
Behandlung 1, Tauchen (30 Min)



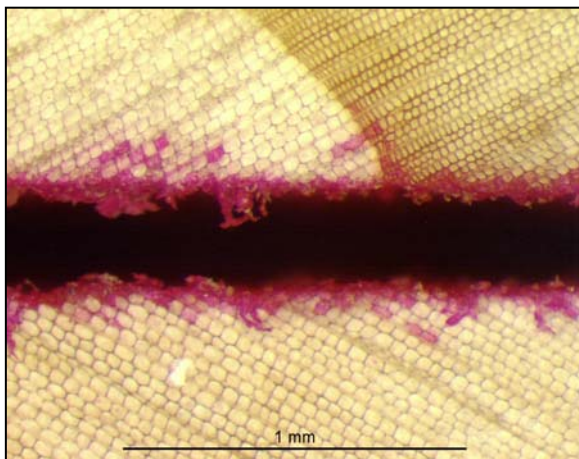
Behandlung 1, Streichen



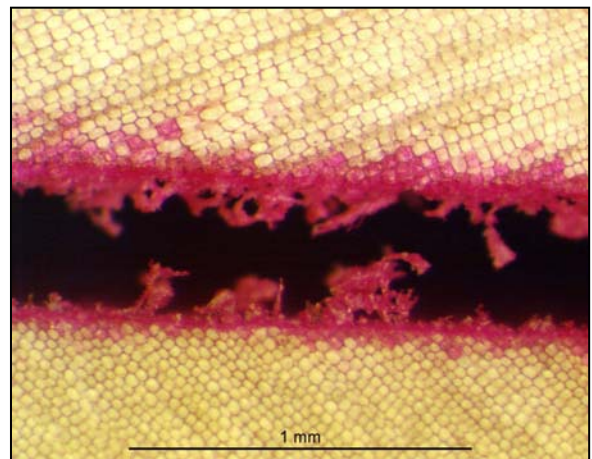
Behandlung 2, Tauchen (30 Min)



Behandlung 2, Streichen

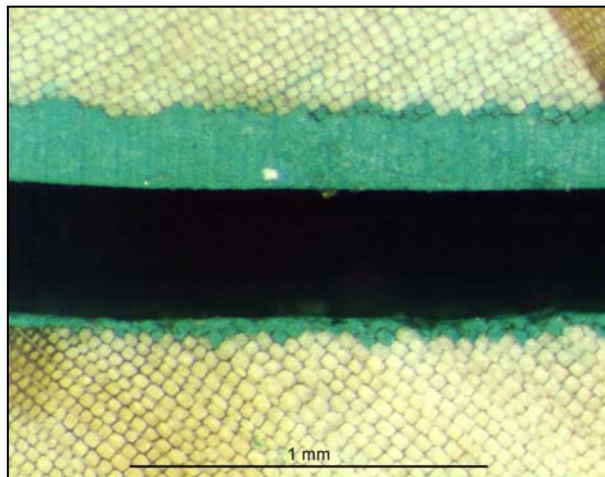


Behandlung 3, Tauchen (30 Min)

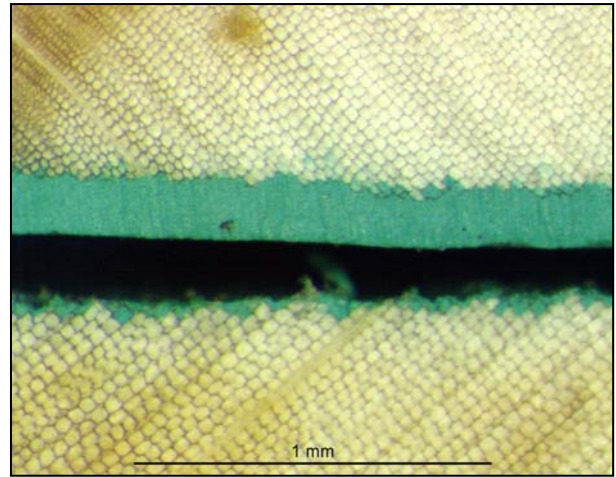


Behandlung 3, Streichen

Abbildung 12: Vergleich der Eindringtiefe zwischen der behandelten Probe (jeweils untere Probe) und der unbehandelten Vergleichsprobe (jeweils obere Probe) für die Behandlungen 1, 2 und 4 (jeweils Proben-'Vorderseiten').



Behandlung 3, Vorderseite



Behandlung 3, Rückseite

Abbildung 13: Vergleich der Eindringtiefe bei behandelten Proben nach 30 Minuten Tauchen (jeweils obere Probe) und nach Pinselauftrag (jeweils untere Probe) mit Behandlung 3.

6. Verbesserung der biologischen Wirksamkeit von konventionellen Oberflächenanstrichen gegen Bläue- und Schimmelpilze

Um eine BAFU-Zulassungsbewilligung für ein Holzschutzmittel zur Oberflächenbehandlung zu erhalten, muss dessen biologische Wirksamkeit nachgewiesen werden. Dazu werden Schutzmittel gegen Bläuepilze für im Freien bewitterte Holzbauteile (Gefährdungsklasse 3) einer Prüfung nach DIN EN 152.1 unterzogen. Hierbei wird nach einer sechsmonatigen Freilandbewitterung und einer anschliessenden sechswöchigen Laborprüfung mit einer Bläuepilzsporensuspension sowohl die Oberfläche des Anstrichsystems visuell bewertet als auch die Tiefenwirkung des Holzschutzmittels im Holz durch die Bestimmung der bläuefreien Zone ermittelt.

6.1 Material und Methoden

Im Rahmen eines an der EMPA durchgeführten KTI-Projektes "Entwicklung eines dauerhaften, fungizidarmen Beschichtungssystems auf Holzfassaden unter Berücksichtigung des integrierten Holzschutzes" wurden an 24 wasserlöslichen Anstrichsystemen eine Reihe mikrobiologischer und physikalischer Untersuchungen durchgeführt. Dabei wurde in Versuchen zur fungistatischen bzw. fungiziden Wirksamkeit des Schutzmittels gegenüber Schimmel- und Bläuepilzen teilweise eine gute Wirkung der gezielt wirkstoffarm eingestellten Formulierungen festgestellt. Dennoch konnten die Schutzsysteme die Prüfung nach DIN EN 152.1 aufgrund einer zu geringen bläuefreien Zone häufig nicht bestehen. Von den 24 untersuchten Anstrichsystemen wurden sechs Systeme für eine Vorbehandlung mit *P. vitreus* ausgewählt (Tabelle 5). Diese sechs Anstrichsysteme wurden nach DIN EN 152.1 jeweils sowohl ohne als auch mit Vorkonditionierung durch *P. vitreus* auf Kiefernspiltholz und zusätzlich auf Fichtenholz geprüft. Die Vorkonditionierung der Holzproben erfolgt über einen Zeitraum von sechs Wochen in Kolleschalen mit *P. vitreus* (Stamm EMPA 642) bei 22 ± 1 °C und 70 ± 5 % relativer Luftfeuchtigkeit. Im Anschluss an die Vorbehandlung erfolgt die Applikation der Anstrichsysteme gemäss den Angaben der Hersteller. Anschliessend wurden jeweils sechs Fichtenkernholzproben einer sechsmonatigen Freilandbewitterung ausgesetzt. Nach der Freilandbewitterung wurde der Laborversuch nach DIN EN 152.1 durchgeführt. Zielsetzung war es, zu untersuchen, ob die bläuefreien Zone auf den vorkonditionierten Holzproben besser abschneiden als auf den unbehandelten Vergleichsproben, und ob sie den vom BAFU geforderten Mittelwert von 1,5 mm erreichen und damit die Prüfung nach DIN EN 152.1 bestehen könnten. Das Eindringvermögen der Beschichtungen ins Holzsubstrat wurde mikroskopisch an beschichteten Holzquerschnitten bestimmt und zwischen behandelten und unbehandelten Holzproben verglichen. Parallel dazu wurde als Qualitätskriterium die Nasshaftung der Beschichtung in Anlehnung an die EN 24624 bestimmt.

Tabelle 5: Anstrichsysteme, welche auf mit *Physisporinus vitreus* behandelten Fichtenkernholzproben aufgetragen und im Rahmen der DIN EN 152.1-Prüfung verglichen wurden.

