

KATARZYNA KUBIAK¹, LESZEK BABIŃSKI², JOANNA CYWIŃSKA¹,
AGNIESZKA SADOWSKA¹, KRZYSZTOF CIENIEK¹, JULITTA GAJEWSKA¹

¹Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

²Muzeum Archeologiczne w Biskupinie

IDENTYFIKACJA MOLEKULARNA BAKTERII WYZOLOWANYCH Z WODY JEZIORA BISKUPIŃSKIEGO ORAZ WSPÓŁCZESNEGO DREWNA DĘBU I SOSNY ZALEGAJĄCEGO W GLEBIE NA STANOWISKU ARCHEOLOGICZNYM W BISKUPINIE

Streszczenie. Celem pracy była izolacja i identyfikacja molekularna wybranych szczepów bakterii zasiedlających współczesne drewno dębu (*Quercus* sp.) i sosny (*Pinus sylvestris* L.), przechowywane w zalanej wodą torfie na stanowisku archeologicznym nr 4 w Biskupinie przez sześć lat w warunkach zbliżonych do beztlenowych. Badania wody z Jeziora Biskupińskiego nie wykazały obecności bakterii jeziornych w próbkach drewna i otaczającej je glebie; stwierdzono różnorodność niechorobotwórczych i chorobotwórczych bakterii kolonizujących drewno, występujących w glebie i wodzie, należących do rodzin: *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Bacillaceae* i *Clostridiaceae*.

Słowa kluczowe: mokre stanowisko archeologiczne, zasiedlanie drewna, drewno współczesne, bakterie wody i gleby, Biskupin

Wstęp

W Muzeum Archeologicznym w Biskupinie przy współpracy Wydziału Technologii Drewna Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu oraz w Samodzielnym Zakładzie Biologii Mikroorganizmów SGGW w Warszawie od szeregu lat prowadzone są badania nad stopniem mikrobiologicznego zasiedlania i rozkładu archeologicznego i współczesnego drewna dębu (*Quercus* sp.) i sosny (*Pinus sylvestris* L.), zalegającego w warunkach anoksji na stanowisku nr 4 przy stacjach pomiarowych SP1 i SP4 w zalanej glebie torfowej (GAJEWSKA i IN. 2006, 2007, 2008, 2009). Na stanowisku tym monitorowane

są wybrane parametry środowiskowe wpływające na stopień rozkładu drewna i celulozy (BABIŃSKI i IN. 2006, BABIŃSKI 2009, BABIŃSKI i FEJFER 2009, ZBOROWSKA i IN. 2007).

W przypadku stanowiska archeologicznego położonego na półwyspie biskupińskim, otoczonym Jeziorem Biskupińskim, zaistniało przypuszczenie, że drobnoustroje pochodzą z wody jeziornej (ZBOROWSKA i IN. 2007). Bakterie, grzyby i wirusy znajdujące się w wodzie mogły pochodzić ze ścieków, z odchodów ludzi i zwierząt. Do najważniejszych bakterii chorobotwórczych szerzących epidemie za pośrednictwem wody należą: *Salmonella* sp. (*S. Typhi*), *Shigella dysenteriae*, *Vibrio cholerae*, *Campylobacter jejuni* i *C. coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Leptospira* sp., a także *E. coli*, *Mycobacterium tuberculosis* i *Staphylococcus aureus*. Ponadto w wodach powierzchniowych stwierdza się obecność bakterii oportunistycznych z rodzajów: *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter* i *Providencia* (BŁASZCZYK 2009, RUSSELL i PERDEK 2007).

Celem niniejszej pracy były badania mikrobiologiczne próbek współczesnego drewna dębu (*Quercus* sp.) i sosny (*Pinus sylvestris* L.), przechowywanych przez sześć lat w zalanej wodą glebie na stanowisku archeologicznym nr 4 przy stacjach SP1 i SP4, oraz próbek gleby otaczającej drewno, a także wody Jeziora Biskupińskiego. Z wybranych szczepów bakterii wyizolowano DNA, wykonano reakcję PCR (Polymerase Chain Reaction), a otrzymane produkty reakcji poddano sekwencjonowaniu w pracowni Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN w Warszawie, porównując otrzymane wyniki z bazą danych NCBI.

