



**Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach
Zakład Ochrony Roślin przed Szkodnikami**

Kierownik Projektu: dr hab. Eligio Malusa prof. IO

Koordinator Projektu: dr Małgorzata Tartanus

Sprawozdanie z realizacji zadania w 2018 roku

Warzywnictwo ekologiczne, w tym uprawa ziół: badania w zakresie określenia źródeł oraz przyczyn występowania w surowcach ekologicznych środków niedopuszczonych do stosowania w rolnictwie ekologicznym. Określenie dobrych praktyk, standardów postępowania, opracowanie przewodnika oraz wytycznych w zakresie przeciwdziałania takim przypadkom.

DYREKTOR INSTYTUTU OGRODNICTWA

prof. dr hab. Małgorzata Korbin

Subkontraktor: prof. A.M. Persiani, Uniwersytet La Sapienza w Rzymie

Wykonawcy: dr hab. Eligio Malusa prof. IO, dr Małgorzata Tartanus, dr Artur Miszczak, Pracownicy Zakładu Ochrony Roślin przed Szkodnikami, Zakład Badania Bezpieczeństwa Żywności, Pracownia Przetwórstwa i Oceny Jakości Owoców i Warzyw, Laboratorium Badania Jakości Produktów Ogrodniczych, pracownicy sezonowi (Tadeusz Mańkowski, Grzegorz Skorupiński) i inni

Wstęp

Skażenie gleb trwałymi zanieczyszczeniami organicznymi (TZO) jest bardzo powszechne w środowisku naturalnym, a ich usunięcie z gleby stało się poważnym problemem. Gleba i niektóre produkty roślinne nadal mogą być zanieczyszczone pozostałościami lub metabolitami DDT po upływie 30 lat od całkowitego zakazu jego stosowania. Stanowi to duże zagrożenie dla środowiska szczególnie, że gleba wykazuje duże skłonności do bioakumulacji tych substancji. Zwiększona czułość analityczna metod i narzędzi wykorzystywanych do analizy pozostałości pestycydów spowodowała, że w ostatnich latach w Polsce coraz częściej wykrywane są pozostałości DDT w niektórych partiach produktów, także ekologicznych. Aby zapewnić wysoką jakość produktów ekologicznych i ich zgodność z przepisami UE, po przeprowadzeniu monitoringu w celu oceny zawartości pozostałości DDT i jej metabolitów w różnych glebach (wyniki wykazały, że około 80% próbek gleby pobranych na terenie ośmiu województw zawierało pozostałości DDT), rozpoczęliśmy program badawczy w celu przetestowania niektórych metod ich ekstrakcji z gleby.

W ciągu ostatnich dziesięcioleci opracowano wiele strategii mających na celu remediację, zanieczyszczonych chemicznie miejsc w całości lub w części, wykorzystując metody fizyczne, chemiczne i biologiczne. Wykorzystywanie mikroorganizmów do biotransformacji toksycznych związków, takich jak DDT, ma taką zaletę, że jest przyjazne dla środowiska i ma stosunkowo niski koszt stosowania w porównaniu z metodami chemiczno-fizycznymi, które wymagają dużych inwestycji i w trakcie procesu generują odpady, z którymi trudno sobie poradzić. Dodatkowo, wykazano, że metody rekultywacji mają istotne znaczenie, a większość z nich skupia się na fitoremediacji, ze względu na łatwość stosowania, efektywność, niski koszt oraz ogólną akceptację.

Celem nadrzędnym podjętych badań była próba rozwiązania problemów, z jakimi borykają się producenci produktów ekologicznych. Badania miały na celu poszerzenie wiedzy oraz opracowanie metod i zaleceń zawierających informacje na temat jak można zmniejszyć ryzyko przypadkowej obecności pozostałości DDT w glebie i w produktach roślinnych używając strategii rizo-bio-remediacji, która ma wspomagać pobieranie i akumulację przez rośliny pozostałości DDT z gleby inokulowanej mikroorganizmami.

Ogólna metodyka badań i przeprowadzania analiz

Doświadczenia laboratoryjno-wazonowe prowadzono w 2-3 powtórzeniach, zaś laboratoryjne w 4 powtórzeniach.

Przygotowanie gleby do wazonów

Do niektórych doświadczeń (co zostało określone w metodyce poszczególnych doświadczeń) gleba była pobrana z kilku plantacji ekologicznych, na których analitycznie zostało wykryte DDT lub jego metabolity, następnie w większości przypadków w celu uzyskania wyższych poziomów DDT gleba rozkładana była na foli w 2 cm grubości warstwie i była równomiernie opryskiwana DDT-p,p (DDTp,p - stosowane jako standard analityczny w badaniach pozostałości) w dawce 2.5 mg lub 5,0 mg na 20 l gleby rozpuszczonym w acetonie i rozcieńczonym w wodzie, do której wcześniej dodano 30 ml acetonu na każdy litr wody. Aby zminimalizować niejednorodną absorpcję DDT przez glebę we wszystkich doświadczeniach glebę przygotowywano oddzielnie dla każdej kombinacji (odmiany) i każdego powtórzenia. W jednym przypadku zastosowano glebę, w której analitycznie nie stwierdzono

DDT ani jego metabolitów (suma DDT = nd), a w drugim tylko glebę pobraną z pól, gdzie analitycznie stwierdzono obecność DDT.



Fot. 1: Przygotowywanie gleby do doświadczeń wazonowych

Pobieranie prób gleby i materiału roślinnego do analiz

Próby gleby do analiz pobierano dwukrotnie przed założeniem doświadczeń w celu stwierdzenia pozostałości DDT w glebie oraz drugi raz po zastosowaniu zabiegów rekultywujących (wysiewanie roślin, stosowanie środków bakteryjnych i grzybowych). Próby gleby do analizy obecności DDT pobierano za pomocą laski Egnera, do głębokości 25 cm z 20-25 punktów rozmieszczonych losowo na powierzchni pola (pola, z których była pobrana gleba do doświadczeń), lub z każdej doniczki z 10 miejsc (doświadczenia wazonowe) każdej kombinacji (uśredniona próba gleby – 1 kg). Różne organy roślinne (korzenie, części nadziemne) w próbie minimum 300g pobierano po okresie wzrostu roślin. Próby do badań pobierano zgodnie z metodyką opisaną w rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 27 listopada 2013 r. „w sprawie pobierania próbek roślin, produktów roślinnych lub przedmiotów do badań na obecność pozostałości środków ochrony roślin” (Dz.U. 2013, poz. 1549)

Analiza gleby pod względem właściwości fizykochemicznych

Makroskładniki były określone na podstawie wyciągu 0,03 N kwasie octowym metodą uniwersalną wg Nowosielskiego (1974, 1978), a mikroskładniki w wyciągu Lindsaya opartym na roztworze EDTA metodą spektrometrii plazmowej.

2.4 Ocena stanu wzrostu posadzonych roślin

Ocenie podlegały rośliny rosnące w doniczkach, gdzie do gleby stosowano mikroorganizmy oraz gdzie ich nie stosowano (rośliny kontrolne). Oceniano ogólną kondycję roślin, między innymi wzrost części nadziemnej i wagę oraz wygląd systemu korzeniowego, który oceniany był wg 3-stopniowej skali: 1 – gleba w doniczce cała przerosnięta korzeniami, system korzeniowy dobrze rozwinięty; 2 - gleba w doniczce średnio przerosnięta korzeniami, system korzeniowy średnio rozwinięty; 3 - gleba w doniczce słabo przerosnięta korzeniami, system korzeniowy słabo rozwinięty.



Fot. 2: Ocena wzrostu roślin



Fot. 3: Ocena systemu korzeniowego

Charakterystyka grzybów

Analiza profilu metabolicznego grzybów w obecności DDT

Wszystkie fenotypy izolowanych szczepów *Trichoderma harzianum* i *Rhizopus stolonifer* oraz wpływ DDT na ich metabolizm węglowy zostały określone przy użyciu systemu Phenotype MicroArray™. Inokulację zawiesiny szczepów grzybów rozpuszczone 1 mg/l DDT rozpuszonym w acetonie przeprowadzono w FF MicroPlates (Biolog™, Inc.).p W celu otrzymania konidiów do inokulacji badane gatunki grzybów hodowano na płytkach 2% MEA bez dostępu światła w 25°C przez 7 dni.

Aktywność oddechową grzybów mierzono intensywnością purpurowego zabarwienia wynikającego z redukcji barwnika tetrazolowego redoks (p-jodonitrotetrazolium), obecnego w studzienkach płytek FF, poprzez działanie dehydrogenazy bursztynianu grzybowego, jako wskaźnika aktywności oddechowej. Gęstość optyczną studzienek Biolog przy 490 nm (OD490) i 750 nm (OD750) do oceny aktywności oddechowej i biomasy grzybowej wzrostu grzywni, mierzono przy użyciu czytnika

mikroplótek (urządzenie molekularne, Vmax). Po inokulacji zmierzono obydwie gęstości optyczne, aby wyzerować spektrofotometr specjalnie dla każdej płytki Biolog. Następnie płytki odczytano w określonych odstępach czasu (0, 24, 48, 72, 96, 144, 168, 192, 216 i 240 godzin). Uzyskane pomiary optyczne zastosowano do oceny ogólnych różnic w metabolizmie (ko-metabolizm lub hamowanie) przez badanie wykorzystania różnych substratów obecności DDT lub przy jego braku.

Pakiet opm (wersja 1.3.72) dla oprogramowania R (wersja 3.4.3) został wykorzystany do analizy danych wyjściowych z systemu Phenotype MicroArray™ (PM). Cały zestaw danych składający się ze wszystkich wartości OD: 3 powtórzenia × 96 substratów × 2 traktowania (kontrola, DDT w acetonie) × 2 parametry metaboliczne (oddychanie i wzrost grzybni) = 1152 indywidualnych krzywych PM.

Ścieżki metaboliczne dla gatunków grzybów zostały utworzone przy użyciu polecenia "pathview" z pakietu homonimicznego. Średnią tej funkcji i zdefiniowany przez użytkownika wykres ścieżki pobrano z Encyklopedii Kioto Genów i Genomów (KEGG), a następnie zintegrowano z dodatkowymi danymi z odczytów tablic FF.

Ocena stresu oksydacyjnego

Dwa izolaty należące do gatunku *Rhizopus stolonifer* i *Trichoderma harzianum* z 24 ocenianych grzybów pod względem tolerancji DDT zostały wybrane do monitorowania zmian w produkcji reaktywnych form tlenu (ROS) przy aktywności następujących enzymów antyoksydacyjnych w obecności DDT: dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), katalaza (CAT), s-transferaza glutationowa (GST) i peroksydaza (POX). Szczepy wybrano na podstawie ich wzrostu i parametrów metabolicznych takich jak: zdolność do sporulacji, średnica wzrostu kolonii, wytwarzanie biomasy w odniesieniu do wcześniej zarejestrowanych wyników i brak wytwarzania mikotoksyn według danych podanych w literaturze (Domsch i wsp., 2007).

Wybrane szczepy hodowano przez 7 dni w MEA w 25°C. Zawiesinę zarodników w stężeniu 2 x 10⁸ spor/ml przygotowano stosując zliczającą komorę Thoma. Zarodniki usunięto z płytek hodowlanych za pomocą jałowej pętli przez dodanie sterylnej wody destylowanej modyfikowanej za pomocą Tween 20. Zawiesinę kilkakrotnie przesączono przez kilka sterylnych siatek w celu usunięcia resztek strzępków lub konidioforów i 5 ml (zawierających 5,5 * 10⁸ zarodników/mL) końcowej zawiesiny sporów zaszczepiono w 75 ml pożywki Czapek-Dox (sacharoza 30 g/l; NaNO₃ 3 g/l; KH₂PO₄ 1 g/l; MgSO₄ 7H₂O 0,5 g/l; KCl 0,5 g/l; FeSO₄ H₂O 0,01 g/l, woda destylowana 1 L) i doprowadzono do pH 5,6 za pomocą 1M HCl, przed sterylizacją w autoklawie. Grzybnię zebrano po 24 godzinach przez odwirowanie i ponownie zawieszono ją w świeżej pożywce Czapek-Dox z dodatkiem lub bez dodatku czynnika stresu oksydacyjnego (izomeryczna mieszanina DDT o końcowym stężeniu 1 mg/l). Grzybnię zebrano przez odsączenie, przemyto sterylną, destylowaną H₂O, a następnie zimnym 50 mM buforem potasowym (pH 7,8) i ponownie zawieszono w tym samym buforze. Zawiesinę komórek rozbito stosując Tissue Lyser LT (Qiagen) i po odwirowaniu (12 000 g przez 20 min w 4°C) zebrano supernatant, aby określić wytwarzanie ROS i aktywność enzymów.

Wytwarzanie ROS określono stosując barwnik diacetanu 2', 7'-dichlorodihydrofluoresceiny, permeantu z naprężeniami oksydacyjnymi (H₂DCFDA, Sigma Aldrich), który utleniało do 2,7-dichlorofluoresceiny (DCF) w barwniku fluorescencyjnym z długościami fal wzbudzenia / emisji 350 nm / 600 nm (Galdiero i wsp., 2016, Russo i wsp., 2017).

Aktywność enzymów CAT, SOD, GST i POX określono przy użyciu dostępnych w handlu zestawów do oznaczeń (Sigma-Aldrich) zgodnie z protokołami producenta. Aktywność CAT określono przez pomiar spadku H_2O_2 przy 240 nm (Aebi, 1984) za pomocą spektrofotometru (Hach Lange DR5000) w różnych czasach (30, 60, 90, 120 s). Jedną jednostką CAT została zdefiniowana jako ilość enzymu, która spowodowała zmniejszenie absorbancji przy 240 nm 0,01 na minutę.

Aktywność enzymów SOD, GST i POX mierzono czytnikiem mikropłytek (BioTek™ Synergy™ H4 Hybrid). SOD wyrażono przez określenie absorbancji przy 440 nm i jedną jednostkę aktywności enzymu wyrażono, jako ilość enzymów wymaganych do 50% hamowania redukcji błękitem nitrotetrazoliowym. Aktywność GST obliczono przez pomiar zmian absorbancji zarejestrowanych przy 340 nm odpowiadających koniugacji kwasu 1-chloro-2,4-dinitrobenzen / etakryn przez GST. Aktywność POX zmierzono rejestrując absorbancję przy 570 nm i jedną jednostkę POX zdefiniowano jako ilość enzymu, która zmniejsza 1,0 mmol H_2O_2 na minutę.

Zawartość białka zmierzono stosując protokół zgłoszony przez Bradford (1976) z albuminą surowicy bydlęcej jako standardem, w celu znormalizowania wyników aktywności enzymatycznych.

Charakterystyka bakterii

Cztery szczepy bakterii (R2-C3, SKA-B, R2-B2, SKA-A3) zostały wybranych do badań i charakterystyki.

Przygotowanie próbek do badań

Z uwagi na to, że szalki oznaczone jako SKA-B, R2-B2 i SKA-A3 zawierały więcej niż jeden morfotyp kolonii bakteryjnych, pobrano z nich biomasę, którą zawieszono w jałowym roztworze zbuforowanej soli fizjologicznej. Z tak przygotowanych zawiesin, przygotowano serie kolejnych dziesięciokrotnych rozcieńczeń, które wysiano na szalki z pożywką R2A. Zainokulowane szalki inkubowano przez 72-168 godzin w temperaturze 30°C. Następnie kolonie wyrosłe na pożywkach agarowych podzielono na morfotypy i przeszczepiono na pożywki Biolog Universal Growth Agar oraz R2A i inkubowano w 33°C przez 24-48 godzin. Szczep pochodzący z szalki oznaczonej, jako R2-C3 przeszczepiono na pożywkę Biolog Universal Growth Agar i inkubowano przez 24 godziny w temperaturze 33°C.

Identyfikacja bakterii na podstawie profilu biochemicznego

Do identyfikacji wybrano najczęściej występujące morfotypy. Bakterie poddano wstępnemu różnicowaniu na podstawie budowy ściany komórkowej przy pomocy 3% wodorotlenku potasu. Kolonie bakteryjne wyrosłe po 24-48 godzinach na pożywkach agarowych Biolog Universal Growth Agar oraz R2A zawieszono w płynie inokulacyjnym ID-B tak, aby przezierność mierzona w mętnościomierzu zawierała się w przedziale 90-98%. Następnie tak przygotowaną zawiesiną zainokulowano płytki typu GENIII (Biolog Inc) i inkubowano przez 48 godzin w temperaturze 33°C. Wyniki odczytywano codziennie przy użyciu czytnika płytek tritacyjnych ELx 808 (Biotek). Uzyskane profile fenotypowe zostały zinterpretowane przez oprogramowanie Microlog3 (wersja 5.2.01), wyposażonego w bazę danych dla płytek GENIII (wersja 2.7.1).

Opracowanie inokulum mikroorganizmów

Z 24 gatunków grzybów wyizolowanych z próbek zanieczyszczonej DDT gleby wybrano 3 szczepy (*Trichoderma harzianum*, *Mortierella humulis* i *Rhizopus stolonifer*), które wykazywały najwyższą tolerancję na obecność izomerów DDT (o, p'-DDT: p, p'-DDT 1:4) oraz 4 szczepy bakterii (R2-C3, SKA-B, R2-B2, SKA-A3) również wyizolowane z tych samych próbek zanieczyszczonej gleby w celu zbadania ich wpływu na redukcję DDT w glebie. Wybrane mikroorganizmy zostały namnożone i przygotowano z nich formułacje płynne gotowe do stosowania. Zawartość grzybów i bakterii w poszczególnych inokulach przedstawia Tabela 1.

Tabela 1. Zawartość grzybów i bakterii w przygotowanych preparatach

Bakterie	jtk/ml	Grzyby	jtk/ml
R2-C3	$4,1 \times 10^7$	<i>Trichoderma harzianum</i>	4.0×10^4
R2-B2	$3,5 \times 10^6$	<i>Mortierella humulis</i>	$1,0 \times 10^6$
SKA-B	$2,6 \times 10^5$	<i>Rhizopus stolonifer</i>	1.2×10^6
SKA-A3	$1,8 \times 10^7$		

Analiza pozostałości DDT w materiale roślinnym i glebowym

Przygotowanie próbek do analizy pozostałości

Po dostarczeniu próbek do laboratorium zarejestrowano je, nadano im numer kodowy oraz wydzielono próbkę analityczną. Próbki, które nie wymagały wstępnej obróbki tj. gleba oraz części zielone roślin, po nadaniu numeru zostały zamrożone. Korzenie roślin, które były zabrudzone ziemią, przed zamrożeniem zostały umyte, osuszone i rozdrobnione. Wszystkie próbki, z wyjątkiem próbek gleby, po zamrożeniu zostały zmielone w suchym lodzie.

Oznaczenie powietrznie suchej masy w glebie

Do oznaczenia suchej masy w glebie użyto naczynek wagowych z pokrywą, które uprzednio suszono przez 2h w temp. 105°C w suszarce z wymuszonym obiegiem powietrza, po czym trzymano w eksykatorze przez minimum 30 min. Wystudzone naczynko z pokrywą ważono na wadze analitycznej. Do tak przygotowanych naczynek odważono po 10 g gleby. Wykonano 3 powtórzenia dla każdej próbki. Glebę suszono w temperaturze 80°C przez ok 24 h. Po wyjęciu z suszarki próby trzymano w temperaturze pokojowej przez ok. 2 h dla wyrównania wilgotności próbki z wilgotnością powietrza i ważono.