Anstrich-system	Anstrich-komponenten	Aufbringmenge	Wirkstoff
1A	G: Hydrosol-Acrylat D: NeoCryl	120 g/m ² 100 g/m ²	0,1 % IPBC 0,5 % IPBC
1B	G: Hydrosol-Acrylat D: NeoCryl	120 g/m ² 100 g/m ²	0,5 % IPBC -
2A	Mod. Alkydharz D: NeoCryl	120 - 140 g/m ² 100 g/m ²	0,1 % IPBC 0,5 % IPBC
2B	G: Mod. Alkydharz D: NeoCryl	120 -140 g/m ² 100 g/m ²	0,5 % IPBC -
3A	G: Leinöl D: NeoCryl	120 -140 g/m ² 100 g/m ²	0,1 % IPBC 0,5 % IPBC
3B	G: Leinöl D: NeoCryl	120 -140 g/m ² 100 g/m ²	0,5 % IPBC -

Tabelle 6: Oberflächenverblauung und bläuefreie Zone von Anstrichsystemen. Fichtenkernholzproben wurden mit und ohne *Physisporinus vitreus* behandelt und im Rahmen der DIN EN 152.1-Prüfung verglichen.

Anstrich-system	Oberflächenverblauung nach DIN EN152.1 (Mittelwerte)		Bläuefreie Zone in mm nach DIN EN152.1 (Mittelwerte)	
	Kontrolle	Vorbehandelt	Kontrolle	Vorbehandelt
1A	0	0,3	Nicht messbar	1,4
1B	0	0	Nicht messbar	1,8
2A	0	0	Nicht messbar	1,2
2B	0	0	Nicht messbar	1,5
3A	0	0,2	Nicht messbar	1,6
3B	0	0,2	Nicht messbar	1,8

6.2 Ergebnisse

Die unbehandelten Fichtenkernholzproben zeigten über den ganzen Querschnitt eine schwache und unregelmässige Verblauung (Abb. 13). Im Gegensatz dazu konnte unabhängig vom Anstrichsystem an den pilzvorbehandelten Fichtenkernholzproben eine deutliche, bläuefreie Zone, die zwischen 1,2 - 1,8 mm lag, nachgewiesen werden. In Tabelle 6 werden die Mittelwerte der bläuefreien Zone der einzelnen Anstrichsysteme und die Bewertung der Oberflächenverblauung dargestellt. Die Ergebnisse zeigen, dass Wirkstoffe von wasserlöslichen Anstrichsystemen auf Fichtenkernholz, welches zuvor mit *P. vitreus* vorbehandelt wurde, ein deutlich besseres Eindringungsverhalten zeigten.



Abbildung 13: Links: Unbehandelte Fichtenkernholzproben mit gleichmässiger Verblauung. Anstrichsystem (3A); Leinöl und NeoCryl. **Rechts:** Bläuefreiezone in Fichtenkernholz, welches mit *Physisporinus vitreus* vorbehandelt und mit dem gleichen Anstrichsystem behandelt wurde.

7. Schlagbiegeversuche an Fichten- und Tannenkernholz, welches mit *Physisporinus vitreus* vorbehandelt wurde

7.1 Material und Methoden

Für diese Untersuchungen wurden die Holzproben im Schlagbiegeversuch gebrochen, die zuvor unter Kapitel 3 "Behandlung von Fichten- und Tannenkernholz mit *P. vitreus* zur Verbesserung der Wegsamkeit des Holzes" verwendet wurden. Nach Bestimmung der zweiten Volltränkbarkeit und Trocknung (48 Stunden bei 40 °C) wurden sämtliche Holzproben für die Bestimmung der Schlagbiegefestigkeit vorbereitet. Hierfür wurden die Holzproben für sieben Tage im Klimaraum bei 20 °C und 65 % relativer Feuchte konditioniert. Die Schlagbiegefestigkeitsmessungen erfolgten an einem kleinen Zwick Pendelschlagwerk in Anlehnung an DIN 52189.

Tabelle 7: Schlagbiegefestigkeit an Kernholzproben von *Picea abies* (15 cm³), welche für 6, 12 und 18 Wochen mit *Physisporinus vitreus* und *Poria placenta* inkubiert wurden (n=16).

<u><i>Picea abies</i></u>				
	r_0 (g cm ⁻³)	Masseverlust (in g)	Festigkeit in kJ/m ²	Minderung der Festigkeit in %
<u>6 Wochen</u>				
Kontrolle	0,40±0,02	-	25,7±4,05	-
Empa 642	0,38±0,02	0,9±0,36	22,7±2,00	11,67
Empa 643	0,39±0,03	0,7±0,24	23,2±3,57	7,78
<u>12 Wochen</u>				
Empa 642	0,38±0,03	6,5±2,30	13,0±3,26	49,41
Empa 643	0,40±0,04	4,2±0,97	16,3±3,26	36,57
<u>18 Wochen</u>				
Empa 642	0,38±0,03	10,7±4,26	9,9±4,77	61,47
Empa 643	0,39±0,02	8,1±3,78	11,0±2,90	57,19
<i>Poria placenta</i>	0,39±0,04	23,3±4,49	1,5±0,62	94,16

Tabelle 8: Schlagbiegefestigkeit an Kernholz von *Abies alba* (15 cm³), welche für 6, 12 und 18 Wochen mit *Physisporinus vitreus* und *Poria placenta* inkubiert wurden (n=16).

<u><i>Abies alba</i></u>				
	r_0 (g cm ⁻³)	Masseverlust (in g)	Festigkeit in kJ/m ²	Minderung der Festigkeit in %
<u>6 Wochen</u>				
Kontrolle	0.40±0.02	-	25.7±4.13	-
Empa 642	0.38±0.02	0.9±0.36	17.6±2.00	31,57
Empa 643	0.39±0.03	0.7±0.24	20.5±3.57	20,23
<u>12 Wochen</u>				
Empa 642	0.39±0.02	3.4±1.25	18.0±3.18	29,96
Empa 643	0.39±0.02	1.6±1.51	17.3±2.16	32,68
<u>18 Wochen</u>				
Empa 642	0.39±0.03	5.8±2.70	14.6±2.81	43,19
Empa 643	0.39±0.02	5.0±3.48	11.0±2.90	57,19
<i>Poria placenta</i>	0.39±0.03	18.8±8.20	2.3±2.97	91,05

7.2 Ergebnisse

In Tabelle 7 und 8 sind die Masse- und Festigkeitsverluste von Fichten- und Tannenkernholzproben nach sechs-, zwölf- und achtzehn Wochen aufgeführt. Nach sechs Wochen wurden in allen Holzproben nur geringfügige Festigkeitsverluste ≤1% verzeichnet. Die damit einhergehenden Festigkeitsverluste an Kernholzproben von *P. abies* waren nicht signifikant (Abb. 14). An Kernholzproben von *A. alba* konnte jedoch eine signifikante Minderung der Festigkeit verzeichnet werden. Die Festigkeitsabnahme dürfte in Zusammenhang mit der schnelleren und homogenen Besiedlung des Tannenholzes durch *P. vitreus* stehen. Nach zwölf und achtzehn Wochen konnten an beiden Holzarten moderate Masseverluste festgestellt werden. Diese gingen mit einer deutlichen Minderung der Festigkeit einher. Im Vergleich zu den beiden *P. vitreus*-Isolaten verursachte der Braunfäuleerreger *Poria placenta* nach achtzehn Wochen Behandlung drastische Masse- und Festigkeitsverluste an Fichten- und Tannenkernholzproben.

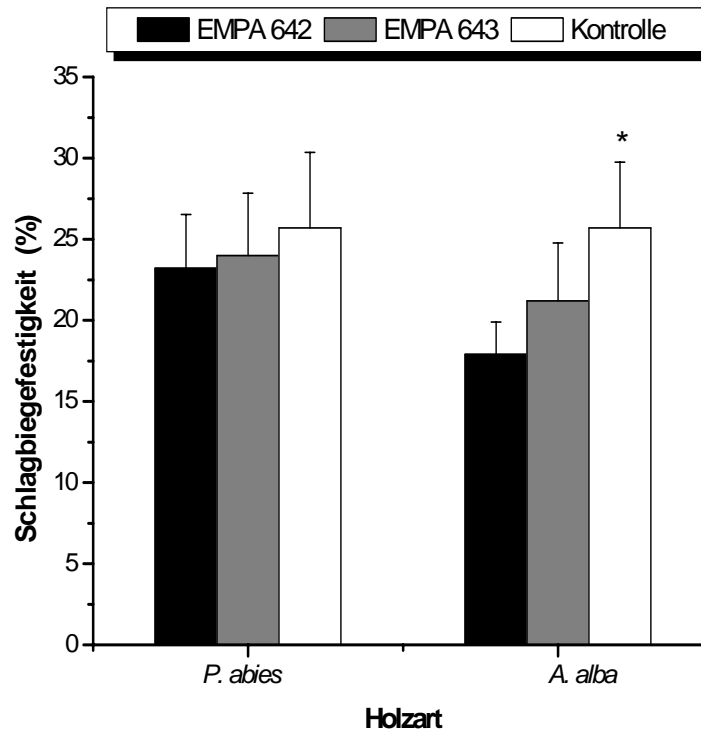


Abbildung 14: Minderung der Schlagbiegefestigkeit bei unbehandelten Kernholzproben (Kontrolle) und mit Pilzen vorbehandelten Proben (n=16). Sternchen weisen auf signifikante Festigkeitsunterschiede ($p \leq 0.05$) zwischen den unbehandelten Kontrollen, den behandelten Proben und Holzarten hin.