Materialy i metody

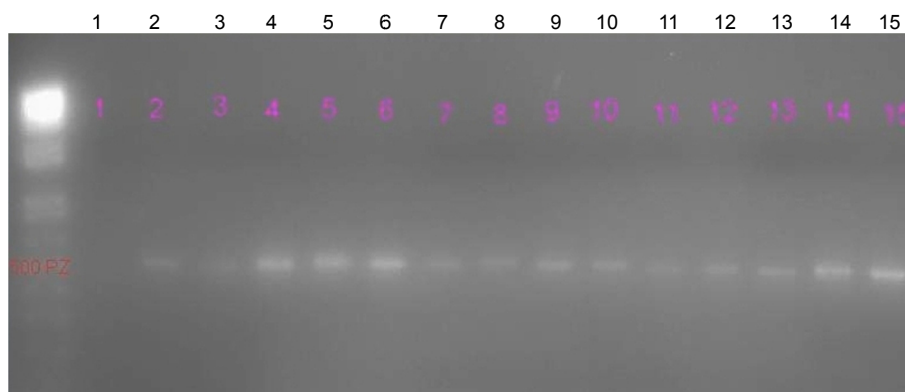
Do badań mikrobiologicznych zostały pobrane w 2009 r. próbki wody Jeziora Biskupińskiego oraz współczesnego drewna dębu i sosny, przechowywane w warunkach anoksji na stanowisku archeologicznym w Biskupinie przez sześć lat w glebie zalanej wodą. Muzeum Archeologiczne w Biskupinie znajduje się nad Jeziorem Biskupińskim, położonym w woj. kujawsko-pomorskim, w powiecie żnińskim, w gminie Gąsawa, na terenie Pojezierza Gnieźnieńskiego.

Mikrobiologiczne badania ilościowe próbek wody z Jeziora Biskupińskiego dotyczyły oznaczenia metodą płytkową Kocha wybranych wskaźników: 1) ogólnej liczebności bakterii heterotroficznych, na agarze odżywczym bez/z dodatkiem 5% odwłóknionej krwi baraniej; 2) bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*, na podłożu Eijkmana, Endo i SS Agar (VAN DER WAAIJ i IN. 1977); 3) bakterii z rodziny *Pseudomonadaceae* – na *Pseudomonas* Agar (MAROLD i IN. 1981); 4) enterokoków – *Streptococcus* Agar (NIEMI i NIEMELÄ 1994). Oznaczano również NPL (najbardziej prawdopodobną liczbę): 1) tlenowych bakterii celulolitycznych – podłoże Dubosa; 2) beztlenowców celulolitycznych – podłoże wg Weimer i Zeikus; 3) *C. perfringens* redukujących siarczyny – podłoże Wilsona-Blaira (RÓŻAŁSKI 1996). Ponadto oznaczono: miano coli, miano coli typu kałowego, miano enterokoków kałowych, miano *Clostridium perfringens* redukujących siarczyny i NPL (najbardziej prawdopodobną liczbę) bakterii z grupy *coli* w 1 ml wody (zgodnie z PN i DYREKTYWĄ RADY UNII EUROPEJSKIEJ 98/83/WE).

Kubiak K., Babiński L., Cywińska J., Sadowska A., Cieniek K., Gajewska J., 2010. Identyfikacja molekularna bakterii wyizolowanych z wody Jeziora Biskupińskiego oraz współczesnego drewna dębu i sosny zalegającego w glebie na stanowisku archeologicznym w Biskupinie. *Nauka Przyr. Technol.* 4, 6, #102.