Tabela 2. Wyniki obliczono i zapisywano w zeszycie prowadzonym wg wzoru:

Nr próbki	1 Masa naczynka	2 Masa próbki przed wysuszeniem	3 Masa naczynka z próbka po wysuszeniu	4 Masa próbki po wysuszeniu $4=3-1$	5 Sucha masa [%] $SM=4/2*100$
-----------	--------------------	------------------------------------	---	---	-------------------------------------

Suchą masę uzyskaną z trzech powtórzeń uśredniano i uwzględniano w wyniku końcowym analizy.

Opis sposobu przygotowania próbek do analiz

Do analizy pozostałości DDT zastosowano metodę QuEChERS, która została opisana w normie PN-EN 15662:2008. Metoda badawcza polega na ekstrakcji substancji czynnej z analizowanej próbki poprzez homogenizację z acetonitrylem, a następnie oczyszczeniu ekstraktu z wykorzystaniem dyspersyjnej ekstrakcji do fazy stałej (dSPE). W celu przygotowania próbek odważano 10 lub 5 g porcji analitycznej, w zależności od rodzaju matrycy, do teflonowej probówki wirówkowej. Próbki do badania odzysku traktowano roztworem o odpowiednim stężeniu standardu analitycznego DDT. Do próbek o mniejszej zawartości wody dodawano 10 g wody. Za pomocą pipety miarowej dodano 10 ml acetonitrylu i wytrząsano przez 1 min przy użyciu wytrząsarki typu Vortex. Następnie dodano czteroskładnikową naważkę, zawierającą 4 g bezwodnego siarczanu magnezu, 1 g chlorku sodu, 1 g cytrynianu trójsodowego dwuwodnego i 0,5 g wodorocytrynianu dwusodowego seskwiwodnego i wytrząsano przez ok. 1 minutę przy użyciu wytrząsarki typu Vortex. Probówkę wirówkową wraz z zawartością wirowano przez ok. 5 minut z przyspieszeniem ok. 5000 g. Po odwirowaniu przeniesiono pipetą Pasteura ok. 1,5 ml supernatantu (górną warstwę acetonitrylową) do probówki wirówkowej Eppendorfa zawierającej dwuskładnikową naważkę (25 mg PSA i 150 mg siarczanu magnezu). Probówkę wraz z zawartością wytrząsano przez ok. 1 minutę przy użyciu wytrząsarki typu Vortex, a następnie wirowano przy użyciu wirówki do probówek Eppendorfa przez co najmniej 1 minutę. Pobrano pipetą automatyczną 1 ml roztworu z nad osadu i przeniesiono do naczynka autosamplera. Dodano 100 µl acetonitrylu i 50 µl roztworu standardu wewnętrznego trifenylofosforanu (TPP) o stężeniu 20 µg/mL. Do próbek kalibracyjnych dodano 100 µl roztworu standardu analitycznego o odpowiednim stężeniu. Zawartość DDT w próbkach analizowano przy użyciu chromatografu gazowego Agilent Technologies 6890N wyposażonego w detektor masowy 5975B Inert XL MSD. Parametry pracy chromatografu gazowego przedstawiono poniżej:

Column:

Zebtron™ ZB-MultiResidue™-1, GC Cap. Column 30 m x 0.25 mm x 0.25 µm, Ea
Dimension: 30 meters x 0.25 mm x 0.25 µm

Oven:

Initial temp: 40 °C

Initial time: 2 min

Ramps:

1 30 °C/min to 150 °C for 0 min.

2 20 °C/min to 220 °C for 0 min.

3 3 °C/min to 250 °C for 2 min.

Carrier Gas:

Constant Flow Helium 1 ml/min

Injection: PTV, Injection volume 8 µl

Initial temp 50 °C

Initial time 0,8 min

Ramp: 12°C/s to 300 °C

Obliczenia

Zgodnie z definicją pozostałości podaną w rozporządzeniu (WE) nr 396/2005 pozostałości DDT należy mierzyć, jako sumę izomerów DDT i jego metabolitów (DDE i DDD). DDT (sum of p,p'-

DDT, o,p'-DDT, p-p'-DDE and p,p'-TDE (DDD) expressed as DDT). Na tej podstawie oznaczenie pozostałości DDT i jego pochodnych przeprowadzono metodą chromatografii gazowej z detektorem masowym przy użyciu kolumny ZB-MR1. Pozostałości DDT w próbkach wyrażono w mg/kg, dokonując obliczeń zgodnie z poniższym równaniem matematycznym.

$$P = \frac{c_{wz} \cdot I_{pr} \cdot V \cdot A_{wz}}{I_{wz} \cdot m \cdot A_{pr}} \quad (1)$$

gdzie:

P - ilość pozostałości DDT [mg/kg];

c_{wz} - stężenie roztworu roboczego (kalibracyjnego) DDT wyrażone w [$\mu\text{g/ml}$];

I_{pr} - pole powierzchni piku chromatograficznego analitu w jego roztworze badanym;

V - objętość próbki (ekstraktu) [ml];

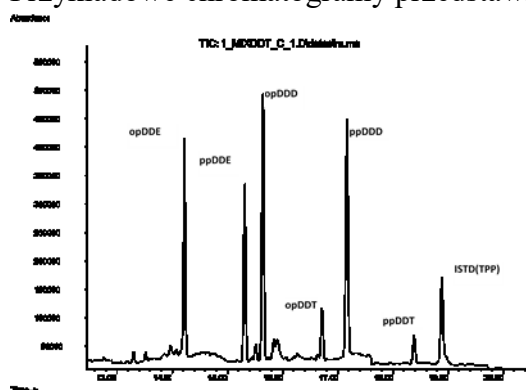
A_{wz} - pole powierzchni piku chromatograficznego standardu wewnętrznego w roztworze roboczym analitu (kalibracyjnym);

I_{wz} - pole powierzchni piku chromatograficznego analitu w jego roztworze roboczym;

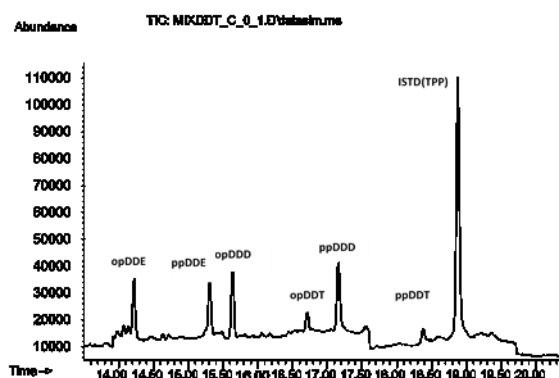
m - masa próbki [g];

A_{pr} - pole powierzchni piku chromatograficznego standardu wewnętrznego (ISTD) w roztworze badanym.

Przykładowe chromatogramy przedstawiono na rysunkach poniżej:



Rys.1. Chromatogram przedstawiający izomery DDT na poziomie 0,1mg/kg



Rys.2. Chromatogram przedstawiający izomery DDT na poziomie 1mg/kg

PODZADANIE 1

Ocena podatności odmian dyniowatych (*C. pepo*), mikroorganizmów stosowanych w uprawach ekologicznych oraz mikroorganizmów, które wykazują właściwości metabolizujące związki DDT na akumulację DDT i jego metabolitów pobranych z gleby.

Celem badań w tym podzadaniu była ocena zdolności akumulacji pozostałości DDT różnych odmian dyniowatych (*C. pepo*) w różnych warunkach glebowych, samodzielnie lub w połączeniu z dwoma rodzajami mikroorganizmów, które wspomagają wzrost rośliny lub wykazują właściwości do degradacji DDT. Były one testowane osobno lub w konsorcjum, a stosowane do gleby zanieczyszczonej DDT.

Kolejnym celem było określenia zdolności mikroorganizmów do ekspresji genów związanych z metabolizmem DDT, w celu polepszenia możliwości ich zastosowania w terenie.

Zakres badań i wykonanie

Zadanie realizowano w warunkach szklarniowo-wazonowych i laboratoryjnych z zastosowaniem gleby z pól i plantacji, na których w roku poprzednim lub bieżącym stwierdzono analitycznie obecność DDT oraz gleby wolnej od tego związku. Dla poszczególnych doświadczeń gleba została odpowiednio przygotowana według procedury opisanej w „**Ogólnej metodyce badań i przeprowadzania analiz**”. Doświadczenie wazonowe wykonano w Zakładzie Ochrony Roślin przed Szkodnikami w warunkach zbliżonych do naturalnych, wysiewając nasiona rośliny dyniowatych pozyskanych z USDA Germplasm Repository.

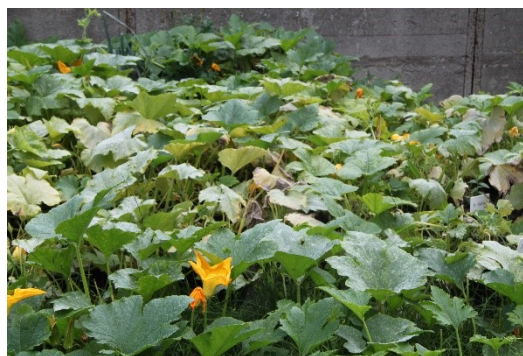
Działanie 1. Ocena przydatności kilku odmian dyniowatych (*C. pepo*) do akumulowania pozostałości DDT i jego metabolitów

Potwierdzenie przydatności odmiany *C. pepo*

Celem doświadczenia było potwierdzenie przydatności odmiany dyniowatych *C. pepo*, które wykazały wysoki poziom akumulowania pozostałości DDT w doświadczeniach przeprowadzonych w ubiegłym roku.

Metodyka doświadczenia

W doświadczeniu użyto 17 odmian roślin dyniowatych z materiału pozyskanego z USDA Germplasm Repository w 2017 roku. Rośliny wysiano 29.05.18r. w doniczki o pojemności 20 l (po 2 rośliny/doniczkę) w specjalnie przygotowaną glebę: glebę z pól (z pozostałościami „starego” DDT) oraz dodatkowo zastosowano analityczne DDT-p,p w dawce 2.5 mg na każde 20 l gleby. Przed założeniem doświadczenia, gleba została analitycznie zbadana na zawartość DDT i jego metabolitów. Doświadczenie wykonano w 2 powtórzeniach (1 doniczka stanowiła 1 powtórzenie. Próby do analiz pobrano 11.09.2018 roku po około 13 tygodniach od wysiania roślin.



Fot. 3: Doświadczenie z odmianami dyniowatych: po wysianiu nasion i rośliny w końcowej fazie doświadczenia

Wyniki

Zawartość DDT i jego metabolitów w glebie przed i po uprawie oraz w różnych częściach roślin dyni zestawiono w Tabeli 3.

Analiza poziomu DDT w glebie przed uprawą wykazała zróżnicowanie poziomu DDT w glebie już po aplikacji „nowego” DDT (analitycznego). Wynik podkreśla znaczenie pobierania próbek, ale także charakter zanieczyszczenia gleby przez DDT. W dużej mierze jest on zależny od zawartości gliny i materii organicznej w glebie, co powoduje niejednorodność jego występowania. Na taki wynik miało również wpływ zastosowanie zanieczyszczonej "starym" DDT gleby (gleba pobrana z pól, gdzie wcześniej analitycznie stwierdzono obecność DDT i jego metabolitów), dlatego też mimo, że metoda pobierania próbek była poprawna stała się czynnikiem zmienności.

Zawartość DDT w glebie po uprawie dyni wynosiła od 0,098 mg/kg do 0,355 mg/kg, średnia 0,205 mg/kg, a mediana 0,169 mg/kg (Tabela 3). Średni poziom wykrywanego DDT był niższy po uprawie dyni (0,174 mg/kg - mediana 0,177 mg/kg). Nawet jeśli w niektórych przypadkach pobrana gleba wykazała wyższą zawartość DDT po uprawie roślin, biorąc pod uwagę odsetek niepewności (50%) ustalony dla tych wartości - wciąż wartości te znajdowały się w dozwolonym zakresie. W korzeniach wszystkich odmian stwierdzono obecność DDT (średnio 0,110 mg/kg, mediana 0,117 mg/kg), ale w częściach nadziemnych wykryto tylko w przypadku dwóch odmian i to śladowe ilości, w zasadzie poniżej najwyższych dopuszczalnych poziomów pozostałości (NDP).

Tabela 3: Zawartość DDT i jego metabolitów w glebie przed i po uprawie oraz w różnych częściach roślin dyniowatych.

Doświadczenie wazonowe, Skierniewice 2018.

ODMIANA	DDEpp 14.151	DDDpp 15.389	DDTpp 16.598	DDT suma izomerów wyrażona jako DDT	DDEpp 14.151	DDDpp 15.389	DDTpp 16.598	DDT suma izomerów wyrażona jako DDT	DDEpp 14.151	DDDpp 15.389	DDTpp 16.598	DDT suma izomerów wyrażona jako DDT	DDT suma izomerów wyrażona jako DDT
	GLEBA PRZED UPRAWĄ				GLEBA PO UPRAWIE				KORZENIE				CZĘŚCI NADZIEMNE
Olivia	0.011	0.020	0.066	0.100	0.009	0.030	0.061	0.104	0.031	0.020		0.056	
PI 267 756	0.012	0.031	0.165	0.213	0.011	0.041	0.021	0.079	0.039	0.033	0.055	0.135	0.006
PI 451 849	0.014	0.035	0.110	0.164	0.012	0.039	0.088	0.144	0.030	0.044	0.033	0.116	
PI 451 851	0.010	0.027	0.121	0.162	0.011	0.036	0.151	0.203	0.025	0.035	0.027	0.094	
PI 451 852	0.011	0.034	0.104	0.155	0.023	0.053	0.122	0.207					
PI 451 853	0.008	0.042	0.123	0.179	0.011	0.038	0.137	0.191	0.027	0.039	0.027	0.101	
PI 458 750	0.010	0.032	0.136	0.182	0.012	0.041	0.081	0.140	0.037	0.051	0.036	0.133	
PI 508 465	0.008	0.032	0.140	0.184	0.014	0.041	0.101	0.162	0.036	0.068	0.045	0.160	
PI 615 155	0.008	0.042	0.123	0.178	0.013	0.041	0.138	0.198	0.030	0.021	0.028	0.084	
AMES26 607	0.018	0.077	0.201	0.306	0.019	0.028	0.216	0.268	0.009	0.028		0.041	
AMES21 653	0.016	0.067	0.262	0.355	0.021	0.044	0.230	0.303	0.031	0.037	0.048	0.124	0.004
AMES25 700	0.016	0.054	0.184	0.262	0.012	0.030	0.118	0.165	0.025	0.019	0.079	0.127	0.004
AMES26 951	0.015	0.057	0.186	0.266	0.013	0.037	0.121	0.177	0.032	0.078	0.065	0.186	
AMES28 296	0.012	0.051	0.222	0.293	0.012	0.030	0.088	0.133	0.038	0.017	0.056	0.117	
AMES29 181	0.013	0.044	0.091	0.155	0.015	0.024	0.152	0.196	0.032	0.022	0.070	0.130	0.009
NSL 180 768	0.014	0.042	0.035	0.098	0.011	0.040	0.058	0.114	0.022	0.021		0.047	

Ocena przydatności odmian *C. pepo* do akumulacji DDT w zależności od jego poziomu w glebie

Celem doświadczenia była ocena przydatności wybranych odmian dyniowatych *C. pepo* w akumulacji DDT i jego metabolitów przy dwóch poziomach jego obecności w glebie.

Metodyka doświadczenia

Rośliny w tym doświadczeniu posadzono 29.05.18r. w doniczki o pojemności 20 l (po 2 rośliny/doniczkę) w specjalnie przygotowaną glebę: glebę z pól + analityczne DDT-p,p w dawce 2.5 mg (niski poziom) lub 5 mg (wysoki poziom) na każde 20 l gleby (Analityczne DDT stosowane wg procedury opisanej w Metodyce przygotowania gleby). Przed założeniem doświadczenia, gleba została zbadana na zawartość DDT i jego metabolitów. Doświadczenie wykonano w 2 powtórzeniach (1 doniczka stanowiła 1 powtórzenie). Do doświadczenia testowano 5 odmian dyniowatych z różnych rejonów świata. Próby do analiz pobrano 11.09.2018 roku po około 13 tygodniach od wysiania roślin.

Wyniki

Analiza poziomu DDT w glebie przed uprawą wykazała zróżnicowanie poziomu DDT w glebie już po aplikacji „nowego” DDT. Jednak zakres wartości zawsze mieścił się w przedziale niepewności (50%), zarówno dla niskiego jak i wysokiego poziomu DDT. Niemniej jednak, warto zauważyć, że chociaż wysoka dawka (5 mg) analitycznego DDT wprowadzonego do gleby była dwukrotnie wyższa niż niska dawka (2.5 mg), to średni poziom DDT w glebie uzyskany po dodaniu wysokiej dawki był tylko o około 50% wyższy niż w przypadku poziomu uzyskanego po dodaniu niskiej dawki (2.5 mg), a nie jak można by się spodziewać 100%. Potwierdza to wiązanie się cząsteczek DDT z cząsteczkami gleby (zarówno materią organiczną, jak i gliną). Gleba nie jest materiałem obojętnym i można oczekiwać, że interakcje z pozostałościami pestycydów będą różnorodne i złożone. W glebie, hydrofobowe cząsteczki, takie jak DDT, prawdopodobnie w wodnym roztworze i nie mogą występować, jako samodzielne, ale jako silnie związane cząsteczki.

W przypadku wyższego poziomu zawartość DDT w glebie po uprawie dyni wynosiła od 0,087 mg/kg do 0,366 mg/kg, średnia 0,206 mg/kg i mediana 0,210 mg/kg, co wskazuje na zmniejszenie średniej zawartość DDT w glebie o około 40% (Tabela 4). Najniższą wartość redukcji (75%) stwierdzono przy uprawie odmiany PI 614 700, ale w tym traktowaniu niestety rośliny nie wzeszły, a zatem brak jest danych dotyczących poziomu DDT w korzeniach i częściach nadziemnych. Średni poziom DDT określony w częściach nadziemnych był dość wysoki (0,366 mg/kg, mediana 0,354 mg/kg) we wszystkich trzech odmianach, które były w stanie zakończyć cykl wzrostu. W jednym przypadku (AMES 26 607) poziom pozostałości określony w korzeniach był jeszcze wyższy niż początkowy poziom ustalony w glebie przed zasianiem roślin.

Rozważając wyniki z zastosowaniem niższego poziomu DDT, widoczna była również redukcja w glebie, ale ograniczona do około 25%. Przy niskim poziomie tylko jedna odmiana była w stanie ukończyć cykl wzrostu i w tym przypadku poziom pozostałości DDT korzeniach wynosił 0,041 mg/kg, co stanowiło około 15% początkowego poziomu DDT w glebie. Warto zauważyć, że była to ta sama odmiana, w której wykryto najwyższy poziom DDT w korzeniach po uprawie z wysokim jego poziomem w glebie.

DDT nie wykryto w częściach nadziemnych roślin u żadnej z odmian przy niskim poziomie DDT, a w przypadku wysokiego poziomu w jednej odmianie - PI 532 355. Ta odmiana wykazała dość interesującą zależność, a mianowicie poziom DDT w częściach nadziemnych stanowił 17%, 37% i 22% poziomu DDT określonego w glebie przed, po uprawie roślin oraz w korzeniach odpowiednio.



Fig. 3: Rośliny dyni tuż przed pobraniem prób

Tabela 4: Poziom pozostałości DDT i jego metabolitów w glebie oraz w różnych częściach roślin dyniowatych w zależności o poziomu jego występowania w glebie.

Doświadczenie wazonowe. Skierniewice 2018.

