

JULITTA GAJEWSKA¹, LESZEK BABIŃSKI², JOANNA CYWIŃSKA¹

¹Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

²Muzeum Archeologiczne w Biskupinie

CHARAKTERYSTYKA MIKROFLORY ZASIEDLAJĄCEJ CELULOZĘ NASĄCZONĄ BIOCYDAMI PRZEZNACZONYMI DO KONSERWACJI DREWNA ARCHEOLOGICZNEGO W BISKUPINIE

Streszczenie. Celem niniejszej pracy jest charakterystyka i identyfikacja mikroflory biofilmu, utworzonego na arkuszach niebielonej masy celulozowej, po trwającym dwa lata nasączeniu biocydami: Bardac 22, Bardap 26, Barquat DM 50, Lonzacil Pro 50, Dodigen 226, etanol, OFFNa i próby kontrolnej (woda), w taki sposób, w jaki w praktyce konserwuje się mokre drewno archeologiczne w warunkach laboratoryjnych w Dziale Konserwacji Muzealiów Muzeum Archeologicznego w Biskupinie. Stwierdzono różnorodność składu względnie i bezwzględnie beztlenowej mikroflory biofilmu, zawierającego zarówno drobnoustroje niechorobotwórcze, m.in. celulo-lityczne, jak i patogenne, głównie z rodzin: *Pseudomonadaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Bacillaceae*, *Staphylococcaceae*, *Streptococcaceae* i *Clostridiaceae*, oraz grzyby mikroskopowe z rodzajów *Mucor*, *Aspergillus* i *Candida*.

Słowa kluczowe: mikroflora, niebielona celuloza, biocydy, drewno archeologiczne, ochrona drewna, Biskupin

Wstęp

Na stanowisku archeologicznym nr 4, w stacjach pomiarowych SP1 i SP 4, znajdujących się na półwyspie Jeziora Biskupińskiego, od szeregu lat prowadzone są prace dotyczące właściwości fizykochemicznych i mikrobiologicznych archeologicznego oraz współczesnego drewna dębu (*Quercus* sp.) i sosny (*Pinus sylvestris* L.), zalegających w warunkach anoksji w glebie torfowej zalewanej wodą. Wyniki tych badań, przydatnych dla celów konserwatorskich, ostatnio zawarto w wielu publikacjach (WITOMSKI i GAJEWSKA 2002, ZBOROWSKA i IN. 2007, GAJEWSKA i IN. 2008, 2009 a, b, 2010 a, b), m.in. w wydanej w 2009 r. książce pt. „Stan i perspektywy zachowania drewna bisku-

pińskiego”, pod redakcją L. Babińskiego. Obecnie poszukiwane są aktywnie działające środki konserwatorskie, które będą aktywne jeszcze po dwóch latach od konserwowania drewna. W pracy GAJEWSKIEJ i IN. (2010 a) oznaczano działanie środków dezynfekcyjnych, w tym czwartorzędowych soli amoniowych, na wybrane izolaty bakterii zdolnych do rozkładu celulozy, przechowywanej przez dwa lata w warunkach laboratoryjnych, i współczesnego drewna dębu i sosny, przechowywanych przez sześć lat w warunkach anoksji w glebie zalanej wodą, na stanowiskach archeologicznych w Biskupinie, stosując metodę dyfuzyjną krążków bibułowych. W cytowanych badaniach wykazano skuteczność działania preparatów dezynfekcyjnych w stosunku do bakterii, nawet po dwóch latach przechowywania biocydów w warunkach laboratoryjnych. Okazało się, że drobnoustroje kolonizujące celulozę, która była nasączona biocydami przez dwa lata, były bardziej odporne na stosowane środki dezynfekcyjne niż izolaty z niebielonej celulozy i współczesnego drewna dębu i sosny, które nie miały kontaktu z biocydami.

Celem niniejszej pracy jest przedstawienie charakterystyki morfologicznej, fizjologicznej i biochemicznej mikroflory biofilmu, utworzonego na arkuszach bibuły niebielonej – nasączonej biocydami i kontrolnej, przechowywanych przez dwa lata w warunkach laboratoryjnych w taki sposób, w jaki w praktyce przechowuje się drewno archeologiczne.