8. Aktivitätsnachweis von *Physisporinus vitreus* im infizierten Fichten- und Tannenkernholz nach Trocknung, erneuter Holzbefeuchtung und Druckimprägnierung mit praxisrelevanten Holzschutzmitteln

Für die Umsetzung eines biotechnologischen Verfahrens mittels Einsatz von *P. vitreus* ist es wichtig, dass neben der Erhöhung der Tränkbarkeit des Holzes, auch das Pilzwachstum nach Abschluss des gewünschten Behandlungszeitraumes zum Stillstand gebracht wird. Um die Aktivität von *P. vitreus* nach 18-wöchiger Inkubationszeit zu bestimmen, wurde die Fähigkeit eines Überdauerns des Pilzes (so genanntes Starreverhalten) im infizierten Holz untersucht. Zu diesem Zweck wurde der Aktivitätsnachweis von *P. vitreus* in inkubierten Kernholzproben nach dem Trocknen, der erneuten Holzbefeuchtung und nach einer Druckimprägnierung mit einem praxisrelevanten Holzschutzmittel (CKB-Salz) bonitiert.

8.1 Material und Methoden

Der Aktivitätsnachweis erfolgte durch Auflegen von pilzbehandelten Fichten- und Tannenkernholzproben auf geeigneten Malzagar-Nährmedien. Die Untersuchungen wurden an Proben von beiden Ausgangsdimensionen 100 mm (Faserrichtung) x 10 mm x 15 mm (radial) und 100 mm (Faserrichtung) x 25 mm x 15 mm (radial) durchgeführt. Die Holzproben wurden ohne Aufspalten zur Erfassung der Pilzaktivität über die Mantelflächen direkt auf den Nährboden ausgelegt. Eine Bestimmung des Enddarrgewichts zur späteren Erfassung und Berechnungen der Masseverluste und Volltränkbarkeit erfolgte erst nach Abschluss des Aktivitätsnachweises damit die ins Holz eingewachsenen Pilzhyphen nicht vorrangig durch Erhitzen abgetötet wurden. Die Holzproben wurden zum Aktivitätsnachweis von *P. vitreus* im Probeninnern, unter möglichst sterilen Bedingungen, aufgeschnitten und mit den Schnittflächen nach unten auf dem Nährboden aufgelegt. Das ursprüngliche theoretische Enddarrgewicht der ganzen Holzprobe mit der Ausgangsdimension von 100 mm (Faserrichtung) x 25 mm x 15 mm (radial) wurde erst nach Beendigung der Aktivitätsnachweises aufgrund der Enddarrgewichte beider entnommener Holzprobenteile und nach Bestimmung ihrer Dimensionen ermittelt. Für beide Isolate sowohl von *P. vitreus* als auch von *Poria placenta* wurden je vier Behandlungsvarianten 16 Proben ausgewertet (Tabelle 9).

Tabelle 9: Behandlungsvarianten zum Nachweis der Pilzaktivität von *Physisporinus vitreus* nach 18-wöchiger Inkubationszeit und anschliessender vierwöchiger Lagerung.

Behandlungsvariante	Erläuterung	Schutzsalz
Kontrollen	ohne Vorbehandlung	-
Kontrollen	Volltränkung mit Leitungswasser	-
Volltränkung mit 2% CKB-Salz	entspricht einer geforderten Einbringmenge von ca. 12 kg/m ³	Wolmanit CB
Volltränkung mit 5% CKB-Salz	entspricht der praxisüblichen Anwendungskonzentration	Wolmanit CB

Nach Beendigung der 18-wöchigen Pilzbehandlung und dem Entfernen des anhaftenden Oberflächenmyzels wurden die einzelnen Holzproben gewogen, um später den Feuchtigkeitsgehalt der Holzproben bei Pilzversuchsende anhand des Enddarrgewichtes zu berechnen. Anschliessend wurden die Holzproben zur Trocknung bei Zimmertemperatur (20°C) gelagert und danach während vier Wochen bei 20°C. und 65% rel. Feuchte im Klimaraum akklimatisiert. Es wurde keine Vortrocknung bei 40°C. durchgeführt.

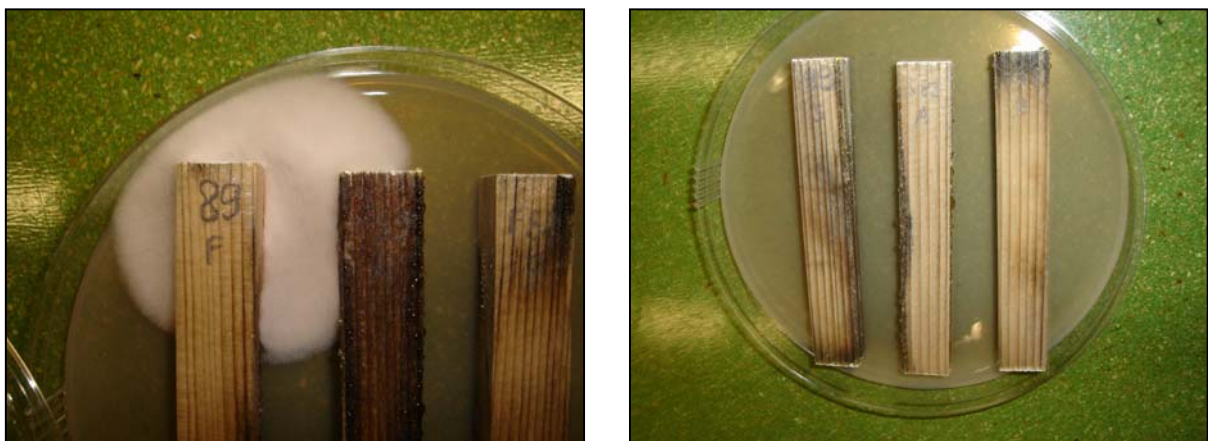


Abbildung 15: Aktivitätsnachweis von *Physisporinus vitreus* an behandelten Holzproben. Links: Nach vierwöchiger Trocknung konnte aus den Holzproben nach Volltränkung mit Leitungswasser *Physisporinus vitreus* wieder erfolgreich isoliert werden. Rechts: Nach vierwöchiger Trocknung und Volltränkung mit einem 2% CKB-Salz konnte *Physisporinus vitreus* nicht mehr isoliert werden.

Vor der Pilzbehandlung wurden sämtliche Holzproben erneut einmalig mit Nuvovern-Emallack abgedichtet. Die Holzproben lagerten nach dem erneuten Abdichten der Hirnenden weiter im Klimaraum bei 20 °C. u. 65 % rel. Feuchte. Anschliessend erfolgte die Vorbehandlung bzw. Volltränkung mit Leitungswasser und unterschiedlichen Konzentrationsabstufungen von Wolmanit CB (CKB-Salz). Hierfür wurden die entsprechenden Mengen an Schutzmittelkonzentrationen von Wolmanit CB in Gewichtsteilen mit Leitungswasser abgemischt. Die Volltränkung (ca. 20 Min) erfolgte getrennt nach Konzentrationsabstufung in einem Stahl-Imprägnierkessel bei einem Unterdruck von ca. 7 - 30 mbar. Anschliessend lagerten die Probehölzer weitere zwei Stunden in der Imprägnierlösung (in Anlehnung an die EN113). Die Probehölzer wurden für diesen Zweck ebenfalls zusätzlich mechanisch abgedichtet, d.h. in mit Weichsilikon überzogene Metallschienen stirnseitig eingespannt und auf diese Weise zur gleichzeitigen Erfassung der zweiten Volltränkbarkeit mit der gewünschten Schutzmittelkonzentration imprägniert. Anschliessend wurden die Holzproben zur Erfassung der aufgenommenen Schutzmittelmengen sowie zur Erfassung der 2. Volltränkbarkeit, unmittelbar nach Abtupfen auf Filterpapier, gewogen. Nach der Volltränkung lagerten die Holzproben zur Trocknung bzw. zur Fixierung des Schutzsalzes zwei Wochen abgedeckt in einer Fotoschale. Anschliessend wurden die Holzproben für mindestens vier Wochen im Klimaraum bei 20 °C und 65 % rel. Feuchte aufbewahrt. Anschliessend wurden die Holzproben mit den Dimensionen von 100 mm (Faserrichtung) x 25 mm x 15 mm (radial) unter möglichst sterilen Bedingungen in Längsrichtung in zwei gleichgrosse Probenteile aufgesägt. Vorausgehend erfolgte bei sämtlichen Proben eine leichte Oberflächendesinfektion durch Abwischen mit einem mit 70%-igem Ethanol angefeuchteten Papiertuch. Anschliessend wurden die Holzproben unter sterilen Bedingungen auf einem geeigneten 4 % MEA, 2,5 % MEA unter Zugabe von 20 - 30 mg Benomyl (Benlate) zur Unterdrückung von Deuteromyceten in Petrischalen auf das Nährmedium gelegt. Eine visuelle Kontrolle der Pilzaktivität erfolgte nach 4 - 10 Tagen. Bis zu diesem Zeitpunkt konnten die frisch aus dem Holz wachsenden Pilzhyphen der nicht vorbehandelten Kontrollproben makroskopisch festgestellt werden. Erst nach der Erfassung der Pilzaktivität wurden sämtliche Holzproben während 48 h bei 40 °C vorgetrocknet und anschliessend zur Bestimmung bzw. Rekonstruktion des Enddarrgewichtes während 18 - 24 h bei 103 °C im Trockenschrank darr getrocknet.