ODMIANA	DDEpp 14.151	DDDpp 15.389	DDTpp 16.598	DDT suma izomerów wyrażona jako DDT	DDEpp 14.151	DDDpp 15.389	DDTpp 16.598	DDT suma izomerów wyrażona jako DDT	DDEpp 14.151	DDDpp 15.389	DDTpp 16.598	DDT suma izomerów wyrażona jako DDT	DDT suma izomerów wyrażona jako DDT
	GLEBA PRZED UPRAWĄ				GLEBA PO UPRAWIE				KORZENIE				CZĘŚCI NADZIEMNE
Niski poziom													
PI 532 355	0.012	0.049	0.129	0.196	0.012	0.041	0.081	0.140					
PI 614 692	0.013	0.039	0.143	0.200	0.014	0.041	0.101	0.162					
PI 614 700	0.011	0.041	0.183	0.241	0.012	0.030	0.118	0.165					
PI 614 701	0.010	0.063	0.191	0.272	0.013	0.037	0.121	0.177					
AMES 26 607	0.018	0.077	0.201	0.306	0.019	0.028	0.216	0.268	0.009	0.028		0.041	
Wysoki poziom													
PI 532 355	0.009	0.071	0.282	0.371	0.014	0.060	0.083	0.165	0.041	0.079	0.158	0.291	0.062
PI 614 692	0.012	0.067	0.269	0.357	0.015	0.046	0.268	0.336					
PI 614 700	0.014	0.043	0.301	0.365	0.010	0.038	0.034	0.087					
PI 614 701	0.014	0.054	0.257	0.332	0.010	0.033	0.162	0.210	0.054	0.180	0.094	0.354	
AMES 26 607	0.020	0.119	0.161	0.316	0.015	0.064	0.144	0.231	0.045	0.127	0.232	0.424	

Działanie 2. Zastosowanie i ocena roślin akumulujących zanieczyszczenia powodowane przez DDT w glebie łącznie z mikroorganizmami.

Wpływ mikroorganizmów (bakterii i grzybów) na akumulację DDT i jego metabolitów w roślinach dyniowatych

Celem doświadczenia była ocena wpływu mikroorganizmów (bakterii i grzybów) na akumulację DDT i jego metabolitów przez rośliny dyniowate. W doświadczenie obejmowało 3 odmiany tych roślin.

Metodyka doświadczenia

Do tego doświadczenia gleba została przygotowana podobnie jak w doświadczeniach poprzednich. Do gleby pobranej z pól o stwierdzonej obecności DDT dodatkowo analityczne DDT-p,p stosując 2.5 mg na każde 20 l gleby. W dniu 29.05.18r. wysiano nasiona 3 odmian roślin dyniowatych: PI 614 699, PI 614 700, PI 614 701. Następnie w tym samym dniu zastosowano przewidziane mikroorganizmy. Dawki i terminy ich stosowania przedstawia Tabela 5. Doświadczenie założono w 3 powtórzeniach (1 doniczka stanowiła 1 powtórzenie).

Tabela 5: Wykaz zastosowanych mikroorganizmów, termin stosowania i dawka. Skierniewice 2018

Nr kombinacji	Mikroorganizmy	Termin stosowania i dawka w ml/doniczkę	
		29.05.18 r.	8.08.18 r.
Grzyby			
2	<i>Trichoderma harzianum</i>	150	400
3	<i>Mortierella humulis</i>	150	250
4	<i>Rhizopus stolonifer</i>	150	250
Bakterie			
5	R2-C3 - <i>B. pumilus</i> lub <i>B. safensis</i>	100	125
6	R2-B2 - <i>B. subtilis</i> ss. <i>subtilis</i>	100	125
7	SKA-B2 - <i>Paenibacillus</i> spp.	100	125
8	SKA-A3 - <i>B. subtilis</i> ss. <i>subtilis</i> + <i>B. pumilus/safensis</i>	100	125
Grzyby i bakterie			
9	<i>Mortierella humulis</i> + 4 szczepy bakterii	150 + (4x100)	250 + (4 x 125)
10	<i>Rhizopus stolonifer</i> + 4 szczepy bakterii	150 + (4x100)	250 + (4 x 125)
11	<i>Trichoderma spp</i> + 4 szczepy bakterii	150 + (4x100)	400 + (4 x 125)

Wyniki

Mikroorganizmy zastosowane do gleby wspierały kiełkowanie i wzrost roślin. Rzeczywiście, rośliny, które nie otrzymały inokulum, mimo że doniczki traktowano w ten sam sposób, nie kiełkowały (Tab. 6). Jednakże odmiana PI 614 699 rosła tylko w obecności *Rhizopus* i *Trichoderma* (z bakteriami lub bez), podczas gdy rośliny z gatunku PI 614 701 nie rosły po zastosowaniu do gleby inokulum grzybów *Mortierella* i *Rhizopus* oraz konsorcjum samych bakterii. Odmiana PI 614 700 nie rosła po traktowaniu grzybami z rodzaju *Rhizopus* i mieszaniną *Trichoderma* + bakterie.

Chociaż możliwe jest, że brak kiełkowania roślin był spowodowany słabą siłą kiełkowania nasion, prawdopodobnie ze względu na ich wiek (otrzymaliśmy je z repozytorium USDA), ale warto zauważyć możliwy pozytywny wpływ mikroorganizmów polegający na prawdopodobnym wspomaganie mechanizmów wzrostu roślin, które jest typowy dla rizoferowych mikroorganizmów. Wszystkie gatunki bakterii i co najmniej jeden gatunek grzybów (*Trichoderma* spp.) Są ogólnie uważane za korzystne dla roślin, ponieważ kilka szczepów wyizolowanych z różnych gleb i różnych gatunków roślin wykazywało pozytywne działanie zarówno w odżywianiu, jak i w mechanizmach ochrony roślin.

Najważniejszym wynikiem badania jest to, że wszystkie mikroorganizmy sprzyjały pobieraniu DDT przez rośliny (Tab. 6). W 11 z 13 przypadków (tj. 85%) wykryto pobieranie i translokację do do korzeni, części nadziemnych, a w 2 przypadkach tylko do korzeni. *Mortierella* i *Trichoderma* wydają się sprzyjać akumulacji większej ilości DDT niż *Rhizopus*. Ponadto połączenie *Mortierella* z bakteriami spowodowało najwyższy poziom DDT w korzeniach, ale bez translokacji do części nadziemnej.

Ogólnie rzecz biorąc, pobrana ilość wynosiła około 50% sumy DDT w glebie i roślinie. W niektórych przypadkach suma ta była wyższa niż ilość DDT określona w glebie przed zasianiem roślin. Jest to jednak zgodne z procentem niepewności (50%), który charakteryzuje te określone wartości.

Tabela 6: Wpływ zastosowanych mikroorganizmów (bakterie i grzyby) na zawartość DDT i jego metabolitów w glebie i w roślinach dyniowatych
Doświadczenie wazonowe. Skierniewice 2018.

ODMIANA + MIKROORGANIZM	DDEpp	DDDpp	DDTpp	DDT suma izomerów wyrażona jako DDT	DDEpp	DDDpp	DDTpp	DDT suma izomerów wyrażona jako DDT	DDEpp	DDDpp	DDTpp	DDT suma izomerów wyrażona jako DDT	DDDpp	DDT suma izomerów wyrażona jako DDT
	14.151	15.389	16.598		14.151	15.389	16.598		14.151	15.389	16.598		15.389	
	GLEBA PRZED UPRAWĄ				GLEBA PO UPRAWIE				KORZENIE				CZEŚCI NADZIEMNE	
PI 614 699	0.010	0.042	0.184	0.242										
PI 614 700	0.011	0.041	0.183	0.241										
PI 614 701	0.010	0.063	0.191	0.272										
PI 614 699 + Morteriella	0.016	0.055	0.220	0.299										
PI 614 700 + Morteriella	0.014	0.051	0.229	0.301	0.014	0.037	0.130	0.186	0.034	0.047	0.116	0.205	0.008	0.009
PI 614 701 + Morteriella	0.020	0.059	0.178	0.266	0.014	0.032	0.099	0.150	0.028	0.095	0.026	0.163	0.011	0.013
PI 614 699 + Mort.+bakt.	0.015	0.055	0.111	0.189	0.015	0.032	0.077	0.129						
PI 614 700 + Mort.+bakt.	0.014	0.047	0.088	0.156	0.015	0.029	0.076	0.125	0.032	0.116	0.208	0.373		ND
PI 614 701 + Mort.+bakt.	0.015	0.046	0.061	0.129										
PI 614 699 + Rhizopus	0.015	0.043	0.061	0.126	0.018	0.033	0.067	0.124	0.018	0.024	0.144	0.191		ND
PI 614 700 + Rhizopus	0.014	0.044	0.043	0.107	0.013	0.035	0.088	0.141	0.023	0.051	0.031	0.114	0.007	0.008
PI 614 701 + Rhizopus	0.018	0.061	0.062	0.150	0.020	0.042	0.155	0.224		0.041		0.046	0.009	0.010
PI 614 699 + Rhiz+bakt.	0.013	0.050	0.042	0.113	0.015	0.029	0.105	0.154						
PI 614 700 + Rhiz+bakt.	0.010	0.040	0.034	0.090										
PI 614 701 + Rhiz+bakt.	0.017	0.051	0.055	0.130										
PI 614 699 + Trichoderma	0.024	0.036	0.094	0.160	0.014	0.036	0.069	0.125	0.017	0.035		0.058	0.007	0.008
PI 614 700 + Trichoderma	0.029	0.035	0.100	0.171	0.018	0.060	0.138	0.225	0.037	0.078	0.084	0.212	0.013	0.015
PI 614 701 + Trichoderma	0.030	0.033	0.088	0.158	0.015	0.033	0.111	0.164	0.040	0.094	0.068	0.217	0.007	0.007
PI 614 699 + Trich..+bakt.	0.036	0.038	0.074	0.156	0.013	0.037	0.077	0.133	0.028	0.061	0.026	0.125	0.009	0.010
PI 614 700 + Trich..+bakt.	0.039	0.039	0.074	0.161	0.020	0.042	0.050	0.119						
PI 614 701 + Trich..+bakt.	0.061	0.049	0.086	0.207	0.015	0.041	0.067	0.129	0.028	0.064	0.029	0.131	0.009	0.010
PI 614 699 + bakterie	0.053	0.043	0.059	0.165	0.020	0.024	0.131	0.179						
PI 614 700 + bakterie	0.016	0.046	0.060	0.129	0.009	0.020	0.180	0.212	0.027	0.076	0.100	0.215	0.003	0.004
PI 614 701 + bakterie	0.013	0.040	0.053	0.112	0.015	0.037	0.076	0.134	0.027	0.078	0.089	0.206	0.005	0.005

Wpływ pożytecznych mikroorganizmów (grzyby mikoryzowe i bakterie rizoferowe) na akumulację DDT i jego metabolitów przez rośliny dyniowate

Celem doświadczenia była ocena wpływu pożytecznych mikroorganizmów (grzybów mikoryzowych i bakterii rizoferowych) na akumulację DDT i jego metabolitów przez rośliny dyniowate. Doświadczenie przeprowadzono na 6 odmianach.

Metodyka doświadczenia

Do tego doświadczenia glebę pobraną z pól wzbogacono analitycznym DDT-p,p stosując 2.5 mg na każde 20 l gleby. W dniu 29.05.18r. wysiano nasiona 6 odmian roślin dyniowatych: PI 531 323, PI 532 355, PI 614 692, PI 614 699, PI 614 701 i AMES 26 607, po 2 do jednej doniczki. Produkt Micosat stosowano w 01.06.2018 w dawce 1g/doniczkę. Produkt zawiera 10^6 jfk grzybów mikoryzowych i 10^7 jfk różnych bakterie pożytecznych w 1 g środka. Doświadczenie założono w 3 powtórzeniach (1 doniczka stanowiła 1 powtórzenie).

Wyniki

Podobnie jak w poprzednim badaniu, także w tej próbie dodanie inokulum korzystnych mikroorganizmów wspomagało kiełkowanie, wzrost i lepszą kondycję roślin w porównaniu z roślinami kontrolnymi (Tab. 7). Z roślin, które zostały wysiane i nie zastosowano inokulum wykiełkowała i rosła tylko jedna odmiana - AMES 26 607. Inokulum sprzyjało pobieraniu DDT przez system korzeniowy roślin w 4 z 6 odmian, ale w żadnej nie stwierdzono translokacji do części nadziemnych.

Ilość DDT pobranego przez odmianę AMES 26 607 była znacznie wyższa (około 4 razy) w obecności inokulum, niż gdy rosła bez niego. Jest to dość istotne, gdy rozważa się również porównanie zawartości w glebie przed i po uprawie roślin. Z danych wydaje się, że odmiana ta jest w stanie zmobilizować (to znaczy zmniejszyć wchłanianie przez materię organiczną lub cząstki gleby) DDT obecnego w glebie. Analiza wykazała, że po uprawie około dwukrotnie wyższy poziom DDT stwierdzono w glebie w porównaniu do gleby analizowanej tuż po zastosowaniu DDT. Obecność inokulum przyczyniła się do zwiększenia pobierania przez korzenie i zmniejszenia określonej ilości związku w glebie.

Tabela 7: Wpływ zastosowanych mikroorganizmów rhizosferowych (mykoryza i bakterie PGPR) na zawartość DDT i jego metabolitów w glebie i w roślinach dyniowatych. Doświadczenie wazonowe. Skierniewice 2018.

ODMIANA	DDEpp 14.151	DDDpp 15.389	DDTpp 16.598	DDT suma izomerów wyrażona jako DDT	DDEpp 14.151	DDDpp 15.389	DDTpp 16.598	DDT suma izomerów wyrażona jako DDT	DDEpp 14.151	DDDpp 15.389	DDTpp 16.598	DDT suma izomerów wyrażona jako DDT
	GLEBA PRZED UPRAWĄ				GLEBA PO UPRAWIE				KORZENIE			
Rośliny kontrolne												
PI 531 323	0.012	0.034	0.101	0.152	0.012	0.034	0.101	0.152				
PI 532 355	0.017	0.041	0.132	0.197	0.017	0.041	0.132	0.197				
PI 614 692	0.016	0.033	0.085	0.140	0.016	0.033	0.085	0.140				
PI 614 699	0.015	0.033	0.055	0.108	0.015	0.033	0.055	0.108				
PI 614 701	0.032	0.060	0.166	0.268	0.032	0.060	0.166	0.268				
AMES 26 607	0.014	0.041	0.073	0.135	0.019	0.028	0.216	0.268	0.009	0.028		0.041
Roślina + Micosat												
PI 531 323	0.012	0.034	0.101	0.152	0.022	0.011	0.083	0.120	0.023	0.038	0.032	0.100
PI 532 355	0.017	0.041	0.132	0.197	0.013	0.060	0.059	0.141				
PI 614 692	0.016	0.033	0.085	0.140	0.009	0.036	0.038	0.088	0.035	0.059	0.023	0.128
PI 614 699	0.015	0.033	0.055	0.108	0.012	0.057	0.062	0.138	0.036	0.072		0.120
PI 614 701	0.032	0.060	0.166	0.268	0.017	0.030	0.106	0.158	0.023	0.065	0.100	0.198
AMES 26607	0.014	0.041	0.073	0.135								

Zdolność rizoremediacji roślin dyniowatych

Celem doświadczenia była ocena akumulacji DDT i jego metabolitów pochodzących ze „starego” (gleba pobrana z pól o stwierdzonym statusie obecności w niej DDT) lub „nowego” (stosowanie analitycznego DDT) przez wytypowaną odmianę roślin dyniowatych.

Metodyka doświadczenia

Gleba użyta w tym doświadczeniu to gleba pobrana z pól o określonym statusie zawartości DDT i jego metabolitów oraz gleba uznana za wolną od pozostałości DDT, którą wzbogacono analitycznym DDT-p,p stosując 2.5 mg na każde 20 l gleby. Glebę z zanieczyszczonych pól analizowano oddzielnie i po połączeniu próbek. W dniu 29.05.18r. wysiano nasiona roślin dyniowatych odmiany AMES 26 607, po 2 do jednej doniczki. Doświadczenie założono w 3 powtórzeniach (1 doniczka stanowiła 1 powtórzenie).

Wyniki

Wyniki analiz poszczególnych gleb przedstawiono w Tabeli 8. Można zauważyć, że trzy gleby, które mają podobne właściwości fizykochemiczne, wykazały zupełnie inną zawartość DDT. Po zmieszaniu zawartość DDT w otrzymanym podłożu glebowym była prawie uśredniona dla tych trzech lokalizacji (0,030 mg/kg) (Tab. 9). Uprawa roślin tej odmiany spowodowała zmniejszenie zawartości DDT zarówno w glebie i absorpcję tego związku przez system korzeniowy. Jednak tylko rośliny rosnące na glebie zawierającej "stare" DDT spowodowały przeniesienie pewnej jej ilości do górnej części rośliny (nadziemnej).

Tabela 8: Poziom pozostałości DDT i jego metabolitów w glebie pochodzącej z pól zanieczyszczonych („stare” DDT).

Lokalizacja	DDEpp 14.151	DDTop 15.389	DDDpp 15.389	DDT suma izomerów wyrażona jako DDT
Dębowa Góra	0.005			0.005
Graniczna	0.044	0.037	0.021	0.109
Myśliwska	0.020	0.016	0.007	0.046

Tabela 9: Poziom pozostałości DDT i jego metabolitów w glebie oraz w różnych częściach roślin roślin odmiany AMES 26 607 po uprawie w glebie ze „starym” (gleba z pól) lub „nowym” (gleba z dodatkiem analitycznego DDT). Doświadczenie wazonowe. Skierniewice 2018.

	DDEpp 14.151	DDDpp 15.389	DDT suma izomerów wyrażona jako DDT	DDEpp 14.151	DDT suma izomerów wyrażona jako DDT
	Gleba z zanieczyszczony polach			Gleba czysta + DDT	
Gleba przed uprawa	0.020	0.007	0.030	0.009	0.010
Gleba po uprawa	0.016	0.006	0.025	0.005	0.005
Korzenie	0.018	0.010	0.032	0.012	0.012
Części nadziemne		0.011	0.012		ND

Wpływ zawartości DDT w glebie i zabiegów remediacji z użyciem różnych odmian roślin dyniowatych na pobieranie składników odżywczych przez te rośliny

Celem doświadczenia była ocena wpływu różnych zabiegów remediacyjnych z użyciem różnych odmian roślin dyniowatych na pobieranie składników odżywczych przez rośliny.

Metodyka doświadczenia

Próby roślinne zebrane z roślin użytych we wszystkich doświadczeniach wymienionych w działaniach 1 i 2 analizowano pod względem zawartości makro- i mikroskładników. Pobranie prób i ich analiza wykonana była wg procedury opisanej w „Ogólnych Metodach Doświadczeń”.

Wyniki

Analiza zawartości składników odżywczych w roślinach (część nadziemna) wykazała kilka cech związanych z obecnością DDT w glebie i traktowaniem mikroorganizmami (Tab. 10 i 11). Zasięg zawartości azotu (N) w różnych odmianach wahał się dość szeroko od 1,36 do 4,34%. Wpływ na to miała zawartość DDT w glebie oraz obecność stosowanych do niej mikroorganizmów.

Porównanie różnych metod remediacyjnych było możliwe dla odmian (AMES 26 607, PI 614 699, PI 614 700 i PI 614 701), które były stosowane oraz weszły w różnych doświadczeniach. W przypadku odmiany AMES 26 607 stwierdzono, że im wyższa zawartość DDT w glebie, tym niższy pobór azotu. Zawartość N wzrosła, gdy wraz z roślinami zastosowano grzyby mikoryzowe, o których wiadomo, że poprawiają pobieranie N. Ale wzrost zawartości azotu był niższy w przypadku roślin rosnących w obecności „nowo” dodanego DDT niż w przypadku "starej" zanieczyszczonej gleby.