Z próbek współczesnego drewna dębu i sosny, gleby oraz z wody Jeziora Biskupińskiego wyizolowano metodą posiewu redukcyjnego czyste kultury, z których wyizolowano DNA i poddano amplifikacji PCR. Badania nad identyfikacją gatunków bakterii, występujących w wodzie jeziornej oraz zdolnych do kolonizacji współczesnego drewna dębu (*Quercus* sp.) i sosny (*Pinus sylvestris* L.) pozostających poniżej poziomu wody, oraz otaczającej je gleby polegały na izolacji szczepów bakterii przy zastosowaniu podłoży opisanych w pracy GAJEWSKIEJ i IN. (2007). Identyfikację izolatów przeprowadzono na podstawie badań: morfologiczno-fizjologicznych, zgodnie z BERGEY'S MANUAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY (2009).

Równoległe z hodowli szczepów bakterii, pozyskanych z próbek drewna dębu i sosny oraz gleby i wody z Jeziora Biskupińskiego, wyizolowano DNA zestawem Mini AX Bacteria firmy A&A Biotechnology. Następnie wykonano PCR o składzie mieszaniny reakcyjnej (25 μ l): 2,5 μ l PCR bufor Qiagen ($\times 10$), 5 μ l Q bufor Qiagen ($\times 5$), 3 μ l Mg^{2+} , 0,4 μ l dNTP, po 0,25 μ l starter 27F (DOJKA i IN. 2000) i 534R (YANG i IN. 2007), 1 μ l DNA, 0,1 μ l Polimerazy Taq Invitrogen, 12,5 μ l wody MiliQ. Reakcję PCR zaprojektowano następująco: denaturacja wstępna (w 95°C – 3 min) i następnie 35 cykli amplifikacji DNA w określonych warunkach (denaturacja w 95°C – 20 s, przyłączanie startera w 55°C – 30 s, wydłużanie startera w 72°C – 2 min.; wydłużanie końcowe w 72°C – 7 min). Produkty PCR rozdzielono w 1-procentowym żelu agarozowym o składzie: 1 \times stężony bufor TBE (skład buforu TBE: 4 ml EDTA, 5,5 g kwasu bornego, 10,4 g Trisma Base) wybarwionym bromkiem etydyny 5 μ l/100 ml buforu TBE. Obraz żelu uwidoczniono w aparacie do archiwizacji żeli firmy BioRad (rys. 1). Fragmenty DNA po amplifikacji PCR oczyszczono zestawem Clean up firmy A&A Biotechnology i poddano sekwencjonowaniu w Pracowni Sekwencjonowania Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN w Warszawie, a następnie wyniki porównano z bazą danych NCBI.



Rys. 1. 1-procentowy żel agarozowy uwidaczniający 500-bp produkt amplifikacji PCR regionu 27-534 16S rRNA: linia 1 – markery molekularne, linie 2-14 – produkty PCR DNA bakterii, 15 – kontrola pozytywna

Fig. 1. 1% agarose gel with 500 bp amplification PCR product of 27-534 16 S rRNA, line 1 – molecular markers, lines 2-14 – products of bacterial PCR DNA, 15 – positive control

Wyniki

W badanych próbkach wody, gleby i drewna stwierdzono różnorodność bakterii koptroficznych, chorobotwórczych oraz niechorobotwórczych, zdolnych do korzystania z różnych źródeł C, np. zdolnych do rozkładu celulozy (tab. 1).

Tabela 1. Zidentyfikowane techniką PCR szczepy bakterii wyizolowane z próbek współczesnego drewna zalegającego w glebie w warunkach anoksji, otaczającej gleby oraz wody Jeziora Biskupińskiego

Table 1. Identified strains by PCR technique isolated from a contemporary oak (*Quercus* sp.) and pine (*Pinus sylvestris* L.) wood samples saved for 6 years in soil in anoxic conditions, surrounded by soil and water from the Biskupin Lake