Material i metody

W Zakładzie Konserwacji Muzealiów Muzeum Archeologicznego w Biskupinie arkusze niebielonej celulozy o wymiarach 10 × 15 cm nasączono roztworami biocydów oraz tylko wodą (grupa kontrolna) i pozostawiono na dwa lata w warunkach laboratoryjnych.

Do badań użyto 0,5-, 1,5- i 3-procentowe roztwory wodne następujących środków dezynfekcyjnych, otrzymanych dzięki uprzejmości firmy Lonza (Szwajcaria):

- nr 1 – Bardac 22 (50-52% dialkilo – czwartorzędowe sole amoniowe (didecylo-dimetylo-chlorek amoniowy));
- nr 2 – Bardap 26-didecylo-metyol-poly(oksytetylo)-propionian amoniowy;
- nr 3 – Barquat DM 50 (czwartorzędowa sól amoniowa);
- nr 4 – Lonzacil Pro – 50 (71, 25-procentowy aktywny składnik jako dimetylo-hydantoina + jodopropynylo-butylo-karbaminian);
- nr 5 – Dodigen 226 (alkilo-dimetylo-lbenzylo – chlorek amoniowy);
- nr 6 – 10-procentowy wodny roztwór etanolu;
- nr 7 – OFFNa (orto-fenylfenolan sodu);
- nr 8 – kontrola (woda bez biocydu).

Badania mikrobiologiczne biofilmu celulozy polegały na izolacji i identyfikacji szczepów bakteryjnych i grzybowych na podstawie ich cech hodowlanych, morfologicznych, fizjologicznych i biochemicznych, zgodnie z metodyką opisaną wcześniej (GAJEWSKA 1993, 1994, KUNDZEWICZ i IN. 1993). Dla mezofilnych względnie beztlenowych bakterii użyto następujących podłoży: agaru odżywczego, TSA, Columbia agar (agar z dodatkiem 5% odwłóknionej krwi), *Pseudomonas* Agar, McConkey, Endo, EMB, *Staphylococcus* Agar, *Streptococcus* Agar i podłoża Sabourauda; w przypadku

bakterii celulolitycznych tlenowych zastosowano podłoże Dubosa z bibułą filtracyjną jako jedynym źródłem C; podłoże Wilson-Blaira dla *Clostridium perfringens* redukujących siarczyny. Dla wzrostu i izolacji szczepów grzybów pleśniowych i drożdży użyto podłoży: Martina, Sabourauda i Czapek-Doxa. Hodowle bakterii przeprowadzano w temp. 30°C i 37°C przez 3-10 dni, a grzybów mikroskopowych w temp. 20-22°C w okresie 4-14 dni. Do oznaczenia profili biochemicznych bakterii stosowano testy Api firmy bioMerieux (20E, 20NE, 20A, API Staph, API Strep) i komputerową analizę danych (program ApiLab). Preparaty przyżyciowe bakterii i grzybów oraz preparaty bakterii barwione metodą Grama oraz Schäffer-Fultona oglądano w mikroskopie Nikon E600 z kamerą. Do identyfikacji szczepów bakterii wykorzystano systematykę BERGEY'S MANUAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY (2009), a do grzybów – FASSATIOVEJ (1983).

Wyniki i dyskusja

Wyniki badań dotyczących intensywności wzrostu bakterii właściwych i promieniowców oraz grzybów pleśniowych i drożdży, zasiedlających arkusze niebielonej celulozy nasączonej biocydami, przechowywanymi przez dwa lata w warunkach laboratoryjnych (jak w przypadku praktycznie prowadzonego procesu konserwacji drewna archeologicznego), przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Mikrobiologiczny skład biofilmu wytworzonego podczas dwóch lat przechowywania arkuszy w warunkach laboratoryjnych niebielonej celulozy nasączonej/nienasączonej środkami dezynfekcyjnymi