Stosowane mikroorganizmy ogólnie poprawiały pobieranie N, również u innych odmian. Grzyby z rodzaju *Trichoderma* zastosowane „solo” zwiększały pobieranie azotu bardziej niż po zastosowaniu ich w konsorcjum z bakteriami oraz po zastosowaniu grzybów z rodzaju *Rhizopus* w przypadku odmian PI 614 699 i PI 614 700. *Mortierella* indukował najwyższe pobieranie N z odmianą PI 614 701. *Micosat* zwiększał pobieranie N niezależnie od odmiany. Zastosowanie do gleby konsorcjum samych bakterii spowodowało zmniejszenie pobierania N przez PI 614 700 i PI 614 701.

Biorąc pod uwagę zawartość P w roślinach, uderzającym rezultatem było to, że DDT obecne w glebie indukowało zmniejszone pobieranie P u roślin odmiany AMES 26 607. Było to wyraźniejsze w obecności nowo dodanego DDT, a mniej oczywiste przy "starym" zanieczyszczeniu. Nawet inokulacja do gleby produktu opartego na grzybach mikoryzowych (*Micosat*), poprawiającym pobieranie P, nie było wystarczające do zwiększenia pobierania P w obecności pozostałości DDT. W przypadku pozostałych trzech odmian, ogólnie zawartość P zwiększała się, gdy gleba, na której rosły rośliny inokulowana była, w szczególności trzema gatunkami grzybów posiadających zdolność degradacji DDT.

W odniesieniu do zawartości K wszystkie odmiany wykazywały wzrost pobierania po zastosowaniu mikroorganizmów. Nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy zabiegami, biorąc pod uwagę Ca i Mg.

Wśród mikroelementów oddziaływanie na Fe i Mn miało wpływ, podczas gdy wszystkie pozostałe nie wykazywały żadnych szczególnych tendencji do zmian. Zawartość Fe w roślinach wzrosła nawet dwukrotnie, gdy zostały zastosowane Trichoderma lub Micosat (grzyby mikoryzowe), niezależnie od odmiany. Mn wykazał również tendencję do wzrostu w roślinach, które rosły na glebie z mikroorganizmami.

Takie wyniki są interesujące przy rozważaniu rozwoju systemu korzeniowego ocenianego wizualnie (Tab. 12). System korzeniowy AMES 26 607 zawsze był oceniany jako średni, podczas gdy dla pozostałych trzech odmian ranga wynosiła ogólnie 1 (tj. korzenie mocno przerośnięte). Jednak w próbie z inokulacją mikroorganizmów biodegradowalnych wszystkie trzy odmiany po zastosowaniu Rhizopus wykazały mniejszy rozwój korzeni. Nie było to jednak związane z ogólnym wzrostem biomasy (Tab. 12).

Tabela 10: Zawartość makroelementów w częściach nadziemnych roślin dyniowatych we wszystkich doświadczeniach wazonowych, Skierniewice 2018.

Kombynacja/Doświadczenie	N	P	K	Ca	Mg
	%	mg/kg s.m.			
Ocena przydatności roślin dyniowatych do akumulacji DDT					
NSL 180768	3.39	2769	73370	28500	4325
AMES 21653	2.54	3094	71580	23260	3250
AMES 26 607	2.55	2941	54230	27380	4413
AMES 26 951	2.28	2327	55750	35410	4564
AMES 28 181	2.53	2565	57210	38460	3693
AMES 28 296	2.79	2704	53810	43540	3221
PI 26 7756	3.05	2253	51590	21900	2510
PI 451849	2.67	3614	59900	49070	3762
PI 451851	4.34	4769	52740	21900	3599
PI 451853	2.08	2121	66950	40240	3450
PI 615 155	2.93	4115	60430	65450	4753
Olivia	2.56	3578	55300	55190	3742
Ocena przydatności roślin dyniowatych do akumulacji DDT w zależności od jego poziomu w glebie					
niski poziom					
AMES 26 607	2.55	2941	54230	27380	4413
wysoki poziom					
Ames 26 607	1.93	1920	41700	22680	3833
PI 532 355	2.63	2874	50120	14670	2864
PI 614 701	1.36	1870	34030	20410	4240
Ocena wpływu pożytecznych mikroorganizmów mikoryzowych i bakterii (Micosat)					
Ames 26 607	3.21	1970	54900	24050	3465
PI 532 355	2.74	2533	56000	28620	4503
PI 614 700	1.83	2330	39350	14230	2693
PI 614 701	1.96	1771	39220	29510	3954

Ocena zdolności remediacyjnych roślin dyniowatych w akumulacji DDT w zależności od statusu „stare” lub „nowe” zanieczyszczenie					
Nowy DDT					
AMES 26 607	2.83	2249	50720	20900	3575
Stary DDT					
AMES 26 607	2.70	1570	43280	31130	3673
Ocena wpływu mikroorganizmów (grzybów i bakterii), wykazujących właściwości degradacji związków DDT na akumulację tych związków przez rośliny dyniowate					
PI 614 699 Trichoderma	3.07	3801	58620	32930	4240
PI 614 700 Trichoderma	2.46	2226	44970	24700	2966
PI 614 701 Trichoderma	2.58	2497	45660	36500	5601
PI 614 699 Trichod+bakt.	1.91	2737	40970	27200	4019
PI 614 701 Trichod+bakt.	2.11	3482	52210	32350	5436
PI 614 700 Morteriella	3.00	2612	62060	21910	2916
PI 614 701 Morteriella	2.69	2922	60810	35790	4656
PI 614 700 Morteriella+bakt.	2.92	2825	57280	35880	3649
PI 614 699 Rhizopus	2.06	2410	53390	27250	4544
PI 614 700 Rhizopus	2.39	3220	53580	9683	2537
PI 614 700 bakterie	2.19	2814	52830	26010	2469
PI 614 701 Bakterie	1.84	1525	31970	44390	6243

Tabela 11. Zawartość mikroelementów w częściach nadziemnych roślin dyniowatych we wszystkich doświadczeniach wazonowych, Skierniewice 2018.

Kombynacja/Doświadczenie	Na	S-SO4	Fe	Mn	Cu	Zn	B
	mg/kg s.m.						
Ocena przydatności roślin dyniowatych do akumulacji DDT							
NSL 180768	199	2860	221	14.5	9.46	34.9	71.2
AMES 21653	132	2550	429	19.2	9.65	63.8	51.3
AMES 26 607	127	1977	403	17.9	10.60	46.0	44.3
AMES 26 951	100	1390	350	14.5	7.34	62.3	41.6
AMES 28 181	118	1760	238	13.3	8.45	45.6	42.5
AMES 28 296	140	2184	432	22.1	10.30	83.9	52.4
PI 26 7756	227	1684	448	20.6	7.77	34.0	36.5
PI 451849	178	3010	250	12.6	7.83	86.6	56.3
PI 451851	106	2823	272	18.1	13.10	74.7	42.3
PI 451853	171	2137	360	15.7	9.42	76.4	37.9
PI 615 155	144	3012	264	12.5	11.20	88.9	77.5
Olivia	101	2751	328	13.1	8.68	93.4	33.9
Ocena przydatności roślin dyniowatych do akumulacji DDT w zależności od jego poziomu w glebie							
Niski poziom							
AMES 26 607	127	1977	403	17.9	10.60	46.0	44.3
Wysoki poziom							
Ames 26 607	160	2051	709	32.4	11.30	29.6	37.0
PI 532 355	172	2478	941	30.0	10.50	37.8	30.1
PI 614 701	207	1993	757	33.0	9.92	30.1	27.8

Ocena wpływu pożytecznych mikroorganizmów mikoryzowych i bakterii (Micosat)							
Ames 26 607	280	2583	776	44.7	13.60	37.8	35.1
PI 532 355	211	2686	565	33.2	11.00	37.2	35.1
PI 614 700	130	1894	939	32.1	10.90	32.2	24.9
PI 614 701	155	2472	1206	49.0	12.60	38.8	30.0
Ocena zdolności remediacyjnych roślin dyniowatych w akumulacji DDT w zależności od statusu „stare” lub „nowe” zanieczyszczenie							
Nowy DDT							
AMES 26 607	174	2085	691	36.9	12.70	61.5	43.3
Stary DDT							
AMES 26 607	159	1931	1047	39.9	10.50	49.5	37.1
Ocena wpływu mikroorganizmów (grzybów i bakterii), wykazujących właściwości degradacji związków DDT na akumulację tych związków przez rośliny dyniowate							
PI 614 699 Trichoderma	189	3146	746	26.7	12.70	47.3	52.0
PI 614 700 Trichoderma	142	2603	808	30.8	10.70	41.1	35.2
PI 614 701 Trichoderma	154	2968	646	27.2	10.20	44.3	50.3
PI 614 699 Trichod.+bakt.	144	2560	576	21.4	10.40	33.9	48.0
PI 614 701 Trichod.+bakt.	133	3737	623	23.1	14.10	42.6	44.1
PI 614 700 Morteriella	115	2714	449	21.7	12.20	37.9	35.5
PI 614 701 Morteriella	180	3807	500	27.7	14.50	43.9	42.6
PI 614 700 Morteriella+bakt.	123	3204	449	20.2	12.60	122.0	40.5
PI 614 699 Rhizopus	224	2612	742	29.4	12.40	38.9	47.8
PI 614 700 Rhizopus	110	2089	347	20.1	11.00	41.7	28.0
PI 614 701 bakterie	182	2716	604	30.7	9.28	29.4	48.1
PI 614 700 bakterie	287	3387	460	16.7	10.90	36.3	45.3

Tabela 12: Waga części nadziemnej i skala oceny wzrostu korzeni roślin dyniowatych we wszystkich doświadczeniach wazonowych, Skierniewice 2018.

Kombinacja/Doświadczenie	Waga części nadziemnej (g)	Skala oceny korzeni (1-3)
Ocena przydatności roślin dyniowatych do akumulacji DDT		
AMES 26607	495	1
Ocena przydatności roślin dyniowatych do akumulacji DDT w zależności od jego poziomu w glebie		
AMES 26607	235	1
PI 614699		
PI 614700	249	2
PI 614701	226	1
Ocena wpływu pożytecznych mikroorganizmów mikoryzowych i bakterii (Micosat)		
AMES 26607	519	2
PI 614699	274	1
PI 614701	585	1
Ocena zdolności remediacyjnych roślin dyniowatych w akumulacji DDT w zależności od statusu „stare” lub „nowe” zanieczyszczenie		
Nowy DDT		
AMES 26607	911	2

Stary DDT		
AMES 26607 stary	1029	2
Ocena wpływu mikroorganizmów (grzybów i bakterii), wykazujących właściwości degradacji związków DDT na akumulację tych związków przez rośliny dyniowate		
PI 614699 + Trichoderma	632	1
PI 614700 + Trichoderma	609	2
PI 614701 + Trichoderma	303	1
PI 614699 + Trichod.+bakt.	309	1
PI 614701+ Trichod.+bakt.	645	1
PI 614700 + Morteriella	239	1
PI 614701 + Morteriella	221	2
PI 614700 + Morteriella+bakt.	1961	2
PI 614699 + Rhizopus	270	2
PI 614700 + Rhizopus	204	2
PI 614701 + Rhizopus	30	2
PI 614700 + bakterie	275	1
PI 614701 + bakterie	280	1

Działanie 3. Ocena mikroorganizmów, które wykazują właściwości metabolizujące pozostałości DDT

Charakterystyka grzybów

Celem doświadczenia była charakterystyka szczepów grzybów izolowanych z polskich gleb zanieczyszczonych DDT, w celu lepszego zdefiniowania ich zachowania w degradacji DDT i poprawy możliwości przygotowania formułacji do praktycznego zastosowania.

Metodyka doświadczenia

Doświadczenie laboratoryjne wykonano w laboratorium Uniwersytetu La Sapienza w Rzymie zgodnie z metodyką umieszczoną w Ogólnych Metodach Doświadczeń.

Wyniki

Wszystkie badane grzyby wykazywały dużą tolerancję na DDT (Tab.13). W szczególności cztery gatunki wykazały dużą zdolność do wzrostu w obecności DDT. Były to: *Trichoderma harzianum*, *Rhizopus stolonifera*, *Morteriella humilis* i *Penicillium decumbens*. Trzy z nich zostały wybrane do oceny i stosowania w doświadczeniach wazonowych przeprowadzonych w Polsce (patrz wyżej). Dwa z nich (*T. harzianum* i *R. stolonifera*) zostały scharakteryzowane w celu zrozumienia ich mechanizmu degradacji DDT.

Tabela 13: Ocena tolerancji 24 wybranych taksonów grzybów (Rt: Rc, TI) obecności DDT. Powierzchniowe wartości pH pożywki i różnica w porównaniu z hodowlami kontrolnymi po 7 dni wzroście taksonów grzybów w temperaturze 25°C.

Taxa Accession N°	Próbka	Rt:Rc (%)	TI (%)	pH -DDT	pH +DDT	ΔpH
<i>Acremonium</i> • sp. FBL 596	Mysliwska	100	97	4,19±0.1	4,69±0.1	-0,50
<i>Aspergillus repens</i> • (Corda) Sacc. FBL 600	Rabata 1	96	104	3,78±0.3	3,73±0.2	0,04
<i>Aspergillus versicolor</i> • (Vuill.) Tirab. FBL 606	Rabata 1 - Rabata 2	82	100	4,07±0.1	4,02±0.1	0,05
<i>Fusarium poae</i> • (Peck) Wollenw. FBL 582	Rabata 2	95	84	4,00±0.2	4,16±0.2	-0,16
<i>Fusarium</i> sp.• FBL 588	Mysliwska	90	95	3,48±0.2	4,01±0.2	-0,53
<i>Gliocladium</i> sp.• FBL 597	Mysliwska	95	93	4,80±0.3	4,52±0.2	0,29
<i>Gongronella butleri</i> ■ (Lendn.) Peyronel & Dal Vesco FBL 580	Rabata 1	88	80	3,22±0.2	3,15±0.2	0,13
<i>Metarhizium</i> sp.1• FBL 583	Mysliwska	98	103	4,10±0.4	4,09±0.2	0,01
<i>Metarhizium</i> sp.2• FBL 591	Rabata 1 - Rabata 2	103	89	3,64±0.2	3,26±0.0	0,38
<i>Mortierella humilis</i> ■ Linnem. FBL 581	Mysliwska	100	101	4,02±0.3	3,77±0.3	0,25
<i>Mortierella minutissima</i> ■ Tiegh. FBL 592	Mysliwska	96	87	4,33±0.2	4,52±0.3	-0,19
<i>Mortierella</i> sp.■ FBL 593	Mysliwska	98	91	3,98±0.2	4,08±0.2	-0,10
<i>Mucor circinelloides</i> ■ Tiegh. FBL 605	Mysliwska	100	94	3,08±0.0	3,15±0.1	-0,06
<i>Mucor moelleri</i> ■ (Vuill.) Lendn.	Mysliwska	100	98	3,64±0.3	3,31±0.2	0,33
<i>Penicillium purpurogenum</i> • Stoll FBL 579	Mysliwska	87	95	3,77±0.1	3,58±0.1	0,19
<i>Penicillium canescens</i> • Sopp FBL 585	Mysliwska	89	82	3,04±0.1	2,93±0.1	0,11
<i>Penicillium citrinum</i> • Thom FBL 584	Mysliwska	108	86	3,11±0.2	2,98±0.1	0,13
<i>Penicillium decumbens</i> • Thom FBL 586	Mysliwska	111	109	3,74±0.1	4,02±0.1	-0,28
<i>Penicillium funiculosum</i> • Thom FBL 599	Mysliwska	98	103	2,83±0.1	2,81±0.1	0,02
<i>Penicillium waksmanii</i> • K.M. Zaleski FBL 609	Mysliwska	108	103	4,04±0.1	3,86±0.1	0,18
<i>Rhizopus stolonifer</i> ■ (Ehrenb.) Vuill.	Rabata 2	100	103	2,40±0.1	2,28±0.0	0,12
<i>Trichoderma hamatum</i> • (Bonord.) Bainier FBL 578	Mysliwska	100	96	4,12±0.2	4,14±0.3	-0,02
<i>Trichoderma harzianum</i> • Rifai FBL 587	Mysliwska	100	108	3,98±0.3	3,87±0.4	0,11
<i>Trichoderma polysporum</i> • (Link) Rifai FBL 589	Rabata 2	100	93	4,51±0.1	4,46±0.2	0,05

Wpływ DDT na profil metaboliczny grzybów

Dwa szczepy (*T. harzianum* i *R. stolonifer*) poddane analizie w celu oceny wpływu DDT na zachowanie metaboliczne z różnymi źródłami węgla wykazywały bardzo zróżnicowaną reakcję. Zaobserwowano różnice między gatunkami grzybów w całkowitej liczbie użytych substratów oraz w maksimach gęstości optycznej (ryc. 4). Całkowita liczba substratów, które *R. stolonifer* był w stanie metabolizować, była niższa niż substratów stosowanych przez *T. harzianum* (odpowiednio 41 i 67 substratów), co stanowiło węższe spektrum wykorzystania źródła węgla dla poprzedniego szczepu. Z drugiej strony, maksymalna OD dla substratów metabolizowanych przez *R. stolonifer* była ogólnie powyżej 1,5, leżąca u podstaw wyższego metabolizmu (wzrost grzybów i oddychanie) w porównaniu z *T. harzianum*. Podczas szczegółowej analizy wyników okazało się, że *T. harzianum* był w stanie efektywnie wykorzystać 32 z 96 substratów węglowych, w tym glukozę, mannozę, ksylozę, trehalozę, celobiozę i ksylitol, gdy wzrastał bez dodatku DDT. Słaby wzrost zaobserwowano dla 35 substratów, w tym kwasu L-jabłkowego. *T. harzianum* nie był w stanie wykorzystać 29 substratów, w tym kwasu D-glukuronowego, estru metyloвого kwasu D-mlekowego i L-alaninamidu (ryc. 4). *R. stolonifer* był zdolny do wzrostu na 22 substratach, w tym N-acetylo-D-glukoza-aminie, L-arabinozy, D-arabitolu, arbutynie, D-celobiozie, D-fruktozie i D-galaktozie. *R. stolonifer* słabo metabolizował 19 substratów, takich jak D-mannitol, D-mannoza, D-rafinioza, D-ryboza, stachioza i kwas g-amino-n-masłowy. Nie był w stanie wykorzystać 57 substratów, np. m-erytrytol i L-fukoza (ryc 4).

Siedemnaście substratów było powszechnie używanych przez oba szczepy, chociaż *R. stolonifer* wykazał we wszystkich szybszy i wyższy wzrost (ryc. 4). Wśród nich można wymienić L-arabinozę, D-celobiozę, D-fruktozę, D-galaktozę, gentiobiozę i glicerol. Z drugiej strony, żaden ze szczepów nie był w stanie metabolizować 28 substratów, w tym L-kwasu mlekowego, kwasu D-jabłkowego, kwasu sukcydamowego, L-feniloalaniny, etanoloaminy, putrescyny i urydyny. Ponadto zaobserwowano pewne substraty specyficzne dla gatunku. Na przykład *T. harzianum* może stosować L-fukozę, a-D-laktozę, D-melezitozę, D-melibiozę i turanozę, które nie były stosowane przez *R. stolonifer*. Z drugiej strony ten ostatni może metabolizować L-prolinę, która nie była używana przez *T. harzianum* (ryc. 4).