Nr izolatu	Identyfikacja szczepów	Stopień homologii	Źródło pochodzenia próbek
1	<i>Bacillus licherniformis</i>	100%	Woda z jeziora
2	<i>Bacillus pumilus</i>	100%	Woda z jeziora
4	<i>Pseudomonas jessenii</i>	100%	Woda z jeziora
6	<i>Bacillus subtilis</i>	100%	Woda z jeziora
58	<i>Pseudomonas syringae</i>	99%	Woda z jeziora
10	<i>Pseudomonas cepacia</i>	99%	Dąb, SP4
11	<i>Alcaligenes faecalis</i>	100%	Gleba, SP 4
12	<i>Alcaligenes faecalis</i>	100%	Sosna, SP 4
13	<i>Alcaligenes faecalis</i>	100%	Sosna, SP 1
14	<i>Bacillus mycoides</i>	100%	Dąb, SP 1

W wodzie jeziornej zidentyfikowano: Gram-ujemne pałeczki z rodzaju *Pseudomonas*: *P. jessenii*, *P. syringae*; *E. coli*, *Enterobacter cloacae*; a także Gram-dodatnie *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis* i *B. pumilus*. Z próbek drewna dębu i sosny oraz otaczającej je gleby oznaczono szczepy Gram-ujemne: *Alcaligenes faecalis* i *Pseudomonas cepacia* oraz Gram-dodatnie: *Bacillus mycoides*.

Wśród zidentyfikowanych bakterii z wody Jeziora Biskupińskiego stwierdzono obecność oportunistycznych oraz chorobotwórczych dla ludzi i zwierząt bakterii z rodzaju *Pseudomonas*: gatunki *P. jessenii*, *P. syringae*, *P. cepacia*.

Jedne z najbardziej niebezpiecznych bakterii *Pseudomonas aeruginosa* (YEN i IN. 2003) zasiedlały drewno dębu i sosny przechowywanych w glebie (GAJEWSKA i IN. 2007, 2008). Obecnie, po sześciu latach, nie wykryto obecności tych patogenów. Potwierdzono obecność warunkowo chorobotwórczych szczepów w drewnie i w wodzie jeziornej: *E. coli* oraz chorobotwórczych (oportunistycznych) *Enterobacter cloacae*. Stosując technikę PCR, w drewnie sosny i glebie wykryto (obecnie, po 6 latach) chorobotwórcze bakterie *Alcaligenes faecalis*, znane jako „silent killers”, będące przyczyną bakteriemii (*Betaproteobacteria*, rodzina *Alcaligenaceae*).

Kubiak K., Babiński L., Cywińska J., Sadowska A., Cieniek K., Gajewska J., 2010. Identyfikacja molekularna bakterii wyizolowanych z wody Jeziora Biskupińskiego oraz współczesnego drewna dębu i sosny zalegającego w glebie na stanowisku archeologicznym w Biskupinie. *Nauka Przyr. Technol.* 4, 6, #102.

Z próbek drewna dębu (*Quercus* sp.) i sosny (*Pinus sylvestris* L.) oraz otaczającej je gleby wyizolowano pałeczki z rodzaju *Pseudomonas*: *P. cepacia*, których nie stwierdzono w wodzie jeziornej. W przypadku szczepów z rodzaju *Bacillus* w próbkach drewna dominowały laseczki *Bacillus mycoides*, natomiast w wodzie wykryto niechorobotwórcze *B. subtilis*, *B. licheniformis* oraz *B. pumilus* (wg LINK i IN. 2004 szczepy celulolityczne i ksylanolityczne, z przetrwalnikami bardziej opornymi na UV niż inne *Bacillus* sp.).