Table 1. Microbiological composition of biofilm of unbleached cellulose storing impregnated/nonimpregnated with disinfectants, produced during two year period in laboratory conditions

Nr arkusza niebielonej celulozy	Bakterie	Grzyby pleśniowe i drożdże	Arkusze niebielonej celulozy, nasączone wodnymi roztworami biocydów o stężeniu 0,5%, 1,5%, 3%, i grupy kontrolnej (nasączonej wodą)
1	2	3	4
1	<i>Bacillus</i> sp., <i>E. coli</i> , <i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Mucor mucedo</i>	Bardac 22
2	<i>Bacillus</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Enterococcus</i> sp., <i>Streptomyces</i> sp.	Nie wyizolowano	Bardac 22
3	<i>Bacillus</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Pseudomonas fluorescens</i>	Nie wyizolowano	Bardac 22
4	<i>Bacillus</i> sp., <i>Micrococcus</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Pseudomonas fluorescens</i>	Nie wyizolowano	Bardap 26
5	<i>Proteus</i> sp., <i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Micrococcus</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i>	Nie wyizolowano	Bardap 26
6	<i>Bacillus</i> sp., <i>Enterobacteriaceae</i>	Nie wyizolowano	Bardap 26

Tabela 1 – cd. / Table 1 – cont.

1	2	3	4
7	<i>Pseudomonas</i> sp., <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Bacillus polymyxa</i> , <i>Bacillus</i> sp.	Nie wyizolowano	Barquat DM 50
8	<i>Pseudomonas</i> sp., <i>Bacillus polymyxa</i> , <i>Bacillus</i> sp., <i>Pseudomonas fluorescens</i>	Nie wyizolowano	Barquat DM 50
9	<i>Pseudomonas</i> sp., <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Proteus</i> sp., <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Streptomyces</i> sp.	<i>Aspergillus niger</i>	Barquat DM 50
10	<i>Bacillus</i> sp., <i>Proteus</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Clostridium</i> sp., <i>Clostridium perfringens</i> red. siarczyny	<i>Candida albicans</i>	Lonzacil Pro 50
11	<i>Clostridium</i> sp., <i>Clostridium perfringens</i> red. siarczyny, <i>Bacillus</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Bacillus polymyxa</i> , <i>Streptomyces</i> sp.	<i>Candida albicans</i>	Lonzacil Pro 50
12	<i>Bacillus</i> sp., <i>Bacillus polymyxa</i> , <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Clostridium</i> sp., <i>Clostridium perfringens</i> red. siarczyny, <i>Streptomyces</i> sp.	<i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Candida albicans</i>	Lonzacil Pro 50
13	<i>Pseudomonas</i> sp., <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Bacillus</i> sp., <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Cytophaga</i> sp., <i>Sporocytophaga</i> sp., <i>Cellulomonas</i> sp., <i>Clostridium</i> sp., <i>Clostridium perfringens</i> red. siarczyny	<i>Candida albicans</i>	Dodigen 226
14	<i>Clostridium</i> sp., <i>Clostridium perfringens</i> red. siarczyny, <i>Bacillus</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Micrococcus</i> sp.	<i>Candida albicans</i>	Dodigen 226
15	<i>Clostridium</i> sp., <i>Clostridium perfringens</i> red. siarczyny, <i>Bacillus</i> sp., <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Candida albicans</i>	Dodigen 226
16	<i>Bacillus</i> sp., <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Clostridium</i> sp., <i>Clostridium perfringens</i> red. siarczyny	<i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Candida albicans</i>	10% etanol
17	<i>Bacillus</i> sp., <i>Bacillus mycoides</i> , <i>Bacillus</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Staphylococcus</i> sp., <i>Cytophaga</i> sp., <i>Sporocytophaga</i> sp., <i>Cellulomonas</i> sp., <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Clostridium</i> sp., <i>Clostridium perfringens</i> red. siarczyny, <i>Streptomyces</i> sp.	<i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Candida albicans</i>	Woda bez biocydu (kontrola)
18	<i>Pseudomonas</i> sp., <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Clostridium</i> sp., <i>Clostridium perfringens</i> red. siarczyny, <i>Bacillus</i> sp., <i>Streptomyces</i> sp.	<i>Candida albicans</i>	OFFNa
19	<i>Bacillus</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Streptomyces</i> sp.	Nie wyizolowano	OFFNa
20	<i>Bacillus</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Streptomyces</i> sp.	<i>Aspergillus niger</i>	OFFNa