W szczególności negatywny wpływ na oddychanie i wzrost grzybów był znaczący ($P < 0,05$) w obecności DDT dla mannozy u *R. stolonifer*, natomiast pozytywny wpływ był znaczący dla adonitolu u *T. harzianum*. Biorąc pod uwagę jedynie różnice graficzne między krzywymi kontrolnymi i testowymi, w wartościach *R. stolonifer* OD krzywych kontrolnych w N-acetylo-D-glukoza-aminie, adonitolu, celobiozie, dekstrynie, maltozie, mannitol, salicynie, sacharozie, g-amino-n- kwas masłowy jest wyższy, natomiast dane OD w teście są wyższe dla fruktozy i glukozy (ryc. 5 *R. stolonifer*). W *T. harzianum* wartości OD są wyższe w kontroli dla amidaliny, arabitolu, erytrytolu, fruktozy, fukozy, kwasu galakturonowego, glukozy, glicerolu, maltotriozy, melezytozy, ksylitolu i kwasu fumarowego, natomiast pomiary OD w teście są wyższe w przypadku mannitu i mannozy (Rys. 6 *T. harzianum*).

Ryc. 4: Wizualizacja wzrostu grzybów dla porównania fenotypów obu badanych gatunków. Każda krzywa wzrostu jest wyświetlana, jako cienka pozioma linia, w której wysokość krzywej mierzona w jednostkach wartości kolorów jest reprezentowana przez intensywność koloru czerwonego, żółtego i niebieskiego (czerwone części oznaczają wyższy wzrost).

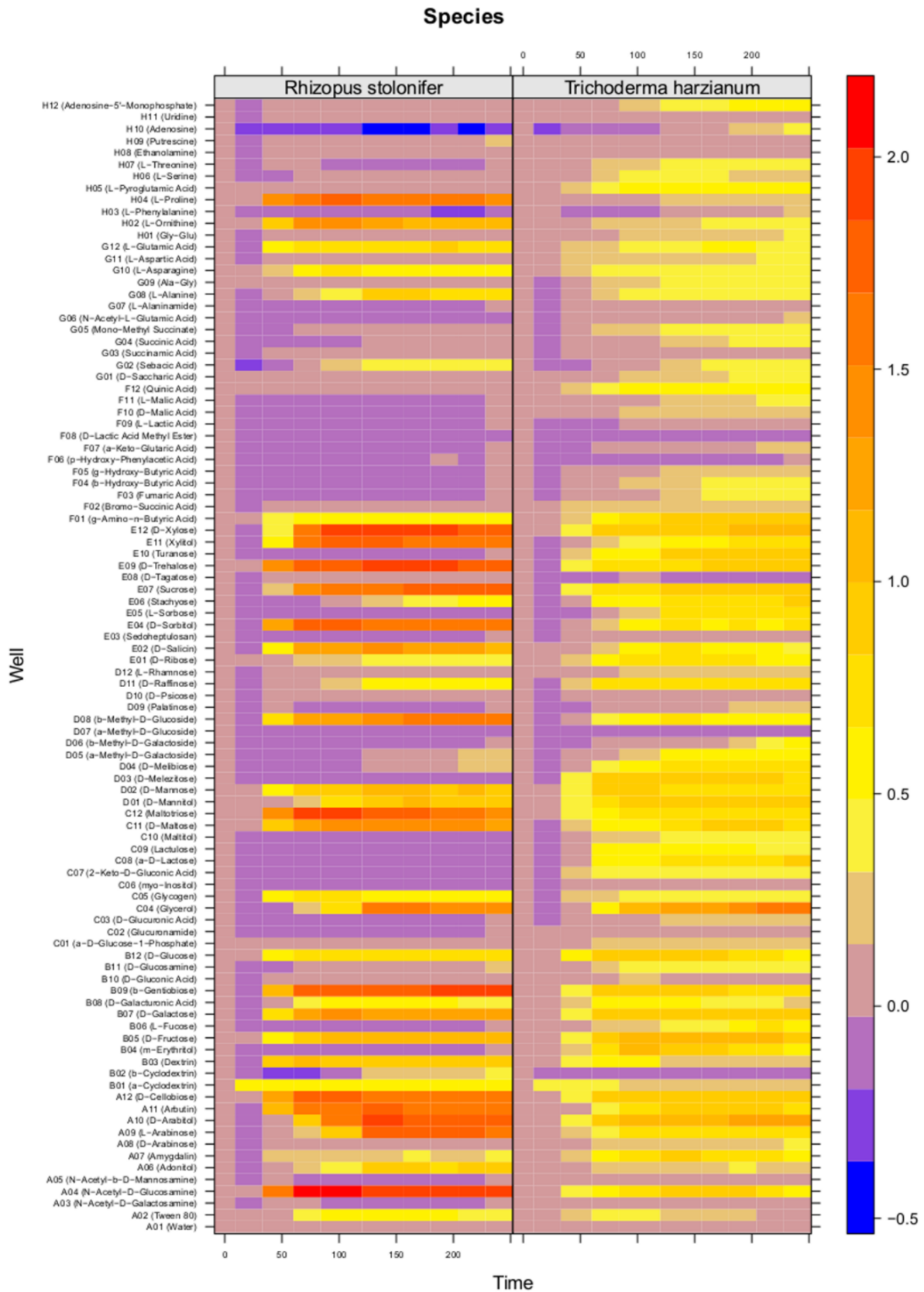
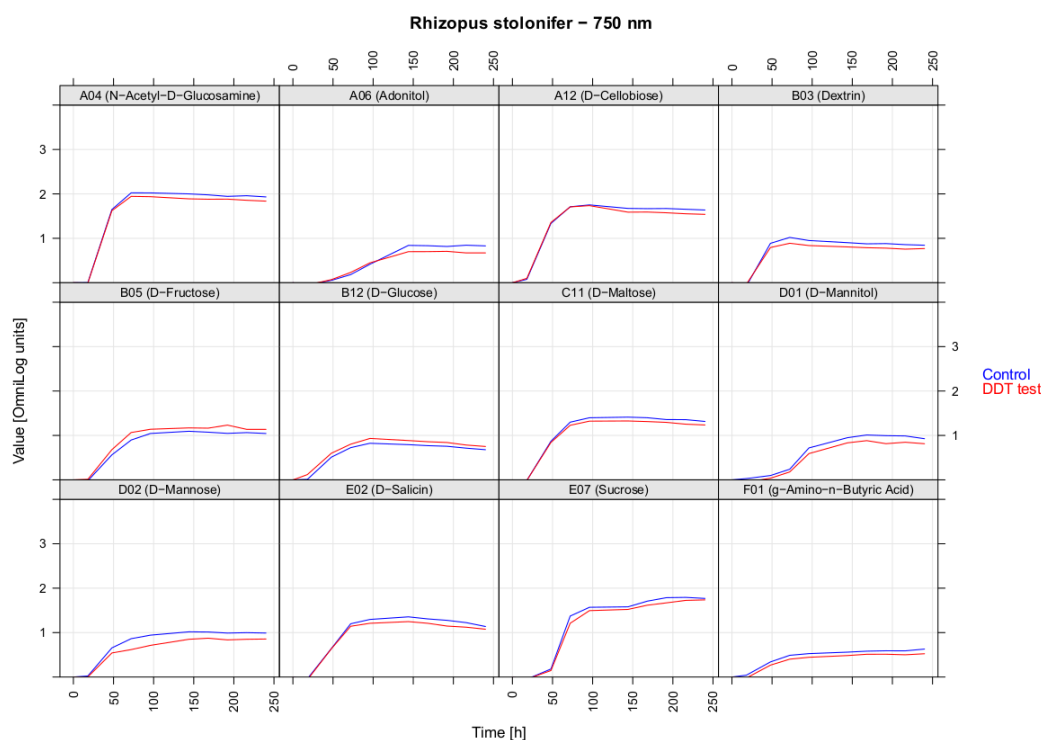


Tabela 14: Gęstości optyczne dla biomasy i oddychania w inokulum *Trichoderma* i *Rhizopus*. Podano jedynie podłoża, dla których uzyskano istotnie różne wartości. Różnice oceniano pod kątem istotności testem post-hoc Studenta-Newmana-Keulsa. Wartości to średnie, n = 4 na inokulum

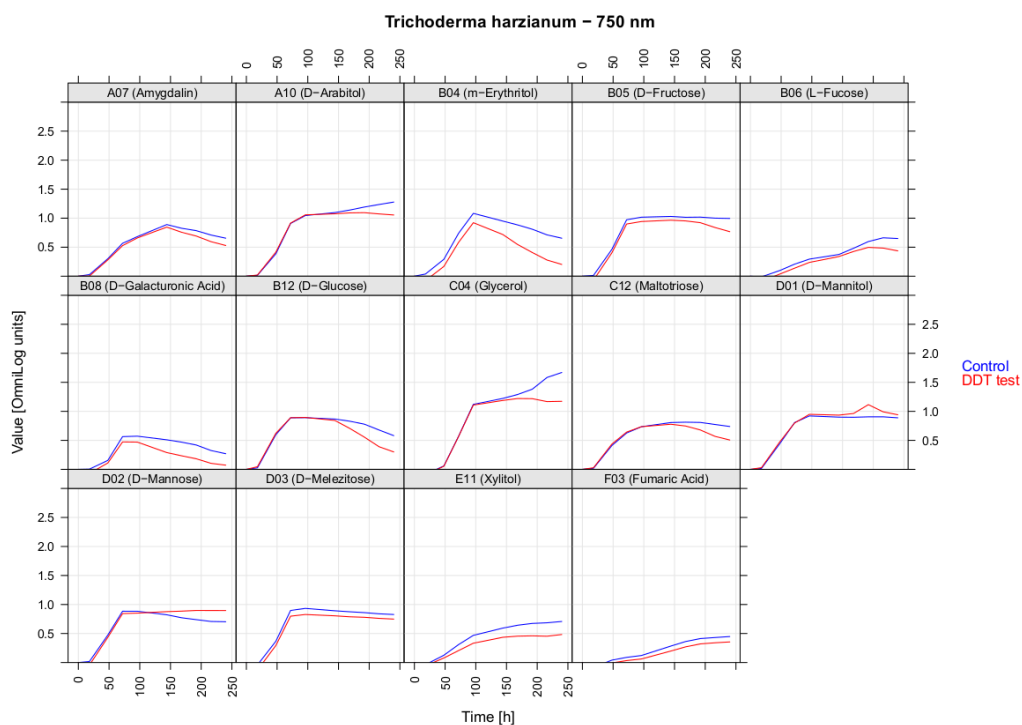
	<i>Biomasa (OD 750nm)</i>			<i>Oddychanie (OD 490nm)</i>		
	<i>Trichoderma</i>	<i>Rhizopus</i>	P	<i>Trichoderma</i>	<i>Rhizopus</i>	P
A1 Water	0.07 a	0.03 b	0.0432	0.68 a	0.08 b	< 0.0001
A2 Tween 80	0.29 b	0.60 a	0.0016	0.86 b	1.06 a	0.0210
A3 N-Acetyl-D-Galactosamine	0.07 a	0.02 b	0.0038	0.56 a	0.06 b	< 0.0001
A4 N-Acetyl-D-Glucosamine	0.94 b	2.00 a	< 0.0001	1.62 b	2.86 a	< 0.0001
A5 N-Acetyl-D-Mannosamine	0.06 a	0.01 b	0.0017	0.51 a	0.08 b	< 0.0001
A7 Amygdalin	0.89 a	0.31 b	0.0009	1.61 a	0.54 b	< 0.0001
A8 D-Arabinose	0.25 a	0.08 b	0.0080	0.66 a	0.18 b	0.0003
A9 L-Arabinose	0.76 b	1.79 a	< 0.0001	1.33 b	2.00 a	0.0003
A10 D-Arabitol	1.10 b	1.88 a	0.0001	1.79 b	2.06 a	0.0156
A11 Arbutin	0.84 b	1.69 a	< 0.0001	1.70 b	1.87 a	0.0270
A12 D-Cellobiose	0.89 b	1.67 a	< 0.0001	1.48 b	1.89 a	0.0004
B1 a- Cyclodextrin	0.30 b	0.50 a	< 0.0001	0.32 b	0.57 a	0.0001
B2 b-Cyclodextrin	0.00 b	0.18 a	0.0307	0.21 a	0.36 a	0.0979
B3 Dextrin	0.26 b	0.90 a	< 0.0001	0.83 b	1.04 a	0.0235
B4 i-Erythritol	0.95 a	0.01 b	< 0.0001	1.70 a	0.04 b	< 0.0001
B6 L-Fucose	0.37 a	0.02 b	< 0.0001	1.09 a	0.06 b	< 0.0001
B9 Gentibiose	0.92 b	1.83 a	< 0.0001	1.55 b	2.14 a	< 0.0001
B11 D-Glucosamine	0.42 a	0.08 b	< 0.0001	0.80 a	0.17 b	< 0.0001
C1 Glucose-1-Phosphate	0.19 a	0.01 b	< 0.0001	0.85 a	0.10 b	< 0.0001
C3 D-Glucuronic Acid	0.16 a	0.02 b	0.0452	0.85 a	0.06 b	< 0.0001
C4 Glycerol	1.22 b	1.52 a	0.0226	1.86 a	1.70 a	0.1726
C7 2-Keto-D-Gluconic Acid	0.42 a	0.02 b	0.0030	1.15 a	0.08 b	< 0.0001
C8 a-D-Lactose	0.82 a	0.01 b	< 0.0001	1.61 a	0.06 b	< 0.0001
C9 Lactulose	0.62 a	0.00 b	0.0002	1.36 a	0.06 b	< 0.0001
C10 Maltitol	0.41 a	0.00 b	0.0016	0.97 a	0.06 b	< 0.0001
C12 Maltotriose	0.81 b	1.73 a	< 0.0001	1.41 b	1.97 a	< 0.0001
D2 D-Mannose	0.82 b	1.02 a	0.0210	1.43 a	1.31 a	0.1535
D3 D-Melezitose	0.89 a	0.00 b	< 0.0001	1.58 a	0.07 b	< 0.0001
D4 D-Melibiose	0.78 a	0.08 b	0.0003	1.67 a	0.21 b	< 0.0001
D5 a-Methyl-D-Galactoside	0.49 a	0.10 b	0.0066	1.37 a	0.19 b	< 0.0001
D8 b-Methyl-D-Glucoside	0.70 b	1.50 a	< 0.0001	1.49 b	1.73 a	0.0316
D11 D-Raffinose	0.82 a	0.50 b	0.0101	1.54 a	0.65 b	< 0.0001
D12 L-Rhamnose	0.17 a	0.05 b	0.0029	0.61 a	0.11 b	< 0.0001
E1 D-Ribose	0.71 a	0.40 b	< 0.0001	1.10 a	0.63 b	< 0.0001
E4 D-Sorbitol	0.67 b	1.65 a	< 0.0001	1.51 b	1.88 a	0.0080
E5 L-Sorbose	0.70 a	0.01 b	0.0002	1.52 a	0.04 b	< 0.0001
E6 Stachynose	0.75 a	0.23 b	0.0029	1.67 a	0.33 b	< 0.0001
E7 Sucrose	0.84 b	1.58 a	0.0007	1.55 b	1.91 a	0.0316
E9 D-Trehalose	0.81 b	1.87 a	< 0.0001	1.48 b	2.11 a	0.0004
E10 Turanose	0.86 a	0.00 b	< 0.0001	1.59 a	0.10 b	< 0.0001
E11 Xylitol	0.59 b	1.71 a	0.0010	1.34 b	1.91 a	0.0410
E12 D-Xylose	0.97 b	1.97 a	< 0.0001	1.64 b	2.41 a	< 0.0001

F1 g-Amino-butyric Acid	0.87 a	0.56 b	0.0002	1.38 a	0.79 b	< 0.0001
F2 Bromosuccinic Acid	0.23 a	0.04 b	< 0.0001	0.53 a	0.11 b	< 0.0001
F3 Fumaric Acid	0.28 a	0.01 b	0.0086	0.69 a	0.08 b	0.0004
F4 b-Hydroxy-butyric Acid	0.31 a	0.03 b	0.0152	0.73 a	0.09 b	0.0006
F5 g-Hydroxy-butyric Acid	0.24 a	0.01 b	0.0279	1.06 a	0.06 b	0.0002
F10 D-Malic Acid	0.20 a	0.01 b	< 0.0001	0.88 a	0.05 b	< 0.0001
F11 L-Malic Acid	0.18 a	0.01 b	0.0016	0.73 a	0.06 b	< 0.0001
F12 Quinic Acid	0.60 a	0.02 b	< 0.0001	1.27 a	0.07 b	< 0.0001
G1 D-Saccharin Acid	0.24 a	0.03 b	0.0013	0.76 a	0.06 b	< 0.0001
G4 Succinic Acid	0.24 a	0.04 b	0.0494	0.84 a	0.10 b	0.0007
G5 Succinic Acid Mono-Methyl Ester	0.38 a	0.06 b	0.0002	0.80 a	0.14 b	< 0.0001
G8 L-Alanine	0.42 b	0.90 a	0.0036	1.05 b	1.63 a	0.0021
G9 L-Alanyl-Glycine	0.47 a	0.08 b	< 0.0001	1.21 a	0.21 b	< 0.0001
G10 L-Asparagine	0.44 b	0.65 a	0.0104	1.12 b	1.51 a	0.0007
G11 L-Aspartic Acid	0.27 a	0.07 b	0.0002	0.81 a	0.58 b	0.0320
G12 L-Glutamic Acid	0.45 b	0.80 a	0.0020	1.08 b	1.50 a	0.0015
H1 Glycyl-L-Glutamic Acid	0.23 a	0.08 b	0.0026	0.64 a	0.14 b	< 0.0001
H2 L-Ornithine	0.31 b	1.18 a	< 0.0001	1.08 b	1.98 a	< 0.0001
H4 L-Proline	0.15 b	1.66 a	< 0.0001	0.87 b	2.39 a	< 0.0001
H5 L-Pyroglutamic Acid	0.57 a	0.09 b	< 0.0001	1.25 a	0.14 b	< 0.0001
H6 L-Serine	0.35 a	0.05 b	< 0.0001	1.05 a	0.16 b	< 0.0001
H7 L-Threonine	0.44 a	0.03 b	< 0.0001	1.17 a	0.17 b	< 0.0001
H11 Uridine	0.12 a	0.04 b	0.0012	0.83 a	0.08 b	< 0.0001
H12 Adenosine-5'-Monophosphate	0.34 a	0.04 b	< 0.0001	0.89 a	0.07 b	< 0.0001

Ryc. 5: Krzywe wzrostu *R. stolonifer* przy 750 nm dla zabiegów (kontrola i test DDT) dla niektórych najbardziej reprezentatywnych źródeł węgla wśród 95 substratów.



Ryc. 6: Krzywe wzrostu *T. harzianum* przy 750 nm dla zabiegów (kontrola i test DDT) dla niektórych z najbardziej reprezentatywnych źródeł węgla wśród 95 substratów.