Na podstawie badań wody Jeziora Biskupińskiego, przeprowadzonych w 2004 r., zaklasyfikowano je do wód pozaklasowych (CHOIŃSKI 2006). Wyniki badań wskaźników mikrobiologiczno-sanitarnych wody, pobranej z Jeziora Biskupińskiego w 2009 r., przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Wskaźniki sanitarno-mikrobiologiczne wody Jeziora Biskupińskiego w 2009 r.
Table 2. Sanitary-microbiological indexes of the Biskupin Lake water in 2009 year

Badana cecha	Miano <i>Clostridium perfringens</i>	Miano coli	Miano coli typu kałowego	Miano enterokoków kałowych	Miano bakterii celulolitycznych tlenowych	Miano bakterii celulolitycznych beztlenowych
Wartość	powyżej 1	0,1	0,1	0,1	0,0001	0,0001

Wykazano, że miano coli, miano coli typu kałowego i miano enterokoków kałowych wody jeziornej wynosiło 0,1, miano *Clostridium perfringens* redukujących siarczyny – powyżej 1, a tlenowych i beztlenowych bakterii celulolitycznych – 0,0001. We wszystkich badanych próbkach wody i drewna nie stwierdzono chorobotwórczych bakterii z rodzaju *Salmonella* i *Shigella*.

Podsumowanie

Wyniki badań mikrobiologicznych związanych z zasiedlaniem i rozkładem biskupińskiego drewna archeologicznego i współczesnego drewna dębu i sosny, zalegających w torfie, oraz otaczającą je glebę na stanowisku archeologicznym wskazywały na różnorodność mikroflory, zarówno saprofitycznej, jak i chorobotwórczej. Drobnoustroje w glebie oraz w drewnie mogą pochodzić z powietrza (GÓRNY 2009), opadów deszczowych, dopływów rzecznych, ścieków, od zwierząt, ze spływów powierzchniowych, opadających i gnijących liści drzew, obumarłych organizmów roślinnych i zwierzęcych (BERLEĆ i IN. 2009). Znaczna ilość drobnoustrojów przedostaje się do wody podczas epidemii oraz ze ściekami komunalnymi i szpitalnymi. Według KRĘGIEL i RYGAŁY (2009) jakość mikrobiologiczna wód powierzchniowych (podobnie jak wód z Jeziora Biskupińskiego) wskazywała na zanieczyszczenia bakteriami grupy coli, enterokokami i beztlenowymi bakteriami redukującymi siarczany z rodzaju *Clostridium*, natomiast bakterie *Escherichia coli* były nieobecne – czyli wyniki te były całkowicie odmienne od wyników obecnej pracy.

Stosując technikę PCR, w wodzie z Jeziora Biskupińskiego stwierdzono obecność szczepów należących do klasy Bacilli: *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. subtilis*, co zostało wcześniej potwierdzone przez TIQUIA i IN. (2007), którzy zidentyfikowali powyższe bakterie z wody glebowej oraz rzecznej. Ponadto w wodzie z jeziora ustalono obecność izolatów należących do *Pseudomonas jesseni*, który był izolowany przez MAZUMDER i IN. (2000) z wody jezior i stawów, powierzchniowej warstwy gleby oraz osadu czynnego. W wodzie z Jeziora Biskupińskiego stwierdzono także obecność *P. syringae*, fitopatogenu a, dla którego wektorem rozprzestrzeniania się jest woda (DULLA i LINDOW 2008). W próbkach drewna współczesnego przechowywanego w glebie na stanowisku SP4 zidentyfikowano *P. cepacia*, który występuje powszechnie w środowisku wilgotnym (gleba, woda) i jest przyczyną zakażeń oportunistycznych (VANDAMME i MAHENTHIRALINGAM 2003). Ponadto w drewnie na stanowisku SP1 oznaczono szczep *B. mycoides*, który został wcześniej oznaczony przez BABIŃSKIEGO i IN. (2006) w próbkach rozkładającego się drewna dębu przechowywanego na stanowiskach archeologicznych w Biskupinie. Obecność tych samych chorobotwórczych szczepów *Alcaligenes faecalis* stwierdzono w glebie i współczesnym drewnie sosny, przechowywanym przy stacji pomiarowej SP4. Te dane potwierdzili wcześniej LIN i IN. (2000), którzy izolowali ten patogen z podtopionej gleby na plantacjach ryżu. Natomiast ich obecności nie stwierdzono w wodzie z Jeziora Biskupińskiego. Inne bakterie wykryte w wodzie jeziornej nie zostały stwierdzone w glebie i próbkach drewna. Prawdopodobnie występujące warunki anoksji, niski potencjał redoks (średnio około -200 mV) oraz nagromadzenie siarczków produkowanych przez *C. perfringens* redukujących siarczyny w glebie nie stanowiły dogodnego środowiska do przeżycia i kolonizacji drewna przechowywanego w tych warunkach.