Stwierdzono znaczną redukcję liczebności bakterii w przypadku dwuletniego działania 3-procentowych wodnych roztworów czwartorzędowych soli amoniowych firmy Lonza: Bardac 22 i Bardap 26 oraz OFFNa. Zaobserwowano ponadto wysoką aktywność przeciwgrzybową jeszcze jednego biocydu, będącego czwartorzędową solą: Barquatu dM 50. Zastosowanie soli amoniowych i ich pochodnych do ochrony drewna jest niezwykle ważne ze względu na ich działanie jako inhibitorów biodegradacji (BRYCKI 2009).

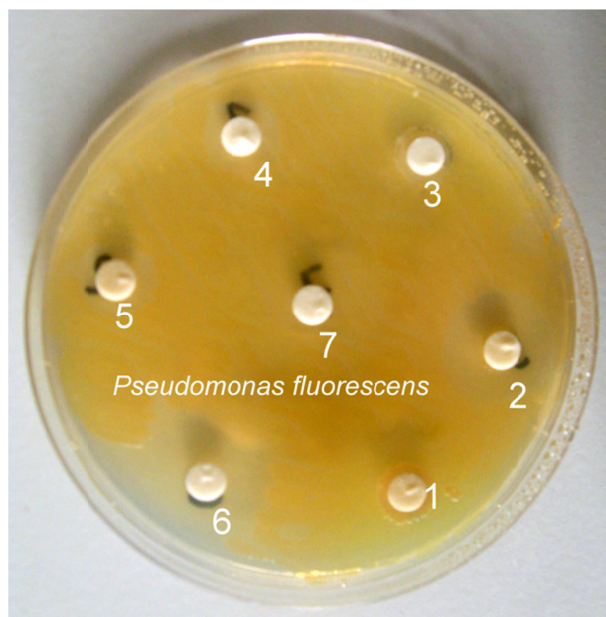
Niebieloną celulozę kolonizowały bakterie właściwe i promieniowce, a także grzyby pleśniowe i drożdże, mimo nasączenia celulozy biocydami przez dwa lata. Ich różnorodność przedstawiono w tabeli 1. Wśród kolonizatorów celulozy dominowały Gram-ujemne beztlenowce względne: pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae* i *Pseudomonadaceae*; Gram-dodatnie przetrwalnikujące beztlenowce względne: laseczki z rodzaju *Bacillus* i beztlenowce bezwzględne: laseczki z rodzaju *Clostridium*. Ponadto stwierdzono obecność Gram-dodatnich promieniowców z rodzaju *Streptomyces*. Wśród tlenowej mikroflory celulolitycznej znajdowały się bakterie: *Bacillus polymyxa*, *Cytophaga* sp., *Sporocytophaga* sp., *Cellulomonas* sp. i promieniowce *Streptomyces* sp. Zdolną do rozkładu celulozy i drewna mikroflorę grzybową stanowiły izolaty, zidentyfikowane jako: *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *Mucor mucedo*. Obserwowano obecność drożdży *Sacharomyces* sp. i *Candida albicans*.

Na rysunku 1 przedstawiono bakterie *Pseudomonas fluorescens*, znane jako roślinne patogeny, izolowane z kontrolnej próbki niebielonej celulozy, uważane za dominujące w powstałym po dwóch latach biofilmie. Były one odporne tylko na 3-procentowy wodny roztwór OFFNa, a wrażliwe na pozostałe badane biocydy. Cechy biochemiczne tego szczepu przedstawiono na rysunku 2 i w tabeli 2.