8.2 Ergebnisse

Die verzeichneten Masseverluste durch *P. vitreus* lagen im Mittel des Kernholzes von *P. abies* zwischen 6,3 - 10,1 % und bei *A. alba* zwischen 3,2 und 5,8 %. *Poria placenta* verursachte dagegen im selben Zeitraum wesentlich höhere Masseverluste (Tabelle 10).

Tabelle 10: Bestimmung des Pilznachweises (Auswachsen auf Malzagar-Nährboden) nach unterschiedlichen Vorbehandlungsarten an Kernholzproben von *Picea abies* und *Abies alba*, welche mit *P. vitreus* und *Poria placenta* vorbehandelt wurden. Auswertung erfolgte nach 18-wöchiger Inkubationszeit und vierwöchiger Lagerung. n=4. (+) = Pilz aus Holzproben(n) ausgewachsen; (-) = Pilz nicht ausgewachsen.

Holzart	Proben- dimensionen	Versuchspilz (EMPA Nr.)	Vorbehandlung (Volltränkung mit)	Schutzmitteleinbringmenge [kg/m ³]	Pilz-Nachweis [+/-]	Volltränkbarkeit [%]	Masseverlust [%]
Fichtenkern (<i>Picea abies</i>)	(100 mm Faserrichtung) 10 x 15 mm	P. vitreus EMPA 642	ohne	-	+	77.8	10.7
			Leitungswasser	-	+		
			Wolmanit CB 2%G	16.4	-		
			Wolmanit CB 5%G	40.8	-		
		P. vitreus EMPA 643	ohne	-	+	81.3	8.1
			Leitungswasser	-	+		
			Wolmanit CB 2%G	14.7	-		
			Wolmanit CB 5%G	40.1	-		
		P. placenta EMPA 229	ohne	-	+	86.3	23.7
			Leitungswasser	-	+		
			Wolmanit CB 2%G	15.4	-		
			Wolmanit CB 5%G	38.2	-		
	(100 mm Faserrichtung) 25 x 15 mm	P. vitreus EMPA 642	Leitungswasser	-	+	98.4	7.0
			Wolmanit CB 2%G	16.2	-		
			Wolmanit CB 5%G	37.7	-		
		P. vitreus EMPA 643	Leitungswasser	-	+	95.9	6.3
			Wolmanit CB 2%G	16.4	-		
			Wolmanit CB 5%G	36.9	-		
		P. placenta EMPA 229	Leitungswasser	-	+	97.7	17.7
			Wolmanit CB 5%G	40.0	-		
Weisstannenkern (<i>Abies alba</i>)	(100 mm Faserrichtung) 10 x 15 mm	P. vitreus EMPA 642	ohne	-	+	81.2	5.8
			Leitungswasser	-	+		
			Wolmanit CB 2%G	15.4	-		
			Wolmanit CB 5%G	38.3	-		
		P. vitreus EMPA 643	ohne	-	+	79.5	5.0
			Leitungswasser	-	+		
			Wolmanit CB 2%G	14.8	-		
			Wolmanit CB 5%G	39.9	-		
		P. placenta EMPA 229	ohne	-	+	84.2	18.8
			Leitungswasser	-	+		
			Wolmanit CB 2%G	15.8	-		
			Wolmanit CB 5%G	39.6	-		
	(100 mm Faserrichtung) 25 x 15 mm	P. vitreus EMPA 642	Leitungswasser	-	+	63.1	3.2
			Wolmanit CB 2%G	15.2	-		
			Wolmanit CB 5%G	40.2	-		
		P. vitreus EMPA 643	Leitungswasser	-	+	62.1	3.5
			Wolmanit CB 2%G	15.7	-		
			Wolmanit CB 5%G	39.3	-		
		P. placenta EMPA 229	Leitungswasser	-	+	66.8	16.0
			Wolmanit CB 5%G	39.6	-		

An Kernholz von *P. abies* wurden Masseverluste zwischen 17.7 und 23.3% und an Kernholz von *A. alba* von 16,0 und 18.8 % verzeichnet. Die Studien zeigten, dass selbst nach 18-wöchiger Lagerung, sowohl aus den luftgetrockneten Proben und den anschliessend mit wassergetränkten Kernholzproben von *A. alba* und *P. abies* Myzelien von *P. vitreus* und *P. placenta* herauswuchsen (Abb. 15). Unabhängig von der Konzentration des verwendeten Schutzsalzes, konnten aus allen Kernholzproben, die mit Wolmanit CB behandelt wurden, keine Myzelien der Fäuleerreger isoliert werden (Tabelle 10).

9. Histologische Untersuchungen zum Abbauverhalten von *Physisporinus vitreus* in Fichten- und Tannenkernholz

Die histologischen Studien dienten dem Nachweis der Holzbesiedlung und des Toriabbaus im Fichten- und Tannenkernholz durch *P. vitreus*.

9.1. Material und Methoden

Aus gesunden und künstlich inkubierten Holzproben, die mikroskopisch untersucht werden sollten, wurden mehrere ca. 3 x 3 x 8 mm grosse Stücke mit radialer, tangentialer und axialer Ausrichtung entnommen und in 0,2 M Phosphatpuffer (pH 7,2 - 7,4) mit Glutaraldehyde eingelegt, mit einer Vakuumpumpe entgast und im Kühlschrank bei 4 - 8° C aufbewahrt. Die fixierten Proben wurden dreimal für jeweils zwei Stunden in aqua dest. im Rotator geschwenkt. Hierauf erfolgte die Entwässerung mit einer aufsteigenden Isopropanolreihe (50 %, 70 %, 90 %, 96 % V/V) und schliesslich die Einbettung in mit 0,5 Katalysator versetzter Methacrylatharz-Lösung. Dazu wurden die Proben in Gelatinekapseln gemäss der gewünschten Schnittebene orientiert und die Kapseln mit Einbettlösung gefüllt. Nach dem Aushärten im Wärmeschrank (55 °C) wurden die Gelatinekapseln entfernt, das Einbettungsmedium herausgelöst und Schnitte angefertigt. Zur Anfärbung und Analyse der gewonnenen Proben wurden mit Rotationsmikrotomen (Leica Ultracut UCT) Dünnschnitte angefertigt. Für die Durchlicht-Hellfeldmikroskopie wurden die Proben mit Diamantmessern auf eine Dicke von 2 - 3 µm geschnitten. Die angefertigten Schnitte wurden 12 Stunden in einer Lösung mit 3 % Safranin und 1 % Acriflavin belassen, mit aqua dest. abgewaschen, anschliessend 30 Minuten in 1 %iger Auraminlösung gebadet und mikroskopisch analysiert. Die lichtmikroskopischen Studien erfolgten auf Mikroskopen des Bautyps Zeiss Axiophot und Leitz Orthoplan.

Für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurde ein Rasterelektronenmikroskop mit Feldemissionskathode (FE-REM) eingesetzt. Dieses Gerät erbringt auch bei der Untersuchung von Holz, eine merklich bessere Auflösung und Bildqualität als herkömmliche REM mit thermisch induzierter Elektronenemission. Zwecks Probenpräparation für die FE-REM-Untersuchungen wurden 5 x 5 mm² grosse und circa 10 mm hohe Holzproben aus behandelten und unbehandelten Proben mit Hilfe einer scharfen Rasierklinge entnommen und mit Leit-Kohlenstoff auf Probenträger geklebt. Anschliessend wurden die Proben 24 Stunden im Vakuumschrank bei 40° C getrocknet. Nach dem Trocknen wurden die Proben mit einer leitenden Platinschicht von circa 15 nm Stärke gesputtert und ausgewertet.