Analiza stresu oksydacyjnego

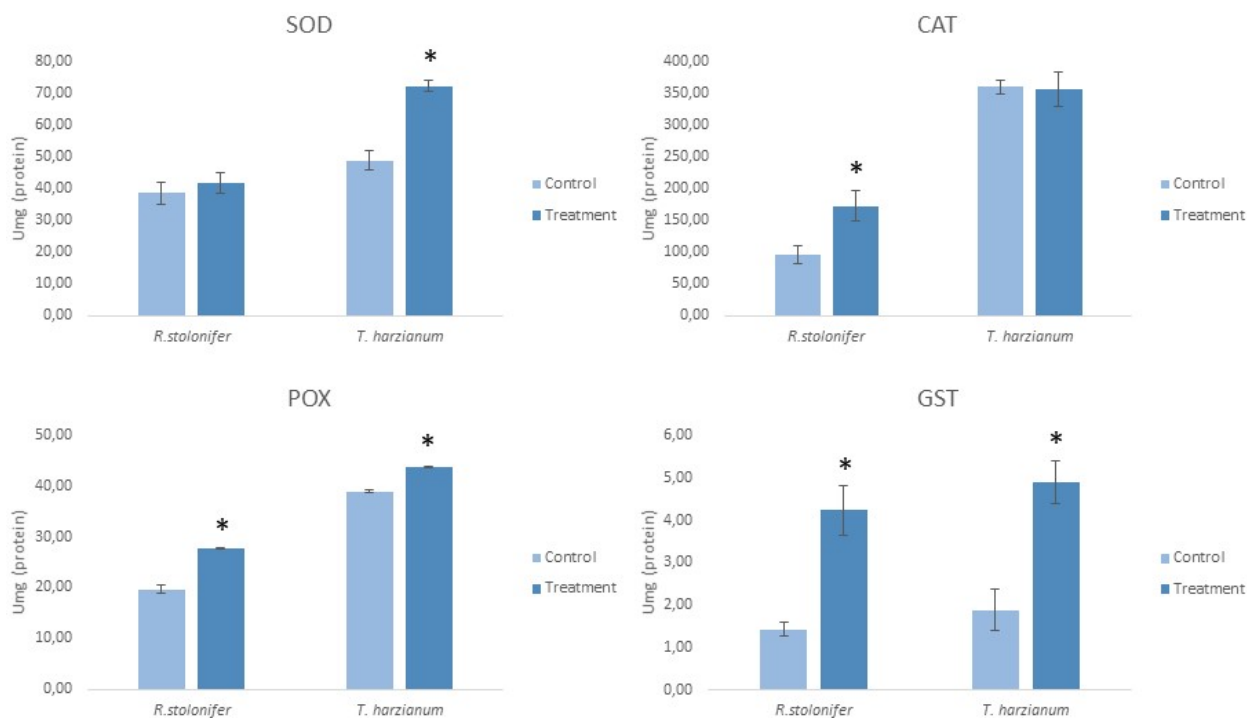
Dodanie DDT do pożywki wzrostowej sprzyjało, jak oczekiwano, znacznemu wzrostowi produkcji ROS przez dwa badane szczepy: około 34% więcej w *T. harzianum* i 52% więcej w *R. stolonifer* w porównaniu do kontroli -DDT (Tabela 15).

Tabela 15: Reaktywne formy tlenu produkowane przez oba badane szczepy (*R. stolonifer*, *T. harzianum*).

	Kontrola (DCF fluorescence)	DDT (DCF fluorescence)	stopa wzrostu (%)
<i>R. stolonifer</i>	1269,67 ± 22,10	1917,67* ± 151,46	34
<i>T. harzianum</i>	1036,67 ± 15,06	2181,33* ± 60,2	52

Stres oksydacyjny zwiększył aktywności badanych enzymów GST, ROS, SOD i CAT pokazując zachowanie zależne od szczepu (Rys. 7). SOD zwiększył aktywność w *T. harzianum*, ale nie w *R. stolonifer*, w porównaniu do kontroli. Z drugiej strony aktywność CAT wzrosła tylko w *R. stolonifer* w porównaniu do kontroli. Zarówno aktywność GST, jak i POX wzrosły w porównaniu do kontroli u obu gatunków (Rys. 7).

Rys. 7: Aktywności enzymów antyoksydacyjnych u *R. stolonifer* i *T. harzianum* zastosowanych w środowisku z DDT (+ DDT) i bez DDT (kontrolnym (-DDT)).



Charakterystyka bakterii

Celem doświadczenia była charakterystyka szczepów bakteryjnych izolowanych z polskich gleb skażonych DDT w celu weryfikacji możliwości przygotowania preparatu do praktycznego zastosowania.

Metodyka doświadczenia

Doświadczenie laboratoryjne wykonano w Zakładzie Ochrony Roślin przed Szkodnikami oraz w Pracowni Rizosfery Zakładu Mikrobiologii, zgodnie z metodyką umieszczoną w Ogólnych Metodach Doświadczeń.

Wyniki

Fenotypowa identyfikacja najczęściej występujących morfotypów w 4 szczepach bakterii przedstawia Tabela 16.

Najczęstszymi gatunkami występującymi wśród dziewięciu różnych morfotypów pochodzących z czterech szczepów był *Bacillus subtilis* (4 morfotypy). Wszystkie trzy morfotypy pochodzące z R2B2 zidentyfikowano jako *B. subtilis ss subtilis*. Dwa z trzech morfotypów pochodzących z SKA-A3 zidentyfikowano jako *B. pumilus* lub *B. safensis*, a jeden jako *B. subtilis ss subtilis*. R2-C3 zidentyfikowano również, jako *B. pumilus* lub *B. safensis*. Szczep nazwany SKA-B2 został utworzony z dwóch morfotypów, zidentyfikowanych jako *Paenibacillus* (najbardziej prawdopodobnym gatunkiem jest *P. amylolyticus* lub *P. pabuli*) i

jeden jako *Bacillus megaterium*. W załączniku I podano profile biochemiczne dla każdego morfotypu.

Tabela 16: Fenotypowa identyfikacja najczęściej występujących morfotypów w 4 szczepach bakterii wyizolowanych z gleb zanieczyszczonych z DDT.

Próbka	Morfotyp	Identyfikacja po 24 godzinach (procent prawdopodobieństwa)	Identyfikacja po 48 godzinach (procent prawdopodobieństwa)
R2-C3	-	Bacillus pumilus/safensis (84.5 %) Bacillus safensis/pumilus (15.2 %) Bacillus amyloliquefaciens ss amyloliquefaciens (0.2 %) Bacillus atrophaeus/subtilis (0.2 %)	Bacillus pumilus/safensis (89.5) Bacillus safensis/pumilus (10.5 %) Bacillus amyloliquefaciens ss amyloliquefaciens (0 %) Bacillus licheniformis (0 %)
SKA-B	A	Paenibacillus pabuli/taichungensis (81.8 %) Paenibacillus amylolyticus (19.6 %) Paenibacillus taichungensis/pabuli (19.2 %) Paenibacillus xylanexedens (13.8 %)	Paenibacillus amylolyticus (76.4 %) Paenibacillus taichungensis/pabuli (22.1%) Paenibacillus pabuli/taichungensis (22.1%) Paenibacillus illinoisensis (8.1 %)
	B	-	Bacillus megaterium (100 %) Bacillus firmus (0 %) Bacillus mojavensis/subtilis (0 %) Bacillus pumilus/safensis (0 %)
R2-B2	A	Bacillus subtilis ss subtilis (- %) Bacillus mojavensis/subtilis (- %) Bacillus subtilis ss spizizenii (- %) Bacillus atrophaeus/subtilis (- %)	Bacillus subtilis ss subtilis (52.7%) Bacillus mojavensis/subtilis (22.1%) Bacillus subtilis ss spizizenii (15.3%) Bacillus atrophaeus/subtilis (2.2%)
	B	Bacillus subtilis ss subtilis (- %) Bacillus subtilis ss spizizenii (- %) Bacillus mojavensis/subtilis (- %) Bacillus atrophaeus/subtilis (- %)	Bacillus subtilis ss subtilis (65.8%) Bacillus mojavensis/subtilis (21.2%) Bacillus subtilis ss spizizenii (10.8%) Bacillus atrophaeus/subtilis (2.2%)
	C	Bacillus subtilis ss subtilis (- %) Bacillus mojavensis/subtilis (- %) Bacillus subtilis ss spizizenii (- %) Bacillus atrophaeus/subtilis (- %)	Bacillus subtilis ss subtilis (66.3%) SB Bacillus mojavensis/subtilis (24.0%) Bacillus subtilis ss spizizenii (8.7%) Bacillus atrophaeus/subtilis (1.1%)
SKA-A3	A	Bacillus subtilis ss subtilis (69.7 %) Bacillus mojavensis/subtilis (16.1%) Bacillus subtilis ss spizizenii (10.3%) Bacillus atrophaeus/subtilis (1.7 %)	Bacillus subtilis ss subtilis (- %) Bacillus mojavensis/subtilis (- %) Bacillus subtilis ss spizizenii (- %) Bacillus atrophaeus/subtilis (- %)
	B	Bacillus pumilus/safensis (92.2 %)	Bacillus pumilus/safensis (64.6 %)

		Bacillus safensis/pumilus (7.7 %) Bacillus atrophaeus/subtilis (0.0 %) Bacillus muralis (0.0 %)	Bacillus safensis/pumilus (15.4 %) Bacillus muralis (0.0 %) Bacillus amyloliquefaciens ss amyloliquefaciens (0.0 %)
	C	Bacillus pumilus/safensis (88.3 %) Bacillus safensis/pumilus (11.5 %) Bacillus licheniformis (0.1 %) Bacillus amyloliquefaciens ss amyloliquefaciens (0.0 %)	Bacillus pumilus/safensis (78.9 %) Bacillus safensis/pumilus (21.0 %) Bacillus licheniformis (0.0 %) Bacillus amyloliquefaciens ss amyloliquefaciens (0.0 %)

PODSUMOWANIE

Wydaje się, że sama gleba różnie absorbuje DDT, o czym może świadczyć analiza gleby przed wysianiem roślin, gdzie dla każdej odmiany (kombinacji) przygotowywano oddzielnie glebę a stosowano taką samą dawkę analitycznego DDT. Uzyskane wyniki potwierdzają, że rośliny dyniowate pobierają DDT z gleby, ale może to być zależne od odmiany. W korzeniach niektórych odmian poziom DDT był podobny do poziomu DDT wykrywanego w glebie, w której uprawiano daną odmianę.

Interesujące wyniki uzyskano w doświadczeniach z różnymi odmianami roślin dyniowatych (w sumie 17 odmian dyniowatych - dynia i cukinia). Były to odmiany wybrane spośród 32 odmian, które zostały przetestowane w poprzednim roku, wykazując wyższą zdolność pobierania i akumulacji DDT z gleby. Piętnaście z nich potwierdziło zdolność pobierania DDT, a cztery translokację tych związków do części nadziemnych roślin. Należy wziąć pod uwagę, że pobrana ilość, nawet jeśli jest ograniczona z uwagi na wartość bezwzględną, może wynosić około 0,01 mg DDT na roślinę, biorąc pod uwagę całkowitą świeżą masę roślin.

Zastosowanie różnych mikroorganizmów (np. izolatów *Mortierella* lub *Trichoderma* lub grzybów mikoryzowych) do gleby zanieczyszczonej DDT wraz z uprawą roślin dyniowatych wykazało, że ta praktyka może znacznie zwiększyć zdolność roślin do pobierania DDT. Ogólnie około 100% więcej DDT było w systemie korzeniowym roślin, które rosły w glebie z mikroorganizmami niż w tych, które rosły bez tych mikroorganizmów.

Bardzo ciekawym rezultatem było to, że wszystkie mikroorganizmy wyizolowane i wybrane z zanieczyszczonych gruntów DDT pozwoliły roślinie na przeniesienie DDT do części nadziemnej. Również w tym przypadku przeniesiona ilość DDT była dwukrotnie wyższa u roślin rosnących w glebie z mikroorganizmami w stosunku do roślin kontrolnych, co zwiększyło skuteczność remediacji. Taki wynik jest jeszcze bardziej interesujący, biorąc pod uwagę, że wybrane odmiany były w stanie pobrać, a w kilku przypadkach przemieścić DDT w większych ilościach, gdy poziom zanieczyszczenia gleby był wyższy. Ta sama odmiana (AMES 26 707), w obecności dwukrotnie wyższego poziomu zanieczyszczenia DDT w glebie, była w stanie pobrać do korzeni, co najmniej 10-krotność ilości DDT pobranej z gleby o niskim poziomie skażenia.

Zastosowanie inokulum utworzonego z grzybów mikoryzowych i bakterii ryzosferowych również wywoływały znacznie lepsze pobieranie DDT, ale ograniczone było tylko do systemu

korzeniowego roślin. Również w tym przypadku najskuteczniejsza okazała się odmiana AMES 26 670.

Dzięki tym wynikom oraz wynikom uzyskanym w poprzednim roku przetestowaliśmy odmianę AMES 26 607 pod kątem możliwości pobierania "starego" (zalegającego w glebie) lub "nowego" (zastosowanie analitycznego) DDT. Wyniki wykazały zdolność tej odmiany do pobierania obu „rodzajów” DDT, co nie ogranicza stosowania fitoremediacji.

Efekt degradacji DDT przez mikroorganizmy można docenić nie tylko ze względu na ilość DDT pobraną przez rośliny, ale także z częstszej wyższej biodostępności (a tym samym ekstraktywności podczas procesu analitycznego) DDT w glebie, jak wynika z wartości określonych w glebie po traktowaniu gleby lub uprawie roślin.

Na pobieranie i zawartość składników pokarmowych (makro- i mikroelementów) przez rośliny może mieć wpływ obecność DDT w glebie, ale z pewnością ma stosowanie do gleby mikroorganizmów. Jest to szczególnie interesujące w przypadku azotu (N), którego zawartość była zawsze zwiększana przez obecność wszystkich gatunków grzybów. Jednak wielkość pobrania tego składnika jest również zależna od odmiany. Niemniej jednak fascynujące było to, że dla odmiany AMES 26 607, która w różnych próbach znalazła się wśród najskuteczniejszych w pobieraniu DDT, ale pobieranie na przykład fosforu (P) w roślinach tej odmiany była najniższa. Hipoteza była taka, że mechanizmy pobierania DDT mogą być podobne do mechanizmów pobierania fosforu. Zmniejszenie zawartości P, które stwierdziliśmy, może, zatem być związane z wysokim pobieraniem DDT w AMES 26 607, jeśli mechanizm wykorzystywałby podobne szlaki metaboliczne. Jest to wynik, który wymaga dalszych badań, ale to może rzucić światło na nowe metody remediacji DDT.

Charakterystyka wybranych gatunków grzybów i bakterii wykazujących zdolność do biodegradacji DDT, które zostały wyizolowane z gleby zanieczyszczonej DDT, pozwoliła nam lepiej zrozumieć ich potencjał, a także możliwe mechanizmy, które mogą one wykorzystywać w celu wsparcia rekultywacji gleby. Wśród grzybów na przykład *Trichoderma* posiada kilka korzystnych cech w zakresie wzrostu roślin, także jako antagonistę patogenów przenoszonych przez glebę. Szybka kolonizacja gleby i zdolność życia w powiązaniu z systemem korzeniowym to cechy, które mogą silnie pozytywnie wpływać na strategię bioremediacji i biororemediacji. Zostało to wykazane również w naszych badaniach, w których *Trichoderma* była jednym z najbardziej skutecznych mikroorganizmów wspierających pobieranie DDT przez korzenie.

Mortierella jest gatunkiem saprotrofowym w glebie należącym do grupy ekologicznej, którą tworzą organizmy, które szybko nawiązują relacje z korzeniami roślin. Częstotliwość występowania gatunków *Mortierella* rosnących na powierzchni korzeni jest ogólnie wyższa w porównaniu z innymi gatunkami grzybów. Wiele szczepów *Mortierella* spp. jest zdolnych do degradacji chityny i hemiceluloz, co jest cechą powszechnie występującą w przypadku grzybów niszczących zanieczyszczenia organiczne. *Rhizopus* jest znanym saprotrofem i odgrywa ważną rolę we wczesnej kolonizacji gleby i którą szybko kolonizuje.

Po określeniu, które substraty są najczęściej stosowane i są bardziej skuteczne w promowaniu wzrostu grzybów w obecności DDT, można wspierać biotechnologiczny proces wytwarzania i

formułowania produktów opartych na mikroorganizmach do stosowania w praktykach biororemediacyjnych w terenie. Jednak nadal istnieje potrzeba określenia najlepszego sformułowania i zweryfikowania możliwości stworzenia konsorcjum szczepów, które mogłyby usprawnić proces naprawczy.

Interesujące było stwierdzenie, że cztery szczepy bakterii zdolne do wykorzystania DDT, jako substratu wzrostu należą do grupy *Bacillus*. Ta grupa składa się z kilku pożytecznych gatunków i szczepów, wykorzystywanych zarówno w procesie odżywiania, jak i w ochronie roślin. Ich zdolność do degradacji DDT otwiera nowe możliwości ich wykorzystania.

Działalność upowszechnieniowa

- E. Malusà, M. Tartanus, A. Miszczak, W. Kowalczyk. Rizo-bioremediacja jako narzędzia zmniejszająca ryzyka zanieczyszczenia produktów ekologicznych pozostałościami glebowymi DDT. MRiRW, PANEL I – szkolenia dla upoważnionych jednostek certyfikujących, 6.11.2018 Prezentacja
- E. Malusà, M. Tartanus, A. Miszczak (2018). DDT – nadal obecne w glebie i środowisku – jak można je zredukować? Warzywa, w druku
- A. Ceci, F. Russo, E. Malusà, O. Maggi, M. Tartanus, B. H. Łabanowska, A. M. Persiani (2018). Stress response and tolerance to DDT: soil fungal species isolated from polluted agricultural areas of Poland and their potential in fungal bioremediation. Proceedings of 112° Congresso della Società Botanica Italiana - IV international Plant Science Conference (IPSC). Parma, 20–22 September 2017. ISBN: 978-88-85915-21-3
- F. Russo, A. Ceci, F. Pinzari, O. Maggi, E. Malusà, M. Tartanus, A. Miszczak, A.M. Persiani Soil fungi isolated from DDT-polluted soils: assessment of tolerance, interspecific metabolic diversity and efficacy of rhizo-bioremediation. 3rd conference on the Ecology of Soil Microorganisms, Abstract book, 17–21 June 2018, Helsinki, Finland ISBN:978-952-326-583-7 (Print) / 978-952-326-584-4 (Online)
- F. Russo, A. Siciliano, A. Ceci, O. Maggi, M. Guida, E. Malusà, M. Tartanus, A. M. Persiani (2018). Exploiting saprotrophic soil microfungi in bioremediation of DDT: stress tolerance, oxidative stress and antioxidants. Proceedings 113° Congresso della Società Botanica Italiana - V international Plant Science Conference (IPSC), Fisciano (SA), 12–15 September 2018. ISBN: 978-88-85915-22-0
- F. Russo, A. Ceci, E. Malusà, F. Pinzari, O. Maggi, M. Tartanus, A.M. Persiani. Characterization of autochthonous saprotrophic fungal strains for the bioremediation of DDT from agricultural soils. Submitted to

Annex I

Profile biochemiczne badanych izolatów bakterii

Tab. 1: Profil biochemiczny izolatu pochodzącego z szalki oznaczonej jako R2-C3 obejmujący utlenianie związków węgla oraz aktywność metaboliczną (wytwarzanie dehydrogenaz) w obecności antybiotyków, soli oraz przy różnych odczynach pH po 24 godzinach inkubacji.

substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	wytwarzanie dehydrogenaz
Dextrin	+	Inosine	+	D-Gluconic Acid	+	pH 6	+
D-Maltose	-	1% Sodium Lactate	+	D-Glucuronic Acid	+	pH 5	+
D-Trehalose	+	D-Serine	-	Glucuronamide	+	1% NaCl	+
D-Cellobiose	+	D-Sorbitol	-	Mucic Acid	-	4% NaCl	+
Gentiobiose	+	D-Mannitol	+	Quinic Acid	+	8% NaCl	+
Sucrose	+	D-Arabitol	+	D-Saccharic Acid	-	Fusidic Acid	-
D-Turanose	-	myo-Inositol	-	p-Hydroxy-Phenylacetic Acid	-	Troleandomycin	-
Stachyose	-	Glycerol	+	Methyl Pyruvate	+	Rifamycin SV	-
D-Raffinose	+	D-Glucose-6-PO4	-	D-Lactic Acid Methyl Ester	-	Minocycline	-
α -D-Lactose	-	D-Fructose-6-PO4	+	L-Lactic Acid	+	Lincomycin	-
D-Melibiose	+	D-Aspartic Acid	+	Citric Acid	+	Guanidine HCl	+
β -Methyl-D-Glucoside	+	D-Serine	-	α -Keto-Glutaric Acid	+	Vancomycin	-
D-Salicin	+	Gelatin	+	D-Malic Acid	+	Tetrazolium Violet	+
N-Acetyl-D-Glucosamine	+	Glycyl-L-Proline	+	L-Malic Acid	+	Tetrazolium Blue	-
N-Acetyl- β -D-Mannosamine	-	L-Alanine	+	Bromo-Succinic Acid	-	Nalidixic Acid	+
N-Acetyl-D-Galactosamine	-	L-Arginine	+	Tween 40	-	Lithium Chloride	+
N-Acetyl Neuraminic Acid	-	L-Aspartic Acid	+	γ -Amino-Butyric Acid	+	Potassium Tellurite	+
α -D-Glucose	+	L-Glutamic Acid	+	α -Hydroxy-Butyric Acid	-	Aztreonam	+
D-Mannose	+	L-Histidine	-	β -Hydroxy-D,L-Butyric Acid	-	Sodium Butyrate	+
D-Fructose	+	L-Pyrogutamic Acid	+	α -Keto-Butyric Acid	-	Sodium Bromate	-
D-Galactose	+	L-Serine	+	Acetoacetic Acid	+		
3-Methyl Glucose	-	Niaproof 4	-	Propionic Acid	-		
D-Fucose	+	Pectin	+	Acetic Acid	-		
L-Fucose	-	D-Galacturonic Acid	+	Formic Acid	-		
L-Rhamnose	-	L-Galactonic Acid Lactone	-				

Tab. 2: Profil biochemiczny izolatu o pochodzącego z szalki oznaczonej jako R2-C3 obejmujący utlenianie związków węgla oraz aktywność metaboliczną (wytwarzanie dehydrogenaz) w obecności antybiotyków, soli oraz przy różnych odczynach pH po 48 godzinach inkubacji.

substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	wytwarzanie dehydrogenaz
Dextrin	+	Inosine	+	D-Gluconic Acid	+	pH 6	+
D-Maltose	-	1% Sodium Lactate	+	D-Glucuronic Acid	+	pH 5	+
D-Trehalose	+	D-Serine	+	Glucuronamide	+	1% NaCl	+
D-Cellobiose	+	D-Sorbitol	-	Mucic Acid	-	4% NaCl	+
Gentiobiose	+	D-Mannitol	+	Quinic Acid	+	8% NaCl	+
Sucrose	+	D-Arabitol	+	D-Saccharic Acid	-	Fusidic Acid	-
D-Turanose	-	myo-Inositol	-	p-Hydroxy-Phenylacetic Acid	-	Troleandomycin	-
Stachyose	+	Glycerol	+	Methyl Pyruvate	+	Rifamycin SV	-
D-Raffinose	+	D-Glucose-6-PO4	-	D-Lactic Acid Methyl Ester	-	Minocycline	-
α -D-Lactose	-	D-Fructose-6-PO4	+	L-Lactic Acid	+	Lincomycin	-
D-Melibiose	+	D-Aspartic Acid	+	Citric Acid	+	Guanidine HCl	+
β -Methyl-D-Glucoside	+	D-Serine	-	α -Keto-Glutaric Acid	+	Vancomycin	-
D-Salicin	+	Gelatin	+	D-Malic Acid	+	Tetrazolium Violet	+
N-Acetyl-D-Glucosamine	+	Glycyl-L-Proline	+	L-Malic Acid	+	Tetrazolium Blue	-
N-Acetyl- β -D-Mannosamine	-	L-Alanine	+	Bromo-Succinic Acid	+	Nalidixic Acid	+
N-Acetyl-D-Galactosamine	-	L-Arginine	+	Tween 40	-	Lithium Chloride	+
N-Acetyl Neuraminic Acid	-	L-Aspartic Acid	+	γ -Amino-Butyric Acid	+	Potassium Tellurite	+
α -D-Glucose	+	L-Glutamic Acid	+	α -Hydroxy-Butyric Acid	-	Aztreonam	+
D-Mannose	+	L-Histidine	-	β -Hydroxy-D,L-Butyric Acid	-	Sodium Butyrate	+
D-Fructose	+	L-Pyroglutamic Acid	+	α -Keto-Butyric Acid	-	Sodium Bromate	+
D-Galactose	+	L-Serine	+	Acetoacetic Acid	+		
3-Methyl Glucose	-	Niaproof 4	-	Propionic Acid	-		
D-Fucose	+	Pectin	+	Acetic Acid	-		
L-Fucose	-	D-Galacturonic Acid	-	Formic Acid	-		
L-Rhamnose	-	L-Galactonic Acid Lactone	-				

Tab. 3: Profil biochemiczny izolatu o morfologii 'A' pochodzącego z szalki oznaczonej jako SKA-B obejmujący utlenianie związków węgla oraz aktywność metaboliczną (wytwarzanie dehydrogenaz) w obecności antybiotyków, soli oraz przy różnych odczynach pH po 24 godzinach inkubacji.

substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	wytwarzanie dehydrogenaz
Dextrin	+	Inosine	+	D-Gluconic Acid	+	pH 6	+
D-Maltose	+	1% Sodium Lactate	+	D-Glucuronic Acid	+	pH 5	+
D-Trehalose	+	D-Serine	-	Glucuronamide	+	1% NaCl	+
D-Cellobiose	+	D-Sorbitol	-	Mucic Acid	-	4% NaCl	+
Gentiobiose	+	D-Mannitol	+	Quinic Acid	-	8% NaCl	-
Sucrose	+	D-Arabitol	-	D-Saccharic Acid	-	Fusidic Acid	-
D-Turanose	+	myo-Inositol	+	p-Hydroxy-Phenylacetic Acid	-	Troleandomycin	-
Stachyose	+	Glycerol	+	Methyl Pyruvate	+	Rifamycin SV	-
D-Raffinose	+	D-Glucose-6-PO4	-	D-Lactic Acid Methyl Ester	-	Minocycline	-
α -D-Lactose	+	D-Fructose-6-PO4	+	L-Lactic Acid	-	Lincomycin	-
D-Melibiose	+	D-Aspartic Acid	-	Citric Acid	-	Guanidine HCl	+
β -Methyl-D-Glucoside	+	D-Serine	-	α -Keto-Glutaric Acid	-	Vancomycin	-
D-Salicin	+	Gelatin	-	D-Malic Acid	-	Tetrazolium Violet	+
N-Acetyl-D-Glucosamine	-	Glycyl-L-Proline	-	L-Malic Acid	-	Tetrazolium Blue	+
N-Acetyl- β -D-Mannosamine	+	L-Alanine	-	Bromo-Succinic Acid	-	Nalidixic Acid	-
N-Acetyl-D-Galactosamine	-	L-Arginine	-	Tween 40	-	Lithium Chloride	+
N-Acetyl Neuraminic Acid	-	L-Aspartic Acid	-	γ -Amino-Butyric Acid	-	Potassium Tellurite	+
α -D-Glucose	+	L-Glutamic Acid	-	α -Hydroxy-Butyric Acid	-	Aztreonam	+
D-Mannose	+	L-Histidine	-	β -Hydroxy-D,L-Butyric Acid	-	Sodium Butyrate	+
D-Fructose	+	L-Pyrogutamic Acid	-	α -Keto-Butyric Acid	-	Sodium Bromate	-
D-Galactose	+	L-Serine	-	Acetoacetic Acid	+		
3-Methyl Glucose	+	Niaproof 4	-	Propionic Acid	-		
D-Fucose	+	Pectin	+	Acetic Acid	+		
L-Fucose	+	D-Galacturonic Acid	+	Formic Acid	-		
L-Rhamnose	+	L-Galactonic Acid Lactone	+				

Tab. 4: Profil biochemiczny izolatu o morfologii 'A' pochodzącego z szalki oznaczonej jako SKA-B obejmujący utlenianie związków węgla oraz aktywność metaboliczną (wytwarzanie dehydrogenaz) w obecności antybiotyków, soli oraz przy różnych odczynach pH po 48 godzinach inkubacji.

substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	wytwarzanie dehydrogenaz
Dextrin	+	Inosine	+	D-Gluconic Acid	+	pH 6	+
D-Maltose	+	1% Sodium Lactate	+	D-Glucuronic Acid	+	pH 5	+
D-Trehalose	+	D-Serine	-	Glucuronamide	+	1% NaCl	+
D-Cellobiose	+	D-Sorbitol	-	Mucic Acid	-	4% NaCl	+
Gentiobiose	+	D-Mannitol	+	Quinic Acid	-	8% NaCl	+
Sucrose	+	D-Arabitol	-	D-Saccharic Acid	-	Fusidic Acid	-
D-Turanose	+	myo-Inositol	+	p-Hydroxy-Phenylacetic Acid	-	Troleandomycin	-
Stachyose	+	Glycerol	+	Methyl Pyruvate	+	Rifamycin SV	-
D-Raffinose	+	D-Glucose-6-PO4	-	D-Lactic Acid Methyl Ester	-	Minocycline	-
α -D-Lactose	+	D-Fructose-6-PO4	+	L-Lactic Acid	-	Lincomycin	+
D-Melibiose	+	D-Aspartic Acid	-	Citric Acid	-	Guanidine HCl	+
β -Methyl-D-Glucoside	+	D-Serine	-	α -Keto-Glutaric Acid	-	Vancomycin	-
D-Salicin	+	Gelatin	-	D-Malic Acid	-	Tetrazolium Violet	+
N-Acetyl-D-Glucosamine	-	Glycyl-L-Proline	-	L-Malic Acid	-	Tetrazolium Blue	+
N-Acetyl- β -D-Mannosamine	+	L-Alanine	-	Bromo-Succinic Acid	-	Nalidixic Acid	-
N-Acetyl-D-Galactosamine	-	L-Arginine	-	Tween 40	-	Lithium Chloride	+
N-Acetyl Neuraminic Acid	-	L-Aspartic Acid	-	γ -Amino-Butyric Acid	-	Potassium Tellurite	+
α -D-Glucose	+	L-Glutamic Acid	-	α -Hydroxy-Butyric Acid	-	Aztreonam	+
D-Mannose	+	L-Histidine	-	β -Hydroxy-D,L-Butyric Acid	-	Sodium Butyrate	+
D-Fructose	+	L-Pyrogutamic Acid	-	α -Keto-Butyric Acid	-	Sodium Bromate	-
D-Galactose	+	L-Serine	-	Acetoacetic Acid	+		
3-Methyl Glucose	+	Niaproof 4	-	Propionic Acid	-		
D-Fucose	+	Pectin	+	Acetic Acid	+		
L-Fucose	+	D-Galacturonic Acid	+	Formic Acid	-		
L-Rhamnose	+	L-Galactonic Acid Lactone	+				

Tab. 5: Profil biochemiczny izolatu o morfologii 'B' pochodzącego z szalki oznaczonej jako SKA-B obejmujący utlenianie związków węgla oraz aktywność metaboliczną (wytwarzanie dehydrogenaz) w obecności antybiotyków, soli oraz przy różnych odczynach pH po 24 godzinach inkubacji.

substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	wytwarzanie dehydrogenaz
Dextrin	+	Inosine	-	D-Gluconic Acid	-	pH 6	+
D-Maltose	-	1% Sodium Lactate	+	D-Glucuronic Acid	+	pH 5	+
D-Trehalose	-	D-Serine	-	Glucuronamide	+	1% NaCl	+
D-Cellobiose	-	D-Sorbitol	-	Mucic Acid	-	4% NaCl	+
Gentiobiose	-	D-Mannitol	-	Quinic Acid	-	8% NaCl	+
Sucrose	-	D-Arabitol	-	D-Saccharic Acid	-	Fusidic Acid	-
D-Turanose	-	myo-Inositol	-	p-Hydroxy-Phenylacetic Acid	-	Troleandomycin	-
Stachyose	-	Glycerol	-	Methyl Pyruvate	+	Rifamycin SV	-
D-Raffinose	-	D-Glucose-6-PO4	-	D-Lactic Acid Methyl Ester	-	Minocycline	-
α -D-Lactose	-	D-Fructose-6-PO4	+	L-Lactic Acid	-	Lincomycin	+
D-Melibiose	-	D-Aspartic Acid	-	Citric Acid	-	Guanidine HCl	+
β -Methyl-D-Glucoside	-	D-Serine	-	α -Keto-Glutaric Acid	-	Vancomycin	-
D-Salicin	-	Gelatin	-	D-Malic Acid	-	Tetrazolium Violet	+
N-Acetyl-D-Glucosamine	-	Glycyl-L-Proline	-	L-Malic Acid	+	Tetrazolium Blue	-
N-Acetyl- β -D-Mannosamine	-	L-Alanine	-	Bromo-Succinic Acid	-	Nalidixic Acid	-
N-Acetyl-D-Galactosamine	-	L-Arginine	-	Tween 40	+	Lithium Chloride	+
N-Acetyl Neuraminic Acid	-	L-Aspartic Acid	+	γ -Amino-Butyric Acid	-	Potassium Tellurite	+
α -D-Glucose	+	L-Glutamic Acid	-	α -Hydroxy-Butyric Acid	-	Aztreonam	+
D-Mannose	-	L-Histidine	+	β -Hydroxy-D,L-Butyric Acid	+	Sodium Butyrate	+
D-Fructose	-	L-Pyroglutamic Acid	-	α -Keto-Butyric Acid	-	Sodium Bromate	-
D-Galactose	+	L-Serine	-	Acetoacetic Acid	+		
3-Methyl Glucose	-	Niaproof 4	-	Propionic Acid	+		
D-Fucose	-	Pectin	-	Acetic Acid	+		
L-Fucose	-	D-Galacturonic Acid	+	Formic Acid	+		
L-Rhamnose	-	L-Galactonic Acid Lactone	+				

Tab. 6: Profil biochemiczny izolatu o morfologii 'B' pochodzącego z szalki oznaczonej jako SKA-B obejmujący utlenianie związków węgla oraz aktywność metaboliczną (wytwarzanie dehydrogenaz) w obecności antybiotyków, soli oraz przy różnych odczynach pH po 48 godzinach inkubacji.

substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	wytwarzanie dehydrogenaz
Dextrin	+	Inosine	-	D-Gluconic Acid	+	pH 6	+
D-Maltose	-	1% Sodium Lactate	+	D-Glucuronic Acid	+	pH 5	+
D-Trehalose	+	D-Serine	-	Glucuronamide	+	1% NaCl	+
D-Cellobiose	-	D-Sorbitol	+	Mucic Acid	+	4% NaCl	+
Gentiobiose	+	D-Mannitol	+	Quinic Acid	+	8% NaCl	+
Sucrose	+	D-Arabitol	-	D-Saccharic Acid	+	Fusidic Acid	-
D-Turanose	-	myo-Inositol	-	p-Hydroxy-Phenylacetic Acid	-	Troleandomycin	-
Stachyose	+	Glycerol	-	Methyl Pyruvate	+	Rifamycin SV	-
D-Raffinose	+	D-Glucose-6-PO4	-	D-Lactic Acid Methyl Ester	-	Minocycline	-
α -D-Lactose	-	D-Fructose-6-PO4	+	L-Lactic Acid	+	Lincomycin	+
D-Melibiose	-	D-Aspartic Acid	-	Citric Acid	+	Guanidine HCl	+
β -Methyl-D-Glucoside	-	D-Serine	-	α -Keto-Glutaric Acid	-	Vancomycin	-
D-Salicin	-	Gelatin	-	D-Malic Acid	-	Tetrazolium Violet	+
N-Acetyl-D-Glucosamine	-	Glycyl-L-Proline	-	L-Malic Acid	+	Tetrazolium Blue	-
N-Acetyl- β -D-Mannosamine	+	L-Alanine	+	Bromo-Succinic Acid	+	Nalidixic Acid	-
N-Acetyl-D-Galactosamine	-	L-Arginine	+	Tween 40	+	Lithium Chloride	+
N-Acetyl Neuraminic Acid	-	L-Aspartic Acid	+	γ -Amino-Butyric Acid	+	Potassium Tellurite	+
α -D-Glucose	+	L-Glutamic Acid	+	α -Hydroxy-Butyric Acid	+	Aztreonam	+
D-Mannose	-	L-Histidine	+	β -Hydroxy-D,L-Butyric Acid	+	Sodium Butyrate	+
D-Fructose	+	L-Pyroglutamic Acid	+	α -Keto-Butyric Acid	+	Sodium Bromate	+
D-Galactose	+	L-Serine	+	Acetoacetic Acid	+		
3-Methyl Glucose	-	Niaproof 4	-	Propionic Acid	-		
D-Fucose	+	Pectin	+	Acetic Acid	+		
L-Fucose	-	D-Galacturonic Acid	-	Formic Acid	+		
L-Rhamnose	-	L-Galactonic Acid Lactone	+				

Tab. 7: Profil biochemiczny izolatu o morfologii 'A' pochodzącego z szalki oznaczonej jako R2-B2 obejmujący utlenianie związków węgla oraz aktywność metaboliczną (wytwarzanie dehydrogenaz) w obecności antybiotyków, soli oraz przy różnych odczynach pH po 24 godzinach inkubacji.

substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	wytwarzanie dehydrogenaz
Dextrin	+	Inosine	-	D-Gluconic Acid	+	pH 6	+
D-Maltose	+	1% Sodium Lactate	+	D-Glucuronic Acid	+	pH 5	+
D-Trehalose	+	D-Serine	-	Glucuronamide	+	1% NaCl	+
D-Cellobiose	+	D-Sorbitol	+	Mucic Acid	+	4% NaCl	+
Gentiobiose	+	D-Mannitol	+	Quinic Acid	-	8% NaCl	+
Sucrose	+	D-Arabitol	-	D-Saccharic Acid	+	Fusidic Acid	-
D-Turanose	-	myo-Inositol	+	p-Hydroxy-Phenylacetic Acid	-	Troleandomycin	-
Stachyose	+	Glycerol	+	Methyl Pyruvate	+	Rifamycin SV	-
D-Raffinose	+	D-Glucose-6-PO4	-	D-Lactic Acid Methyl Ester	-	Minocycline	-
α -D-Lactose	-	D-Fructose-6-PO4	+	L-Lactic Acid	+	Lincomycin	-
D-Melibiose	+	D-Aspartic Acid	+	Citric Acid	+	Guanidine HCl	+
β -Methyl-D-Glucoside	+	D-Serine	-	α -Keto-Glutaric Acid	-	Vancomycin	-
D-Salicin	+	Gelatin	+	D-Malic Acid	-	Tetrazolium Violet	+
N-Acetyl-D-Glucosamine	-	Glycyl-L-Proline	-	L-Malic Acid	+	Tetrazolium Blue	-
N-Acetyl- β -D-Mannosamine	-	L-Alanine	+	Bromo-Succinic Acid	+	Nalidixic Acid	-
N-Acetyl-D-Galactosamine	-	L-Arginine	+	Tween 40	-	Lithium Chloride	+
N-Acetyl Neuraminic Acid	-	L-Aspartic Acid	+	γ -Amino-Butyric Acid	-	Potassium Tellurite	+
α -D-Glucose	+	L-Glutamic Acid	+	α -Hydroxy-Butyric Acid	-	Aztreonam	+
D-Mannose	+	L-Histidine	+	β -Hydroxy-D,L-Butyric Acid	-	Sodium Butyrate	+
D-Fructose	+	L-Pyrogutamic Acid	-	α -Keto-Butyric Acid	-	Sodium Bromate	-
D-Galactose	-	L-Serine	-	Acetoacetic Acid	+		
3-Methyl Glucose	-	Niaproof 4	-	Propionic Acid	-		
D-Fucose	-	Pectin	+	Acetic Acid	-		
L-Fucose	-	D-Galacturonic Acid	+	Formic Acid	-		
L-Rhamnose	-	L-Galactonic Acid Lactone	+				