Oprócz chorobotwórczych bądź warunkowo chorobotwórczych pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* i *Pseudomonadaceae* w biofilmie na arkuszach niebielonej celulozy stwierdzono obecność chorobotwórczych Gram-dodatnich ziarniaków z rodzaju *Staphylococcus*, *Micrococcus* i *Enterococcus*. Oprócz beztlenowców bezwzględnych w obrotach na niebielonej celulozie znaleziono także bezwzględne beztlenowce laseczki zgorzeli gazowej *Clostridium perfringens* redukujące siarczyny, wrażliwe na preparat Bardac 22 i Bardap 26.

Najczęściej drobnoustroje zdolne do kolonizacji ligninocelulozowych substratów dostawać się mogą do nich z gleby, która jest ich naturalnym siedliskiem (STRZELCZYK i SZPOTAŃSKI 1989). W sprzyjających warunkach środowiskowych drobnoustroje mogą ulegać adhezji do powierzchni, tworząc biofilmy. Adhezja drobnoustrojów do powierzchni takich, jak np. papier czy drewno, stanowi poważny problem w ochronie zbiorów muzealnych (ZYSKA 2001).

Szczególnie istotne w tworzeniu biofilmów na powierzchniach jest obecność drobnoustrojów w środowisku. Niektóre drobnoustroje występujące w monokulturach nie przyczepiają się do powierzchni, natomiast w hodowlach mieszanych obserwuje się ich znaczną adhezję. Oznacza to ich włączanie się w istniejący biofilm. W przypadku mieszanych populacji proces tworzenia się biofilmu może ulec przyspieszeniu (WATNICK i KOLTER 2000). SIMOES i IN. (2009) wykazali, że mikroorganizmy żyjące w skupiskach wpływają na zwiększenie oporności biofilmu na powszechnie stosowane środki dezynfekujące. Według CZACZYK (2009) dla potrzeb usprawnienia zabiegów higienizacji powierzchni abiotycznych ważne jest poszukiwanie nowych środków dezynfekujących i badanie ich potencjalnych właściwości antyadhezyjnych. Wynika to nie tylko z powodu



Rys. 1. Bakterie *Pseudomonas fluorescens* (nr 17) na podłożu agar odżywczy, izolowane z niebielonej celulozy nasączonej wodą i przechowywanej przez dwa lata w warunkach laboratoryjnych, wrażliwe na czwartorzędowe sole amoniowe i etanol, odporne na OFFNa; do dyfuzyjnej metody krążków bibulowych stosowano biocydy po dwóch latach przechowywania ich wodnych roztworów w warunkach laboratoryjnych (kontrola) (GAJEWSKA i IN. 2010 a)

Fig. 1. *Pseudomonas fluorescens* bacteria (No 17) on nutrient agar medium, isolated from unbleached cellulose, saturated by water and saved for two year period in laboratory conditions, sensitive to quaternary salts and ethanol, resistant to OFFNa, in disc diffusion method biocides (their water dilutions) were used after two year saving in laboratory conditions (control) (GAJEWSKA et AL. 2010 a)



Rys. 2. Profil biochemiczny szczepu bakterii *Pseudomonas fluorescens* nr 17, izolowanego z niebielonej celulozy nasączonej wodą, określonego za pomocą testu Api 20 NE firmy bioMérieux

Fig. 2. A biochemical profile of *Pseudomonas fluorescens* No 17 isolated from unbleached cellulose saturated with water, identified by Api 20 NE test, bioMérieux

Gajewska J., Babiński L., Cywińska J., 2010. Charakterystyka mikroflory zasiedlającej celulozę nasączoną biocydami przeznaczonymi do konserwacji drewna archeologicznego w Biskupinie. *Nauka Przyr. Technol.* 4, 6, #101.