Wnioski

1. W próbkach drewna współczesnego i archeologicznego zalegających w torfie na stanowiskach archeologicznych SP1 i SP4 w Biskupinie stwierdzono obecność bakterii saprofitycznych i patogennych dla człowieka.

2. Metodami mikrobiologii klasycznej oznaczono bakterie z grupy coli, enterokoki, beztlenowe bakterie redukujące siarczany z rodzaju *Clostridium*, nie stwierdzono natomiast obecności *E. coli*.

3. Za pomocą amplifikacji PCR w wodzie z Jeziora Biskupińskiego zidentyfikowano szczepy bakterii należących do *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. subtilis*, *P. jesseni*, *P. syringae*. Tą samą metodą w próbkach drewna współczesnego oznaczono szczepy *P. cepacia*, *B. mycoides*, *A. faecalis*. Ten ostatni gatunek odnaleziono także w próbkach gleby na stanowisku SP4.

Kubiak K., Babiński L., Cywińska J., Sadowska A., Cieniek K., Gajewska J., 2010. Identyfikacja molekularna bakterii wyizolowanych z wody Jeziora Biskupińskiego oraz współczesnego drewna dębu i sosny zalegającego w glebie na stanowisku archeologicznym w Biskupinie. *Nauka Przyr. Technol.* 4, 6, #102.