9.2. Ergebnisse

Die Lichtmikroskopischen Untersuchungen zeigten, dass die Hyphen von *P. vitreus* das Holz über das Holzstrahlparenchym und die Tracheiden besiedeln. Dabei bauten die Hyphen vor allem im Frühholz die Tori auf den radialen Zellwänden der Tracheiden ab (Abb. 16 A-D).

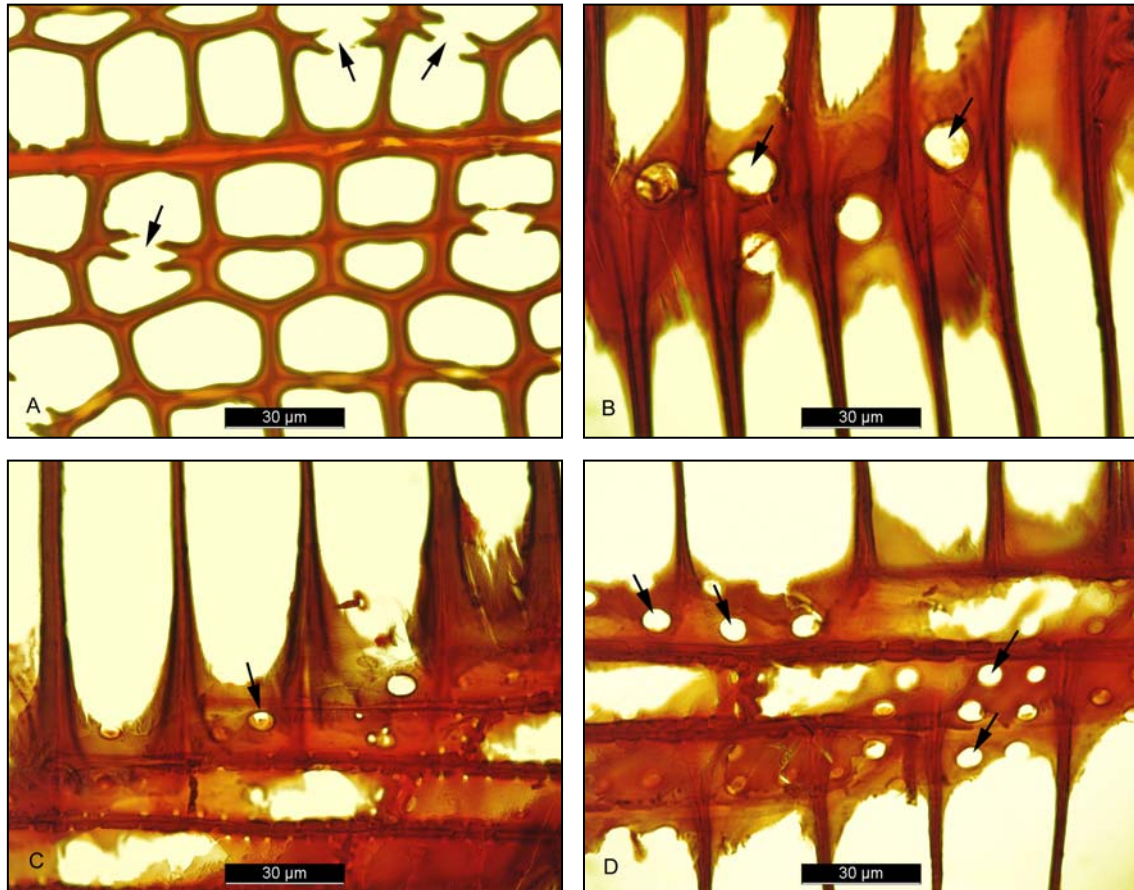


Abbildung 16: **A:** Bereits nach sechs Wochen Inkubationszeit zeigten die Tori der Frühholztracheiden im Querschnitt starke Abbauerscheinungen (**Pfeile**). **B:** In Radialschnitten ist der bevorzugte Abbau der Tori in den Tracheiden ersichtlich. **C - D:** Der sukzessive Abbau der Kreuzungsfeldtüpfel ist im Holzstrahlparenchym erkennbar.

Die Hyphen drangen direkt durch den Torus. Nach dem Durchwachsen wurde der komplette Hoftüpfel samt Margo abgebaut (Abb. 16 A - D). Die Kreuzungsfeldtüpfel im Holzstrahlparenchym wurden von den Hyphen durchwachsen und nachfolgend enzymatisch abgebaut und zum Teil stark erweitert. Diese Abbauprozesse konnten durch den Einsatz des FE-Rasterelektronenmikroskops detaillierter untersucht werden.

Im Vergleich zum unbehandelten Splintholz von *P. abies* und *A. alba* zeigten die Tori im Kernholz deutliche strukturelle Unterschiede. Im Splintholz konnte das Netz aus radial angeordneten, sich zum Teil überkreuzenden Fibrillen (Margo), in dem der Torus "aufgehängt" erscheint, deutlich von der verdickten Tüpfelmembran (Torus) differenziert werden (Abb. 17 A - B). Im Kernholz sind die Margi und die Zwischenräume von *Picea abies* stark, in *Abies alba* moderat mit Polyphenolen inkrustiert (Abb. 17 A - D). In den FE-REM-Studien wurde beobachtet, dass die Pilzhypen im Zelllumen der Frühholztracheiden wachsen und von diesen über den Porus in die Hoftüpfel vordringen. An Holzproben von beiden Holzarten, welche mit *Physisporinus vitreus* behandelt wurden, konnte der sukzessive Abbau der Tori beobachtet werden (Abb. 18 A - F). Vereinzelt konnte die Bildung von Kalziumoxalatkristallen an den Hyphen beobachtet werden. Die Bildung von Oxalsäure durch Weissfäuleerreger ist gut dokumentiert und steht in Verbindung mit dem enzymatischen Abbau von Pektin, welches ein wesentlicher Bestandteil des Margos ist.