Tabela 2. Test Api 20 NE firmy bioMérieux – 90,7% prawdopodobieństwa dla szczepu bakterii *Pseudomonas fluorescens* nr 17 izolowanego z niebielonej celulozy nasączonej wodą
Table 2. Test Api 20 NE bioMérieux – 90.7% of probability for *Pseudomonas fluorescens* strain no. 17, isolated from unbleached cellulose

Test	Substrat	Reakcja
NO ₃	Azotan sodu	+
TRP	L-Tryptofan	-
GLU	D-Glukoza	-
ADH	L-Arginina	-
URE	Mocznik	-
ESC	Eskulina	-
GEL	Zelatyna	-
PNG	4-Nitrofenylo-βD-galaktopiranozyd	-
GLU	D-Glukoza	+
ARA	L-Arabinoza	+
MNE	D-Mannoza	+
MAN	D-Mannitol	+
NAG	N-Acetyloglukozamina	-
MAL	D-Maltoza	-
GNT	Glukonian potasu	+
CAP	Kwas dekanowy	+
ADI	Kwas adypinowy	-
MLT	Kwas jabłkowy	+
CIT	Cytrynian trisodowy	+
PAC	Kwas fenylloctowy	+
OX	Oksydaza cytochromowa	+

niekorzystnego zjawiska korozji biologicznej materiałów technicznych, ale również ze względów sanitarnych, wynikających z obecności w biofilmach drobnoustrojów patogennych, co jest przedmiotem badań w ostatnich latach (SHIRTLIFF i LEID 2009). Szczególną uwagę należy zwrócić na mieszaną kolonizację: saprofitycznych tlenowych i beztlenowych bakterii celulolitycznych z patogennymi bakteriami, należących do rodzin: *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Bacillaceae*, *Staphylococcaceae*, *Streptococcaceae*, *Clostridiaceae* oraz grzybów mikroskopowych (drożdży i pleśni) (GAJEWSKA 1994, WITOMSKI i GAJEWSKA 2002, GAJEWSKA i IN. 2006, 2008, 2009 a, b). Dominującymi w biofilmach szczepami są m.in. *Pseudomonas aeruginosa* (GU i IN. 2001, MYSZKA i CZACZYK 2009), *Proteus vulgaris* (MYSZKA i IN. 2009); *Escherichia coli* (MITIK-DINEVA i IN. 2009), *Staphylococcus* spp. (JAIN i AGARWAL 2009) oraz drożdże (REYNOLDS i FINK 2001). WITOMSKI i GAJEWSKA (2002) przedstawili charakterystykę bakterii tlenowych i beztlenowych, zdolnych do rozkładu drewna archeologicznego w warunkach beztlenowych przez mikroorganizmy, ze szczególnym uwzględnieniem bakterii celulolitycznych. WAŻNY (2002), przedstawiając listę 23 gatunków

bakterii właściwych i promieniowców zdolnych do rozkładu celulozy i drewna, podkreślił wagę badań dotyczących właściwości bakteriobójczych środków ochrony drewna, które pozwolą na dobór odpowiednich preparatów do ochrony i zwalczania rozkładu bakteryjnego. Należy jednak pamiętać, że stosując klasyczne metody hodowlane, udaje się uzyskać wzrost tylko około 1-15% tzw. bakterii hodowlanych spośród wspólnoty mikroorganizmów (ang. *microbial community*) (BŁASZCZYK 2010), co może mieć wpływ na zmniejszenie efektywności procesu dezynfekcji, przy braku informacji o wrażliwości na środki dezynfekcyjne drobnoustrojów niehodowlanych.

Wnioski

1. Wobec różnorodności składu mikrobiologicznego biofilmu, jaki tworzy się naturalnie na archeologicznym i współczesnym drewnie, zalegającym w zalanej wodą torfie, należy zwrócić uwagę na to, że w praktyce podczas dwuletniego procesu konserwacji drewna może powstać już nowy biofilm o zmienionym składzie drobnoustrojów.

2. Wybór właściwego środka konserwującego zabytkowe drewno wykopaliskowe wydaje się być trudnym zadaniem, gdyż zależy od uzyskanych wyników badań mikrobiologicznych tworzących się biofilmów, również w czasie procesu konserwacji drewna.

3. Przy niewłaściwym doborze środków biobójczych na początku procesu konserwacji po upływie dwóch lat nowy biofilm o zmienionym jakościowo-ilościowym składzie drobnoustrojów nadal może zagrażać procesowi ochrony zabytkowego drewna.