Literatura

- BABIŃSKI L., 2009. Zmiany właściwości fizycznych i ubytek masy współczesnego drewna dębu i sosny pozostawionego na stanowisku nr 4 w Biskupinie. W: Stan i perspektywy zachowania drewna biskupińskiego. Red. L. Babiński. Biskup. Pr. Archeol. 7: 299-315.
- BABIŃSKI L., FEJFER M., 2009. Monitorowanie wybranych parametrów środowiska na stanowisku nr 4 w Biskupinie. W: Stan i perspektywy zachowania drewna biskupińskiego. Red. L. Babiński. Biskup. Pr. Archeol. 7: 219-245.
- BABIŃSKI L., ZBOROWSKA M., GAJEWSKA J., WALISZEWSKA B., PRĄDZYŃSKI W., 2006. Decomposition of the contemporary oak wood (*Quercus* sp.) in conditions of the wet archaeological site in Biskupin. *Folia For. Pol. Ser. B* 37: 9-21.
- BERGEY'S MANUAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY. 2009. Vol. III. The firmicutes. Red. P. Vos, G. Garrity, D. Jonem, N.R. Krieg, W. Ludwig, F.A. Rainey, K.H. Schleifer, W.B. Whitman. Springer, New York.
- BERLEĆ C., JUREK A., MICHALSKA C., TRACZYKOWSKI A., 2009. Mikroflora rekultywowanych zbiorników wodnych na przykładzie Jeziora Rudnickiego Wielkiego. *Środ.-Pom. Tow. Nauk. Ochr. Środ.* 11: 1029-1040.
- BŁASZCZYK M.K., 2009. Mikroorganizmy w ochronie środowiska. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa.
- CHOIŃSKI A., 2006. Katalog jezior Polski. Wyd. Nauk. UAM, Poznań.
- DOJKA M.A., HARRIS J.K., PACE N.R., 2000. Expanding the known diversity and environmental distribution of an uncultured phylogenetic division of bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 4: 1617-1621.
- DULLA G., LINDOW S.E., 2008. Quorum size of *Pseudomonas syringae* is small and dictated by water availability on the leaf surface. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105, 8: 3082-3087.
- DYREKTYWA RADY UNII EUROPEJSKIEJ 98/83/WE – z dnia 3 listopada 1998 r. w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi. [www.cie.gov.pl/HLP/files.nsf/0/].
- GAJEWSKA J., BORKOWSKI A., BABIŃSKI L., 2006. Degradation of oak wood from flooded archaeological trenches in Biskupin. *Pol. J. Environ. Stud.* 15, 5d, p. II: 665-669.
- GAJEWSKA J., JACAK P., BABIŃSKI L., 2009. Badania mikrobiologiczne współczesnego drewna dębu i sosny po czterech latach zalegania w glebie na stanowisku nr 4 w Biskupinie. W: Stan i perspektywy zachowania drewna biskupińskiego. Red. L. Babiński. Biskup. Pr. Archeol. 7: 331-343.
- GAJEWSKA J., KOSTECKA J., BABIŃSKI L., 2007. Mikroorganizmy zasiedlające współczesne drewno dębu (*Quercus* sp.) w warunkach mokrego stanowiska archeologicznego w Biskupinie. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.* 520: 455-463.
- GAJEWSKA J., KOSTECKA J., BABIŃSKI L., 2008. Korozja biologiczna drewna sosny (*Pinus sylvestris* L.) przechowywanego w glebie torfowej stanowiska archeologicznego w Biskupinie. *Acta Agr. Silv. Ser. Silv.* 45: 27-37.
- GÓRNY R., 2009. Aerozole biologiczne – rola normatywów higienicznych w ochronie środowiska i zdrowia. W: Rozkład i korozja mikrobiologiczna materiałów technicznych. Red. S. Gutrowski. Wyd. PŁ, Łódź: 91-102.
- KRĘGIEL D., RYGAŁA A., 2009. Jakość mikrobiologiczna wód powierzchniowych jako źródła wody pitnej. W: Rozkład i korozja mikrobiologiczna materiałów technicznych. Red. S. Gutrowski. Wyd. PŁ, Łódź: 122.
- LIN M., SMALLA K., HEUER H., VAN ELSAS J.D., 2000. Effect of an *Alcaligenes faecalis* inoculant strain on bacterial communities in flooded soil microcosms planted with rice seedlings. *Appl. Soil Ecol.* 15, 1: 211-225.
- LINK L., SAWYER J., VENKATESWARAN K., NICHOLSON W., 2004. Extreme spore UV resistance of *Bacillus pumilus* isolates obtained from an ultraclean Spacecraft Assembly Facility. *Microbiol. Ecol.* 47, 2: 159-163.

Kubiak K., Babiński L., Cywińska J., Sadowska A., Cieniek K., Gajewska J., 2010. Identyfikacja molekularna bakterii wyizolowanych z wody Jeziora Biskupińskiego oraz współczesnego drewna dębu i sosny zalegającego w glebie na stanowisku archeologicznym w Biskupinie. *Nauka Przyr. Technol.* 4, 6, #102.