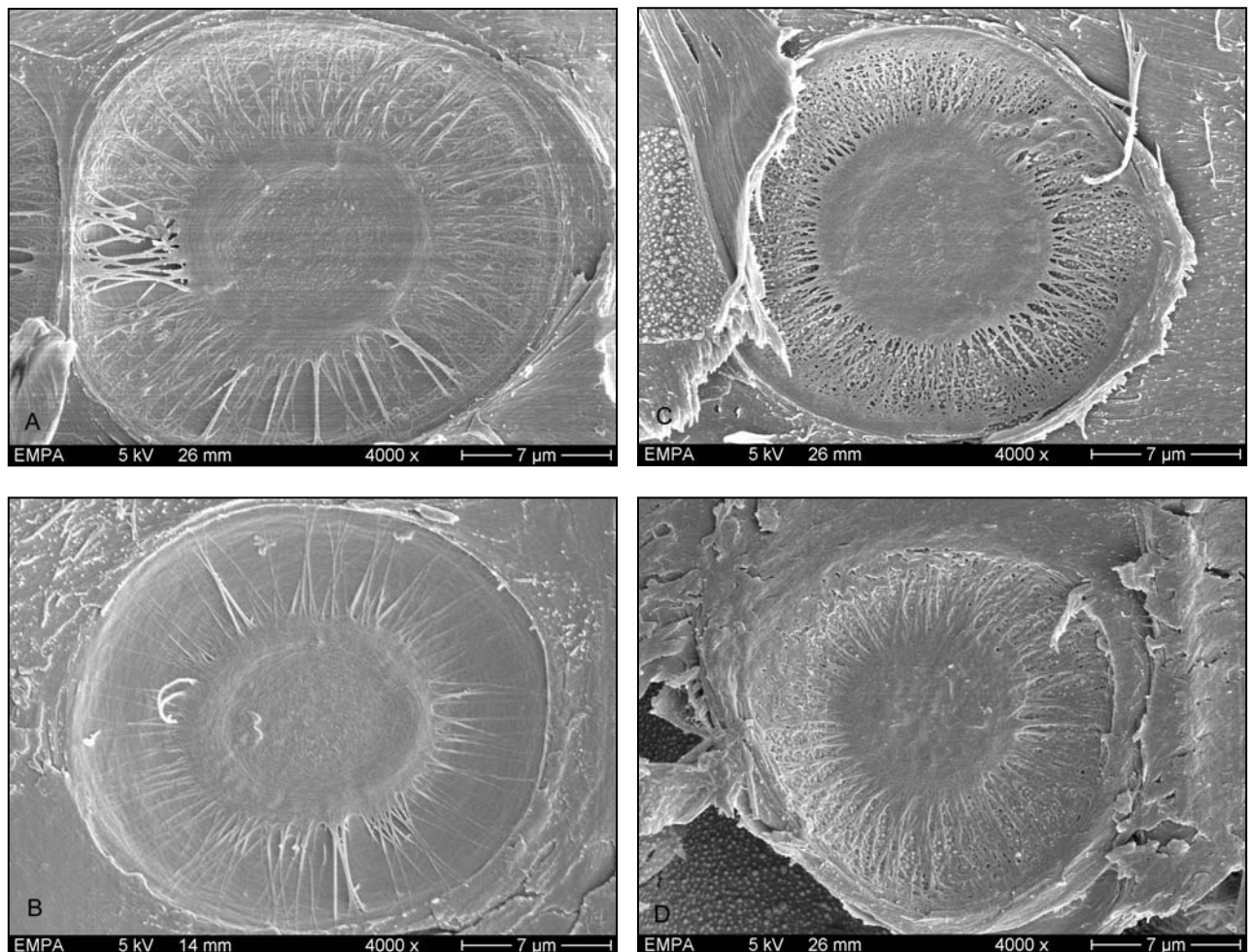


Abbildung 17: Hoftüpfel im Splint- (A) und Kernholz (B) von *Picea abies*. Hoftüpfel im Splint- (C) und Kernholz (D) von *Abies alba*. Bei beiden Holzarten ist die fibrilläre Struktur des Margos im Splintholz besser erkennbar. Durch die Lignifizierung und Inkrustierung mit Polyphenolen tritt der Margo im Kernholz von *Picea abies* und *Abies alba* nur sehr undeutlich in Erscheinung.

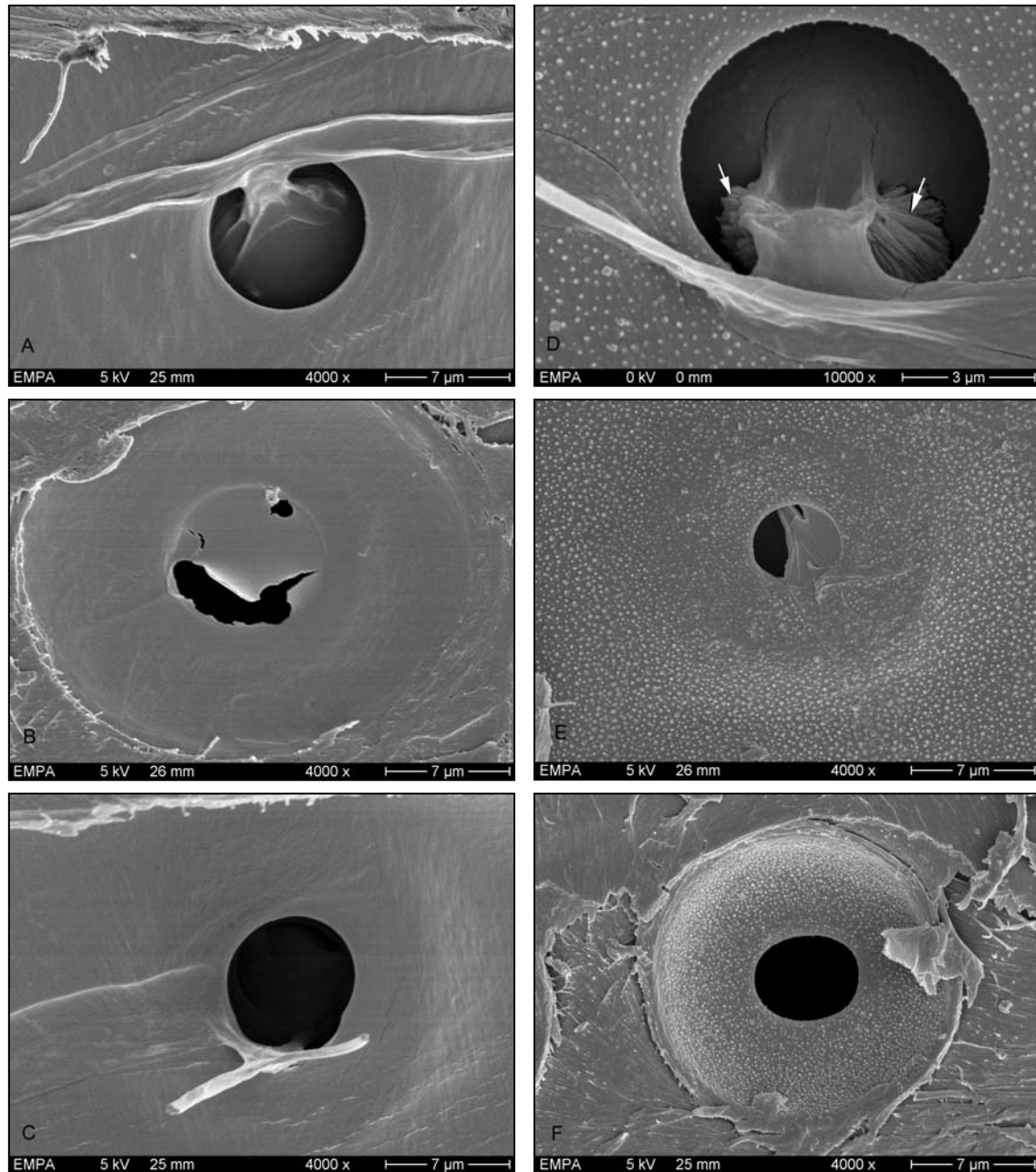


Abbildung 18: Hoftüpfel im Kernholz von *Abies alba* (A - C) und *Picea abies* (D - F), welches mit *Physisporinus vitreus* für sechs Wochen inkubiert wurde. An beiden Holzarten drangen Hyphen vom Porus in die Hoftüpfelkammer vor und bauten die Tori sukzessive ab. Vereinzelt wurden auf Hyphen im Torus grosse Mengen von Kalziumoxalatkristallen (**Pfeile**) festgestellt.

10. Diskussion

In der Vergangenheit sind unterschiedliche biotechnische Versuche unternommen worden, um die Wirkung des Tüpfelverschlusses im Fichtenholz rückgängig zu machen (Bergmann, 1984; Morrel und Morris 2002; Rosner et al. 1998; a,b et al. 1998). Im Kernholz sind bisher alle biotechnischen Ansätze gescheitert. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass im Gegensatz zu Bakterien und Enzymen der Einsatz von *P. vitreus* für die gezielte Verbesserung der Tränkbarkeit offenbar wesentliche Vorteile bieten kann (Schwarze et al. 2006)

Die Studien bestätigen, dass die Hyphen des Weissfäuleeregers das Kernholz schnell und gleichmässig besiedeln können und in der Lage sind, die lignifizierten Tori im Kernholz abzubauen (Schwarze & Landmesser, 2000). Der selektive Abbau der Tori ging mit einer überraschend starken Erhöhung der Wegsamkeit einher. Nach sechs Wochen Inkubationszeit konnte an vorbehandelten Kernholzproben von *P. abies* und *A. alba* im Vergleich zu den Kontrollproben im Vakuum-Druckverfahren eine signifikante Erhöhung der Tränkbarkeit verzeichnet werden. Die Zunahme der Tränkbarkeit von 300 - 400 % in Fichten- bzw. von 500 - 600 % in Tannenkernholzproben war überraschend hoch.

Obgleich die Erhöhung der Tränkbarkeit nicht zu einer besseren quantitativen Aufnahme verschiedener wasserlöslicher Anstrichsysteme im Streich- und Tauchverfahren führte, kann eine Verbesserung der Verankerung der Oberflächenbeschichtung und damit eine grössere Dauerhaftigkeit erreicht werden. Zudem wurde festgestellt, dass die bläuefreie Zone im Fichtenkernholz deutlich verbessert wurde. Im Vergleich zu unbehandelten Proben, konnte der Wirkstoff IPBC an Holzproben, welche mit *P. vitreus* behandelt wurden, nach dem Streichen offenbar tiefer in das Holz eindringen.

Ein wesentlicher Nachteil bei der Anwendung von holzzersetzenden Pilzen für biotechnische Zwecke besteht darin, dass bei zu langen Inkubationszeiten die Festigkeit im Holz nachteilig verändert werden kann. Im Vergleich zu Kontrollproben war die Schlagbiegefestigkeit an vorbehandelten Kernholzproben von *P. abies* nicht signifikant gemindert. An Kernholzproben von *A. alba* konnte jedoch eine signifikante Minderung der Festigkeit verzeichnet werden. Die starke Festigkeitsabnahme dürfte in Zusammenhang mit der schnelleren und homogenen Besiedlung des Tannenkernholzes durch *P. vitreus* stehen. Nach zwölf und achtzehn Wochen konnte allerdings an beiden Holzarten merkliche Masseverluste, die mit einer deutlichen Minderung der Festigkeit einhergingen, festgestellt werden. Für die zukünftige Optimierung des Verfahrens muss unbedingt darauf geachtet werden, dass die Expositionszeit verkürzt und eine homogenere Holzbesiedlung durch den Pilz erreicht wird.