Literatura

- 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.
- BŁASZCZYK M.K., 2010. Mikrobiologia środowisk. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa.
- BRYCKI B., 2009. Podwójne sole alkiloamoniowe jako inhibitory biodeterioracji. W: Rozkład i korozja mikrobiologiczna materiałów technicznych. Red. S. Gutarowski. Wyd. PŁ, Łódź: 132-135.
- CZACZYK K., 2009. Czynniki warunkujące tworzenie się biofilmów na powierzchniach abiotycznych. W: Rozkład i korozja mikrobiologiczna materiałów technicznych. Red. S. Gutarowski. Wyd. PŁ, Łódź: 20-30.
- FASSATIOVA O., 1983. Grzyby mikroskopowe w mikrobiologii technicznej. WN-T, Warszawa.
- GAJEWSKA J., 1993. Colonization of pretreated *Eucalyptus viminalis* wood by *Clostridium thermocellum*. *Folia For. Pol. Ser. B* 24: 47-54.
- GAJEWSKA J., 1994. Rozkład substratów ligninocelulozowych przez beztlenowe termofilne bakterie *Clostridium thermocellum*. Wyd. SGGW, Warszawa.
- 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., Babiński L., Cywińska J., 2010. Charakterystyka mikroflory zasiedlającej celulozę nasączoną biocydami przeznaczonymi do konserwacji drewna archeologicznego w Biskupinie. *Nauka Przyr. Technol.* 4, 6, #101.

- GAJEWSKA J., BORKOWSKI A., BABIŃSKI L., 2009 a. Mikroorganizmy zasiedlające wykopaliskowe drewno dębu z Biskupina. W: Stan i perspektywy zachowania drewna biskupińskiego. Red. L. Babiński. Biskup. Pr. Archeol.: 135-144.
- GAJEWSKA J., CYWIŃSKA J., SADOWSKA A., BABIŃSKI L., 2010 a. Wrażliwość mikroorganizmów na biocydy przeznaczone do ochrony drewna archeologicznego w Biskupinie. W: Materiały naukowe VII Sympozjum „Czwartorzędowe sole amoniowe i obszary ich zastosowania”. Poznań, 1-2 lipca. ITD, Poznań.
- GAJEWSKA J., JACAK P., BABIŃSKI L., 2009 b. 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., JACAK P., BABIŃSKI L., w druku. Influence of anoxic conditions on colonizing of bacterial and fungal composition of contemporary oak wood (*Quercus* sp.) and pine wood (*Pinus sylvestris* L.) saved in waterlogged archaeological site in Biskupin. *Chem. Ecol. Engin.*
- 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. Biological corrosion of pine wood (*Pinus sylvestris* L.) saved in turf soil in archaeological site at Biskupin. *Acta Agr. Silv. Ser. Silv.* 45: 27-37.
- GU J.D., BELAY B., MITCHELL R., 2001. Protection of catheter surfaces from adhesion of *Pseudomonas aeruginosa* by a combination of silver ions and lectins. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 17: 173-179.
- JAIN A., AGARWAL A., 2009. Biofilm production, a marker of pathogenic potential of colonizing and commensal staphylococci. *J. Microbiol. Meth.* 76: 88-92.
- KUNDZEWICZ A., GAJEWSKA J., GÓRSKA E.B., JAŚKOWSKA H., ROKOSZ-BURLAGA H.S., 1993. Colonization of pine wood (*Pinus sylvestris* L.) in waterlogged gleysol by microorganisms. *Folia For. Pol. Ser. B* 24: 37-45.
- MITIC-DINEVA N., WANG J., TRUONG V.K., STODDART P., MALHERBE F., CRAWFORD R.J., IVANOVA E.P., 2009. *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* attachment patterns on glass surfaces with nanoscale roughness. *Curr. Microbiol.* 58: 268-273.
- MYSZKA K., CZACZYK K., 2009. Characterization of adhesive exopolysaccharides (EPS) produced by *Pseudomonas aeruginosa* under starvation conditions. *Curr. Microbiol.* 58: 541-546.
- MYSZKA K., CZACZYK K., SCHMIDT M.T., OLEJNIK A.M., 2007. Cell surface properties as factors involved in *Proteus vulgaris* adhesion to stainless steel under starvation conditions. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 23: 1605-1612.
- REYNOLDS T.B., FINK G.R., 2001. Baker's yeast, model for fungal biofilm formation. *Science* 291: 878-881.
- SHIRTLIFF M., LEID J.G., 2009. The role of biofilms in device-related infections. In: Springer Series on Biofilm. Vol. 3. Springer, Berlin.
- SIMOES M., SIMOES L.C., VIEIRA M.J., 2009. Species association increases biofilm resistance to chemical and mechanical treatments. *Water Res.* 43: 229-237.
- STRZELCZYK E., SZPOTAŃSKI T., 1989. Cellulolytic and pectolytic activity of streptomycetes isolates from root – free soil, rhizosphere and mycorrhizosphere of pine (*Pinus sylvestris* L.). *Biol. Fertil. Soils* 7: 365-369.
- WATNICK P., KOLTER R., 2000. Biofilm, city of microbes. *J. Bacteriol.* 182: 2675-2679.
- WAŻNY J., 2002. Stan badań nad rozkładem drewna przez bakterie. W: Ochrona Drewna, XXI Sympozjum, Rogów. Wyd. SGGW, Warszawa: 5-20.
- WITOMSKI P., 2009. Factors causing archaeological wood decay. W: The state and preservation perspectives of the Biskupin wood. Red. L. Babiński. Biskupin: 77-97.