- MAROLD M.L., FREEDMAN R., CHAMBERLAIN R.E., MIYASHIRO J.J., 1981. New selective agent for isolation of *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl. Environ. Microbiol.* 41, 4: 977-980.
- MAZUMDER R., PINKART H.C., TOMMY P.S., PHELPS J., BENOIT R.E., 2000. Low-substrate regulated microaerophilic behavior as a stress response of aquatic and soil bacteria. *Curr. Microbiol.* 41, 2: 79-83.
- NIEMI R.M., NIEMELÄ S.L., 1994. Growth of *Enterococcus*, *Lactococcus* and *Streptococcus* strains and environmental isolates in liquid media and their reactions on BEEA. *Int. J. Food Microbiol.* 23, 1: 71-78.
- RÓŻAŁSKI A., 1996. Ćwiczenia z mikrobiologii ogólnej – skrypt dla studentów biologii. Wyd. UŁ, Łódź.
- RUSSELL D.A., PERDEK J.W., 2007. Waterborne pathogens in urban watersheds. *J. Water Health* 5, 1: 149-162.
- TIQUIA S.M., DAVIS D., HADID H., KASPARIAN S., ISMAIL M., SAHLY R., SHIM J., SINGH S., MURRAY K.S., 2007. Halophilic and halotolerant bacteria from river waters and shallow groundwater along the rouge river of southeastern Michigan. *Environ. Technol.* 28: 297-307.
- VAN DER WAAIJ D., TIELEMANS-SPELTIE T.M., ROEEK-HOUBEN A.M.J., 1977. Infection by and distribution of biotypes of *Enterobacteriaceae* species in leukaemic patients treated under ward conditions and in units for protective isolation in seven hospitals in Europe. Report of the European Organization on treatment of cancer. *Infection* 5, 3: 188-194.
- VANDAMME P., MAHENTHIRALINGAM E., 2003. Strains from the *Burkholderia cepacia* complex: relationship to opportunistic pathogens. *J. Nematol.* 35, 2: 208-211.
- YANG G., BAO B., PEATMAN E., LI H., HUANG L., REN D., 2007. Analysis of the composition of the bacterial community in puffer fish *Takifugu obscurus*. *Aquaculture* 262, 2-4: 183-191.
- YEN N.T., DANG Y.N.T., RAO A., KASTL P.R., BLAKE R.C., SCHURR M.J., DIANE A., BLAKE A.D., 2003. Quantifying *Pseudomonas aeruginosa* adhesion to contact lenses. *Eye & Contact Lens* 29, 2: 65-68.
- ZBOROWSKA M., BABIŃSKI L., GAJEWSKA J., WALISZEWSKA B., PRĄDZYŃSKI W., 2007. Physical and chemical properties of contemporary pine wood (*Pinus sylvestris* L.) in conditions of a wet archaeological site in Biskupin. *Folia For. Pol. Ser. B* 38: 13-26.

IDENTIFICATION OF BACTERIA BY MOLECULAR TECHNIQUE ISOLATED FROM THE BISKUPIN LAKE WATER AND THE CONTEMPORARY OAK AND PINE WOOD DEPOSED FOR SIX YEARS IN WATERLOGGED SOIL AT ARCHAEOLOGICAL SITE IN BISKUPIN

Summary. The main aim of this work was isolation and morphological, physiological and molecular characteristics of the chosen strains of bacteria colonizing modern oak (*Quercus* sp.) and pine (*Pinus sylvestris* L.) wood saved for six years in wet peat at the archaeological site in Biskupin in anoxic conditions. The experiments with water from the Biskupin Lake did not show any presence of water bacteria in wood samples and surrounding soil. Diversity of pathogenic and nonpathogenic bacteria colonizing wood samples, soil and lake water bacteria from *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Bacillaceae* and *Clostridiaceae* were observed.

Key words: wet archaeological site, wood colonization, modern wood, water and soil bacteria, Biskupin

Kubiak K., Babiński L., Cywińska J., Sadowska A., Cieniek K., Gajewska J., 2010. Identyfikacja molekularna bakterii wyizolowanych z wody Jeziora Biskupińskiego oraz współczesnego drewna dębu i sosny zalegającego w glebie na stanowisku archeologicznym w Biskupinie. *Nauka Przyr. Technol.* 4, 6, #102.

Adres do korespondencji – Corresponding address:

Katarzyna Kubiak, Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa, Poland, e-mail: katarzyna.kubiak82@gmail.com

Zaakceptowano do druku – Accepted for print:

16.11.2010

Do cytowania – For citation:

*Kubiak K., Babiński L., Cywińska J., Sadowska A., Cieniek K., Gajewska J., 2010. Identyfikacja molekularna bakterii wyizolowanych z wody Jeziora Biskupińskiego oraz współczesnego drewna dębu i sosny zalegającego w glebie na stanowisku archeologicznym w Biskupinie. *Nauka Przyr. Technol.* 4, 6, #102.*