Die Studien zum Aktivitätsnachweis zeigten, dass *P. vitreus* nach Abschluss der Exposition im Holz überdauern kann. Der Pilz kann jedoch mittels der Druckimprägnierung mit praxisrelevanten Holzschutzmitteln (CKB-Salz) abgetötet werden. Eine Alternative zur Abtötung des Pilzes, welche im Rahmen der vorliegenden Studien nicht näher untersucht werden konnte, ist der Einsatz von Mikrowellen.

Die histologischen Untersuchungen verdeutlichen, dass die erhöhte Tränkbarkeit von Fichten- und Tannenkernholz nach erfolgter Behandlung mit *P. vitreus* eng mit dem Toriabbau in den Frühholztracheiden im Zusammenhang steht. Darüber hinaus konnte demonstriert werden, dass die einfachen Tüpfel des Holzstrahlparenchyms ebenfalls gleichmässig von *P. vitreus* abgebaut werden. Hierdurch wird die Aufnahme von Flüssigkeiten über die radiale Holzoberfläche zusätzlich verbessert. Der selektive Abbau der Tüpfel im Kernholz ist vor allem auf das lignolytische Potential des Weissfäuleerregers und der Bildung von Phenoloxidasen (Laccase, Peroxidase, Tyrosinase) zurückzuführen. In den Hoftüpfeln wurden an einigen Hyphen von *P. vitreus* eine Vielzahl von Kalziumoxalatkristallen beobachtet. Der enzymatische Abbau der Tori durch Weissfäuleerreger wurde erstmalig von Tsuneda (1987) beschrieben. Shanley et al. (1993) identifizierten und charakterisierten einen Pectinase (Endopolygalacturonase) als ein für den Pektinabbau verantwortliches Enzym eines Weissfäuleerregers. Das meiste Kalzium im Holz ist an Pektin gebunden. Die Chelatbildung von Kalziumionen durch Oxalsäure stimuliert den Pektinabbau mittels Endopolygalacturonase (Sharma und Kumar (1979) .

Für eine Zulassung in der Schweiz schreibt die BAFU eine vollkommen bläuefreie Oberfläche und eine bläuefreie Zone von im Mittel 1,5 mm vor. Speziell die Anforderungen bezüglich der bläuefreien Zone können häufig nur schwer von Anstrichsystemen auf Wasserbasis erfüllt werden, die aus Gründen des Umweltschutzes eine immer grössere Bedeutung bekommen. Eine Verbesserung der Penetration des Schutzmittels in das Holz soll durch eine Vorbehandlung der Holzoberfläche mit *P. vitreus* erreicht werden. Im Frühstadium einer Besiedlung durch *P. vitreus* werden die Hoftüpfel der Tracheiden bevorzugt abgebaut. Dadurch kann insbesondere bei dem sehr schlecht tränkbareren Fichtenkernholz eine bessere Eindringtiefe erzielt werden. Ein weiterer wichtiger Aspekt für einen dauerhaften Oberflächenschutz ist die Verankerung einer Beschichtung im Holzsubstrat. Insbesondere bei den modernen und umweltfreundlicheren, wasserbasierten Acrylaten ist gegenüber den früher gebräuchlichen lösemittelhaltigen Grundierungen eine verringerte Eindringung und damit eine verringerte Anstrichhaftung festzustellen. Eine verbesserte Verankerung der Beschichtung, welche durch entsprechende Vorbehandlung herbeigeführt wird konnte im Rahmen der Studien nicht festgestellt werden.

10.1 Konzeption einer Pilotanlage

Im Rahmen eines KTI-Projektes soll eine Pilotanlage konzipiert werden, in der Schnittholz von Fichte und Tanne unter kontrollierten Bedingungen mit *P. vitreus* vorbehandelt wird. In erster Linie soll die Tränkbarkeit des Holzquerschnittes erhöht werden und dadurch eine Vielzahl von Behandlungs- und Veredelungsprozessen von Fichtenholz effizienter und wertschöpfender gestaltet werden. Die dafür erforderlichen sechs Arbeitsschritte sind in Abbildung 19 dargestellt. Um die Durchführbarkeit der Behandlung zu optimieren, müssen im Rahmen des KTI-Projektes zunächst noch einige Grundsätzliche Parameter abgeklärt werden. Beim ersten Arbeitsschritt sollte untersucht werden, ob es vorteilhafter ist, luftgetrocknetes oder saftfrisches Holz zu behandeln.

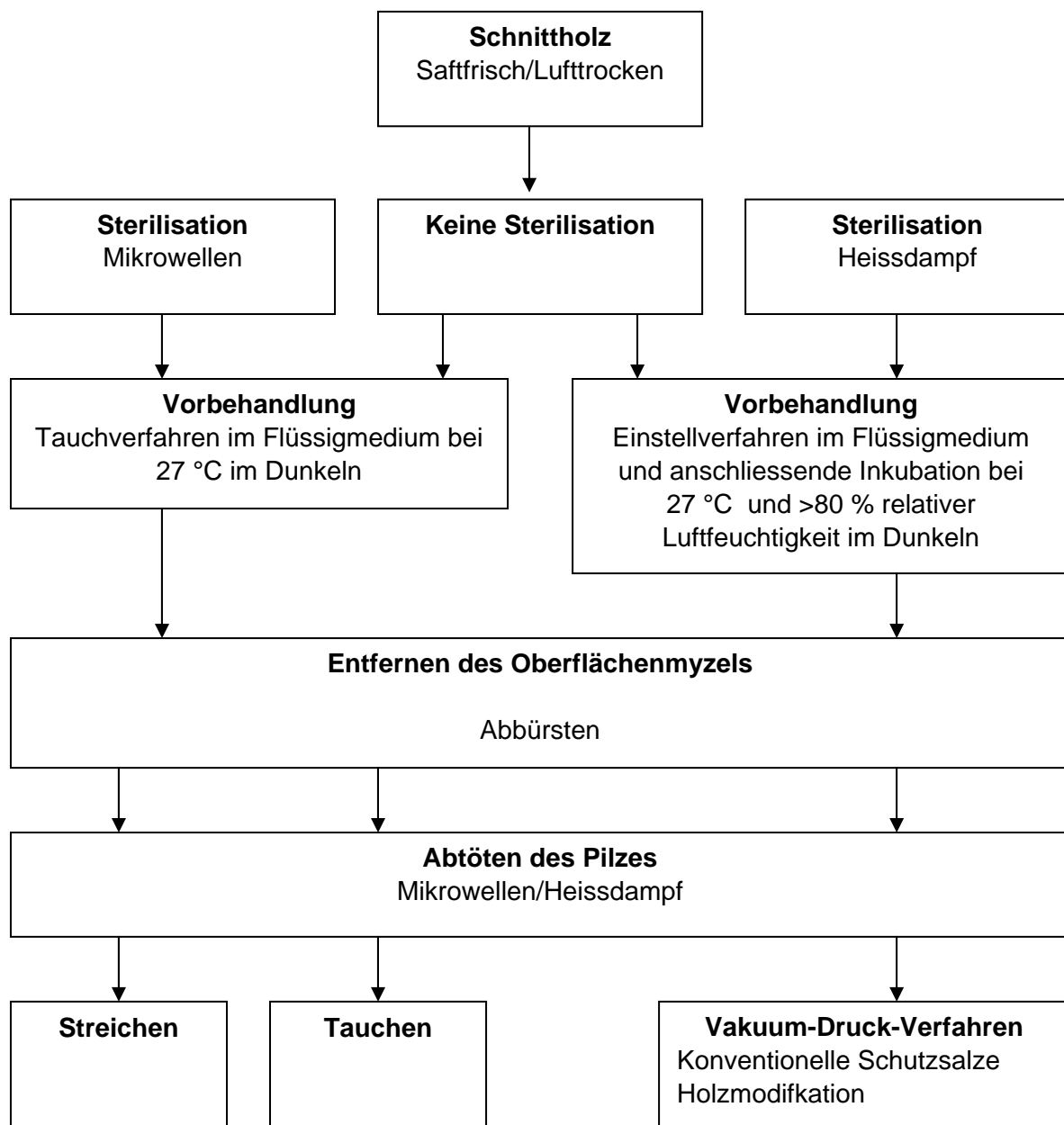


Abbildung 19. Behandlungsschritte in einer Pilotanlage zur Erhöhung der Wegsamkeit von Fichten- und Tannenkernholz durch eine Behandlung mit *Physisporinus vitreus*.