Gajewska J., Babiński L., Cywińska J., 2010. Charakterystyka mikroflory zasiedlającej celulozę nasączoną biocydami przeznaczonymi do konserwacji drewna archeologicznego w Biskupinie. *Nauka Przyr. Technol.* 4, 6, #101.

WITOMSKI P., GAJEWSKA J., 2002. Rozkład drewna archeologicznego w warunkach beztlenowych przez mikroorganizmy. W: *Ochrona Drewna, XXI Sympozjum, Rogów*. Wyd. SGGW, Warszawa: 21-30.

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.

ZYSKA B., 2001. Katastrofy, awarie i zagrożenia mikrobiologiczne w przemyśle i budownictwie. Wyd. PŁ, Łódź.

CHARACTERISTICS OF MICROFLORA COLONIZED UNBLEACHED CELLULOSE IMPREGNATED BY BIOCIDES ASSIGNATED TO ARCHAEOLOGICAL WOOD CONSERVATION IN BISKUPIN

Summary. The main aim of this work were characteristics and identification of biofilm microflora, produced on sheets of unbleached cellulose, impregnated by biocids: Bardac 22, Bardap 26, Barquat DM 50, Lonzacil Pro 50, Dodigen 226, etanol, OFFNa and water control, after 2 year period, in the way in which in practice wet archaeological wood is preserved in laboratory conditions in Department of Preservation of Museum Exhibits of the Biskupin Archaeological Museum. The diversity of biofilm composition of the temporary and strictly anaerobic non pathogenic microorganisms, e.g. cellulolytic ones, and pathogenic, mainly from: *Pseudomonadaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Bacillaceae*, *Staphylococcaceae*, *Streptococcaceae* and *Clostridiaceae* family and *Mucor* sp., *Aspergillus* sp. and *Candida* sp. microscopic fungi.

Key words: microflora, unbleached cellulose, biocides, archaeological wood, wood protection, Biskupin

Adres do korespondencji – Corresponding address:

Julitta Gajewska, Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa, Poland, e-mail: gajewska3@wp.pl

Zaakceptowano do druku – Accepted for print:

16.11.2010

Do cytowania – For citation:

Gajewska J., Babiński L., Cywińska J., 2010. Charakterystyka mikroflory zasiedlającej celulozę nasączoną biocydami przeznaczonymi do konserwacji drewna archeologicznego w Biskupinie. Nauka Przyr. Technol. 4, 6, #101.