Die Verwendung von lufttrockenem Holz hätte den Vorteil, dass auf Grund der geringen Holzfeuchte Verunreinigungen durch Antagonisten unterdrückt werden können. Ausserdem zeigen die vorliegenden Studien, dass Holz oberhalb des Fasersättigungspunktes stärker angegriffen wird durch *P. vitreus* (Schmidt et al. 1996, 1997). Ein möglicher Nachteil könnte die zu erwartende längere Expositionszeit für die Pilzbehandlung von lufttrockenem Holz sein. Die Verwendung von saftfrischem Holz würde hingegen für die Entwicklung von *P. vitreus* aber auch für andere Pilzarten z.B. Antagonisten förderlich sein.

Da *P. vitreus* in der Natur ein extrem kompetitiver Pilz ist und auf Grund seiner ruderalen Besiedlungsstrategie nach Windwurf an frischen Fichtenstubben dominiert, spielt die Gefahr von Verunreinigungen womöglich eine untergeordnete Rolle.

Für die Pilzexposition ist es denkbar, dass das Holz entweder mehrere Stunden in einem Flüssigmedium (Einstellverfahren), in dem Pilzmyzel angereichert ist, benetzt und anschliessend bei 27° C im Dunkeln aufbewahrt wird.

Alternativ könnte das Schnittholz während der ganzen Expositionszeit über mehrere Tage im Flüssigmedium (Tauchverfahren) bei 27° C im Dunkeln behandelt werden. Es ist bekannt, dass *Physisporinus vitreus* und andere Weissfäuleerreger selbst in Holz, welches im Flüssigmedium aufbewahrt wird, die Tori abbauen kann (Schwarze & Landmesser, 2000; Green & Clausen, 1999). Diesen Vorteil sollte man sich während der Vorbehandlung des Holzes zu Nutze machen. Im Tauchverfahren dürfte auch die Bildung von Oberflächenmyzel unterdrückt sein, was den Vorteil hätte, dass die Reinigung des Holzes weniger aufwändig ausfallen würde. Diese Fragen spielen auch im Rahmen der Notwendigkeit einer Holzsterilisation eine entscheidende Rolle. Falls auf Sterilisationsmassnahmen vor der Behandlung mit *P. vitreus* verzichtet werden kann, könnte ein aufwendiger Arbeitsschritt eingespart werden.

Die weiteren Arbeitsschritte sollten leicht zu bewältigen sein. Das Abbürsten der Holzoberfläche, falls überhaupt erforderlich, sollte technisch lösbar sein. Eine abschliessende Sterilisation des Holzes mit Heissdampf oder Mikrowellen ist für verschiedene Holzvergütungen z.B. Hydrophobierung obligatorisch, um das Wachstum des Pilzes abzutöten. Bei der Behandlung mit fungiziden Wirkstoffen hingegen, ist es denkbar, dass eine Holzsterilisation entfallen kann.

11. Literatur

- DIN EN 152 (1988) European Committee for Standardization. Laboratoriumsverfahren zur Bestimmung der vorbeugenden Wirksamkeit einer Schutzbehandlung auf verarbeitetes Holz gegen Bläuepilze. Teil 1: Anwendung im Streichverfahren. Teil 1. Berlin: Beuth Verlag GmbH.
- DIN EN 113 (1997). Bestimmung der Grenze der Wirksamkeit gegenüber holzzersetzende Basidiomyceten, die auf Agar gezüchtet werden. Berlin: Beuth Verlag GmbH.
- DIN 52189 (1981). Testing of wood; Impact bending test; Determination of impact bending strength. Beuth Verlag, Berlin.
- Anon (1999a). Richtlinien für die Anwendung des Bohrperforationsverfahrens an Leitungsmasten aus Holz. Nr. 2.59d, VSE/Swisscom Nr. 820.115.4.
- Anon (1999b). Richtlinien für die Anwendung des Impfstichverfahrens an Leitungsmasten aus Holz. VSE Nr. 2.55d, VSE/Swisscom Nr. 820.116.2d.
- Bauch, J., W. Liese, Berndt, H. (1970). Biological investigations for the improvement of the permeability of softwoods. *Holzforschung* 24, 199-205.
- Bergmann, O. (1984). Biological methods to improve permeability of Softwood. Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Forest Products Report No. 157. Uppsala, Sweden S 55.
- Ellwood, E.A., Eckland, B.A. (1959) Bacterial attack of pine logs in pond storage. *For. Prod. J.* 2
- Forgarty, W.M. (1973). Bacteria, enzymes and wood permeability. *Proc. Biochem*, 30-34.
- Green III, F., Clausen, C.A. (1999). Production of Polygalacturonase and increase of longitudinal gas permeability in southern pine by brown-rot and white-rot fungi. *Holzforschung* 53, 563-568.
- Grosser, D. (1977). Die Hölzer Mitteleuropas: ein mikrophotographischer Lehratlas. Springer, Berlin, 280S.
- Johnson, B.R. (1979). Permeability changes induced in three western conifers by selective bacterial inoculation. *Wood and Fibre* 11, 10-21.

- Kropf, F., Peyresaubes, R. (1986). Verbesserte Drucktränkung schwer imprägnierbarer Hölzer mit Hilfe der Perforierung. Holz-Zentralblatt, 1479-180.
- Militz, H. (1993a). Der Einfluss enzymatischer Behandlungen auf die Tränkbarkeit kleiner Fichtenproben. Holz als Roh- und Werkstoff 51, 135-142.
- Militz, H. (1993b). Der Einfluss enzymatischer Behandlungen von Fichtenrund- und Schnittholz zur Verbesserung der Tränkbarkeit. Holz als Roh- und Werkstoff 51, 339-346.
- Morrel, J.J., Morris, P.I. (2002). Methods for improving preservative penetration into wood: a review. IRG Secrteriat, IRG/WP 02-40227.
- Nicholas, D.D., Thomas, R.J. (1968). The influence of enzymes on the structure and permeability of loblolly pine. Proc. Am. Wood Preservers Assoc. 64, 1-7.
- Richter, K. (1989). Perforations- und Imprgnierverfahren zur Verbesserung der Wetterbeständigkeit von Konstruktionsholz. Forschungs- und Arbeitsbericht der EMPA Abt. Holz 115/19, Dübendorf 32S.
- Rosner, B., K. Messner, E. Tucker, Bruce, A. (1998). Improve preservative penetration of spruce after pre-treatment with selected fungi. I. Fungal pre-treatment of pole sections. IRG Secreteriat, International Research Group on Wood Preservation, Document No. 98-40117.
- Schmidt, O., W. Liese, Moreth-Kebernik, U. (1996). Decay of timber in a water cooling tower by the basidiomycete *Physisporinus vitreus*. Material Organismen 30, 161-177.
- Schmidt, O., U. Schmitt, U. Moreth, Potsch.T. (1997) Wood decay by the white-rotting basidiomycete *Physisporinus vitreus*. Holzforschung 51, 193-200.
- Schwarze, F.W.M.R., Landmesser, H. (2000). Preferential Degradation of Pit Membranes within tracheids by the basidiomycete *Physisporinus vitreus*. Holzforschung 54, 461-462.
- Schwarze, F.W.M.R., Zraggen, B., Landmesser, H., Heeb, M. (2006) Permeability changes in heartwood of *Picea abies* and *Abies alba* induced by incubation with *Physisporinus vitreus*. Holzforschung, eingereicht.

- Shanley, N.A., Van den Broek, A.G.J., Voragen, A.G.J., Coughlan, M.P. (1993). Isolation and characterization of an endopolygalacturonase from *Phaenorochoete cheysosporium*. J. Biotechnol. 28, 30-38.
- Sharma, M., Kumar, S. (1979). Degradation of wood pectin by micro-organisms. Inter. J. Wood Pres. 1, 87-90.
- Tucker, E., Bruce, A., Staines, H.J., Rosner., Messner, K. (1998a). Improved preservative analysis and strength testing. IRG Secretriati, IRG/WP 98-40106.
- Tucker E., A. Bruce, H.J. Staines, B. Rosner, Messner, K. (1998b). Improve preservative penetration of spruce after pre-treatment with selected fungi. II. Creosote treatment, analysis and strength testing. IRG Secreteriati, International Research Group on Wood Preservation, Document No. 98-40106.
- Willeitner, H. (1971). Anstrichschäden infolge Überaufnahmefähigkeit des Holzes. Holz-Zentralblatt 97, 2291-2292.