Tab. 8: Profil biochemiczny izolatu o morfologii 'A' pochodzącego z szalki oznaczonej jako R2-B2 obejmujący utlenianie związków węgla oraz aktywność metaboliczną (wytwarzanie dehydrogenaz) w obecności antybiotyków, soli oraz przy różnych odczynach pH po 48 godzinach inkubacji.

substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	wytwarzanie dehydrogenaz
Dextrin	+	Inosine	-	D-Gluconic Acid	+	pH 6	+
D-Maltose	+	1% Sodium Lactate	+	D-Glucuronic Acid	+	pH 5	+
D-Trehalose	+	D-Serine	-	Glucuronamide	+	1% NaCl	+
D-Cellobiose	+	D-Sorbitol	+	Mucic Acid	+	4% NaCl	+
Gentiobiose	+	D-Mannitol	+	Quinic Acid	-	8% NaCl	+
Sucrose	+	D-Arabitol	-	D-Saccharic Acid	+	Fusidic Acid	-
D-Turanose	+	myo-Inositol	+	p-Hydroxy-Phenylacetic Acid	-	Troleandomycin	-
Stachyose	+	Glycerol	+	Methyl Pyruvate	+	Rifamycin SV	-
D-Raffinose	+	D-Glucose-6-PO4	-	D-Lactic Acid Methyl Ester	-	Minocycline	-
α -D-Lactose	-	D-Fructose-6-PO4	+	L-Lactic Acid	+	Lincomycin	-
D-Melibiose	+	D-Aspartic Acid	+	Citric Acid	+	Guanidine HCl	+
β -Methyl-D-Glucoside	+	D-Serine	-	α -Keto-Glutaric Acid	+	Vancomycin	-
D-Salicin	+	Gelatin	+	D-Malic Acid	-	Tetrazolium Violet	+
N-Acetyl-D-Glucosamine	+	Glycyl-L-Proline	-	L-Malic Acid	+	Tetrazolium Blue	-
N-Acetyl- β -D-Mannosamine	-	L-Alanine	+	Bromo-Succinic Acid	+	Nalidixic Acid	-
N-Acetyl-D-Galactosamine	-	L-Arginine	+	Tween 40	-	Lithium Chloride	+
N-Acetyl Neuraminic Acid	-	L-Aspartic Acid	+	γ -Amino-Butyric Acid	+	Potassium Tellurite	+
α -D-Glucose	+	L-Glutamic Acid	+	α -Hydroxy-Butyric Acid	-	Aztreonam	+
D-Mannose	+	L-Histidine	+	β -Hydroxy-D,L-Butyric Acid	-	Sodium Butyrate	+
D-Fructose	+	L-Pyroglutamic Acid	+	α -Keto-Butyric Acid	-	Sodium Bromate	-
D-Galactose	-	L-Serine	+	Acetoacetic Acid	+		
3-Methyl Glucose	-	Niaproof 4	-	Propionic Acid	-		
D-Fucose	-	Pectin	+	Acetic Acid	-		
L-Fucose	-	D-Galacturonic Acid	+	Formic Acid	-		
L-Rhamnose	+	L-Galactonic Acid Lactone	+				

Tab. 9: Profil biochemiczny izolatu o morfologii 'B' pochodzącego z szalki oznaczonej jako R2-B2 obejmujący utlenianie związków węgla oraz aktywność metaboliczną (wytwarzanie dehydrogenaz) w obecności antybiotyków, soli oraz przy różnych odczynach pH po 24 godzinach inkubacji.

substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	wytwarzanie dehydrogenaz
Dextrin	+	Inosine	-	D-Gluconic Acid	+	pH 6	+
D-Maltose	+	1% Sodium Lactate	+	D-Glucuronic Acid	+	pH 5	+
D-Trehalose	+	D-Serine	-	Glucuronamide	+	1% NaCl	+
D-Cellobiose	+	D-Sorbitol	+	Mucic Acid	+	4% NaCl	+
Gentiobiose	+	D-Mannitol	+	Quinic Acid	-	8% NaCl	+
Sucrose	+	D-Arabitol	-	D-Saccharic Acid	+	Fusidic Acid	-
D-Turanose	+	myo-Inositol	+	p-Hydroxy-Phenylacetic Acid	-	Troleandomycin	-
Stachyose	+	Glycerol	+	Methyl Pyruvate	+	Rifamycin SV	-
D-Raffinose	+	D-Glucose-6-PO4	-	D-Lactic Acid Methyl Ester	-	Minocycline	-
α -D-Lactose	-	D-Fructose-6-PO4	+	L-Lactic Acid	+	Lincomycin	-
D-Melibiose	+	D-Aspartic Acid	+	Citric Acid	+	Guanidine HCl	+
β -Methyl-D-Glucoside	+	D-Serine	-	α -Keto-Glutaric Acid	-	Vancomycin	-
D-Salicin	+	Gelatin	-	D-Malic Acid	-	Tetrazolium Violet	+
N-Acetyl-D-Glucosamine	+	Glycyl-L-Proline	-	L-Malic Acid	+	Tetrazolium Blue	-
N-Acetyl- β -D-Mannosamine	-	L-Alanine	+	Bromo-Succinic Acid	+	Nalidixic Acid	-
N-Acetyl-D-Galactosamine	-	L-Arginine	+	Tween 40	-	Lithium Chloride	+
N-Acetyl Neuraminic Acid	-	L-Aspartic Acid	+	γ -Amino-Butyric Acid	+	Potassium Tellurite	+
α -D-Glucose	+	L-Glutamic Acid	+	α -Hydroxy-Butyric Acid	-	Aztreonam	+
D-Mannose	+	L-Histidine	+	β -Hydroxy-D,L-Butyric Acid	-	Sodium Butyrate	+
D-Fructose	+	L-Pyroglutamic Acid	-	α -Keto-Butyric Acid	-	Sodium Bromate	-
D-Galactose	-	L-Serine	+	Acetoacetic Acid	+		
3-Methyl Glucose	-	Niaproof 4	-	Propionic Acid	-		
D-Fucose	-	Pectin	+	Acetic Acid	+		
L-Fucose	-	D-Galacturonic Acid	+	Formic Acid	+		
L-Rhamnose	-	L-Galactonic Acid Lactone	+				

Tab. 10: Profil biochemiczny izolatu o morfologii 'B' pochodzącego z szalki oznaczonej jako R2-B2 obejmujący utlenianie związków węgla oraz aktywność metaboliczną (wytwarzanie dehydrogenaz) w obecności antybiotyków, soli oraz przy różnych odczynach pH po 48 godzinach inkubacji.

substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	wytwarzanie dehydrogenaz
Dextrin	+	Inosine	-	D-Gluconic Acid	+	pH 6	+
D-Maltose	+	1% Sodium Lactate	+	D-Glucuronic Acid	+	pH 5	+
D-Trehalose	+	D-Serine	-	Glucuronamide	+	1% NaCl	+
D-Cellobiose	+	D-Sorbitol	+	Mucic Acid	+	4% NaCl	+
Gentiobiose	+	D-Mannitol	+	Quinic Acid	-	8% NaCl	+
Sucrose	+	D-Arabitol	-	D-Saccharic Acid	+	Fusidic Acid	-
D-Turanose	+	myo-Inositol	+	p-Hydroxy-Phenylacetic Acid	-	Troleandomycin	-
Stachyose	+	Glycerol	+	Methyl Pyruvate	+	Rifamycin SV	-
D-Raffinose	+	D-Glucose-6-PO4	+	D-Lactic Acid Methyl Ester	-	Minocycline	-
α -D-Lactose	-	D-Fructose-6-PO4	+	L-Lactic Acid	+	Lincomycin	-
D-Melibiose	+	D-Aspartic Acid	+	Citric Acid	+	Guanidine HCl	+
β -Methyl-D-Glucoside	+	D-Serine	-	α -Keto-Glutaric Acid	-	Vancomycin	-
D-Salicin	+	Gelatin	+	D-Malic Acid	-	Tetrazolium Violet	+
N-Acetyl-D-Glucosamine	+	Glycyl-L-Proline	-	L-Malic Acid	+	Tetrazolium Blue	-
N-Acetyl- β -D-Mannosamine	-	L-Alanine	+	Bromo-Succinic Acid	+	Nalidixic Acid	-
N-Acetyl-D-Galactosamine	-	L-Arginine	+	Tween 40	-	Lithium Chloride	+
N-Acetyl Neuraminic Acid	-	L-Aspartic Acid	+	γ -Amino-Butyric Acid	+	Potassium Tellurite	+
α -D-Glucose	+	L-Glutamic Acid	+	α -Hydroxy-Butyric Acid	-	Aztreonam	+
D-Mannose	+	L-Histidine	+	β -Hydroxy-D,L-Butyric Acid	-	Sodium Butyrate	+
D-Fructose	+	L-Pyroglutamic Acid	-	α -Keto-Butyric Acid	-	Sodium Bromate	-
D-Galactose	-	L-Serine	+	Acetoacetic Acid	+		
3-Methyl Glucose	-	Niaproof 4	-	Propionic Acid	-		
D-Fucose	-	Pectin	+	Acetic Acid	+		
L-Fucose	-	D-Galacturonic Acid	+	Formic Acid	+		
L-Rhamnose	-	L-Galactonic Acid Lactone	+				

Tab. 11: Profil biochemiczny izolatu o morfologii 'C' pochodzącego z szalki oznaczonej jako R2-B2 obejmujący utlenianie związków węgla oraz aktywność metaboliczną (wytwarzanie dehydrogenaz) w obecności antybiotyków, soli oraz przy różnych odczynach pH po 24 godzinach inkubacji.

substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	wytwarzanie dehydrogenaz
Dextrin	+	Inosine	+	D-Gluconic Acid	+	pH 6	+
D-Maltose	+	1% Sodium Lactate	+	D-Glucuronic Acid	+	pH 5	+
D-Trehalose	+	D-Serine	-	Glucuronamide	+	1% NaCl	+
D-Cellobiose	+	D-Sorbitol	+	Mucic Acid	+	4% NaCl	+
Gentiobiose	+	D-Mannitol	+	Quinic Acid	-	8% NaCl	+
Sucrose	+	D-Arabitol	-	D-Saccharic Acid	+	Fusidic Acid	-
D-Turanose	+	myo-Inositol	+	p-Hydroxy-Phenylacetic Acid	-	Troleandomycin	-
Stachyose	+	Glycerol	+	Methyl Pyruvate	+	Rifamycin SV	-
D-Raffinose	+	D-Glucose-6-PO4	-	D-Lactic Acid Methyl Ester	-	Minocycline	-
α -D-Lactose	-	D-Fructose-6-PO4	+	L-Lactic Acid	+	Lincomycin	-
D-Melibiose	+	D-Aspartic Acid	+	Citric Acid	+	Guanidine HCl	+
β -Methyl-D-Glucoside	+	D-Serine	-	α -Keto-Glutaric Acid	-	Vancomycin	-
D-Salicin	+	Gelatin	-	D-Malic Acid	-	Tetrazolium Violet	+
N-Acetyl-D-Glucosamine	+	Glycyl-L-Proline	-	L-Malic Acid	+	Tetrazolium Blue	-
N-Acetyl- β -D-Mannosamine	-	L-Alanine	+	Bromo-Succinic Acid	-	Nalidixic Acid	-
N-Acetyl-D-Galactosamine	-	L-Arginine	-	Tween 40	-	Lithium Chloride	+
N-Acetyl Neuraminic Acid	-	L-Aspartic Acid	+	γ -Amino-Butyric Acid	-	Potassium Tellurite	+
α -D-Glucose	+	L-Glutamic Acid	+	α -Hydroxy-Butyric Acid	-	Aztreonam	+
D-Mannose	+	L-Histidine	+	β -Hydroxy-D,L-Butyric Acid	-	Sodium Butyrate	+
D-Fructose	+	L-Pyrogutamic Acid	-	α -Keto-Butyric Acid	-	Sodium Bromate	+
D-Galactose	-	L-Serine	-	Acetoacetic Acid	+		
3-Methyl Glucose	-	Niaproof 4	-	Propionic Acid	-		
D-Fucose	+	Pectin	+	Acetic Acid	-		
L-Fucose	+	D-Galacturonic Acid	+	Formic Acid	+		
L-Rhamnose	+	L-Galactonic Acid Lactone	+				

Tab. 12: Profil biochemiczny izolatu o morfologii 'C' pochodzącego z szalki oznaczonej jako R2-B2 obejmujący utlenianie związków węgla oraz aktywność metaboliczną (wytwarzanie dehydrogenaz) w obecności antybiotyków, soli oraz przy różnych odczynach pH po 48 godzinach inkubacji.

substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	wytwarzanie dehydrogenaz
Dextrin	+	Inosine	+	D-Gluconic Acid	+	pH 6	+
D-Maltose	+	1% Sodium Lactate	+	D-Glucuronic Acid	+	pH 5	+
D-Trehalose	+	D-Serine	-	Glucuronamide	+	1% NaCl	+
D-Cellobiose	+	D-Sorbitol	+	Mucic Acid	+	4% NaCl	+
Gentiobiose	+	D-Mannitol	+	Quinic Acid	-	8% NaCl	+
Sucrose	+	D-Arabitol	-	D-Saccharic Acid	+	Fusidic Acid	-
D-Turanose	+	myo-Inositol	+	p-Hydroxy-Phenylacetic Acid	-	Troleandomycin	-
Stachyose	+	Glycerol	+	Methyl Pyruvate	+	Rifamycin SV	-
D-Raffinose	+	D-Glucose-6-PO4	-	D-Lactic Acid Methyl Ester	-	Minocycline	-
α -D-Lactose	-	D-Fructose-6-PO4	+	L-Lactic Acid	+	Lincomycin	-
D-Melibiose	+	D-Aspartic Acid	+	Citric Acid	+	Guanidine HCl	+
β -Methyl-D-Glucoside	+	D-Serine	-	α -Keto-Glutaric Acid	+	Vancomycin	-
D-Salicin	+	Gelatin	+	D-Malic Acid	-	Tetrazolium Violet	+
N-Acetyl-D-Glucosamine	+	Glycyl-L-Proline	-	L-Malic Acid	+	Tetrazolium Blue	-
N-Acetyl- β -D-Mannosamine	-	L-Alanine	+	Bromo-Succinic Acid	+	Nalidixic Acid	-
N-Acetyl-D-Galactosamine	-	L-Arginine	+	Tween 40	-	Lithium Chloride	+
N-Acetyl Neuraminic Acid	+	L-Aspartic Acid	+	γ -Amino-Butyric Acid	-	Potassium Tellurite	+
α -D-Glucose	+	L-Glutamic Acid	+	α -Hydroxy-Butyric Acid	-	Aztreonam	+
D-Mannose	+	L-Histidine	+	β -Hydroxy-D,L-Butyric Acid	-	Sodium Butyrate	+
D-Fructose	+	L-Pyroglutamic Acid	+	α -Keto-Butyric Acid	-	Sodium Bromate	+
D-Galactose	-	L-Serine	-	Acetoacetic Acid	+		
3-Methyl Glucose	-	Niaproof 4	-	Propionic Acid	+		
D-Fucose	+	Pectin	+	Acetic Acid	-		
L-Fucose	+	D-Galacturonic Acid	+	Formic Acid	+		
L-Rhamnose	+	L-Galactonic Acid Lactone	+				

Tab. 13: Profil biochemiczny izolatu o morfologii 'A' pochodzącego z szalki oznaczonej jako SKA-A3 obejmujący utlenianie związków węgla oraz aktywność metaboliczną (wytwarzanie dehydrogenaz) w obecności antybiotyków, soli oraz przy różnych odczynach pH po 24 godzinach inkubacji.

substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	wytwarzanie dehydrogenaz
Dextrin	+	Inosine	-	D-Gluconic Acid	+	pH 6	+
D-Maltose	+	1% Sodium Lactate	+	D-Glucuronic Acid	+	pH 5	+
D-Trehalose	+	D-Serine	-	Glucuronamide	+	1% NaCl	+
D-Cellobiose	+	D-Sorbitol	+	Mucic Acid	+	4% NaCl	+
Gentiobiose	+	D-Mannitol	+	Quinic Acid	-	8% NaCl	+
Sucrose	+	D-Arabitol	-	D-Saccharic Acid	+	Fusidic Acid	-
D-Turanose	+	myo-Inositol	+	p-Hydroxy-Phenylacetic Acid	-	Troleandomycin	-
Stachyose	+	Glycerol	+	Methyl Pyruvate	+	Rifamycin SV	-
D-Raffinose	+	D-Glucose-6-PO4	-	D-Lactic Acid Methyl Ester	-	Minocycline	-
α -D-Lactose	-	D-Fructose-6-PO4	+	L-Lactic Acid	+	Lincomycin	-
D-Melibiose	+	D-Aspartic Acid	+	Citric Acid	+	Guanidine HCl	+
β -Methyl-D-Glucoside	+	D-Serine	-	α -Keto-Glutaric Acid	-	Vancomycin	-
D-Salicin	+	Gelatin	-	D-Malic Acid	-	Tetrazolium Violet	+
N-Acetyl-D-Glucosamine	-	Glycyl-L-Proline	-	L-Malic Acid	+	Tetrazolium Blue	-
N-Acetyl- β -D-Mannosamine	-	L-Alanine	+	Bromo-Succinic Acid	-	Nalidixic Acid	-
N-Acetyl-D-Galactosamine	-	L-Arginine	-	Tween 40	-	Lithium Chloride	+
N-Acetyl Neuraminic Acid	-	L-Aspartic Acid	+	γ -Amino-Butyric Acid	-	Potassium Tellurite	+
α -D-Glucose	+	L-Glutamic Acid	+	α -Hydroxy-Butyric Acid	-	Aztreonam	+
D-Mannose	+	L-Histidine	+	β -Hydroxy-D,L-Butyric Acid	-	Sodium Butyrate	+
D-Fructose	+	L-Pyrogutamic Acid	-	α -Keto-Butyric Acid	-	Sodium Bromate	-
D-Galactose	-	L-Serine	+	Acetoacetic Acid	+		
3-Methyl Glucose	-	Niaproof 4	-	Propionic Acid	-		
D-Fucose	-	Pectin	+	Acetic Acid	-		
L-Fucose	+	D-Galacturonic Acid	+	Formic Acid	-		
L-Rhamnose	+	L-Galactonic Acid Lactone	+				

Tab. 14: Profil biochemiczny izolatu o morfologii 'A' pochodzącego z szalki oznaczonej jako SKA-A3 obejmujący utlenianie związków węgla oraz aktywność metaboliczną (wytwarzanie dehydrogenaz) w obecności antybiotyków, soli oraz przy różnych odczynach pH po 48 godzinach inkubacji.

substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	wytwarzanie dehydrogenaz
Dextrin	+	Inosine	-	D-Gluconic Acid	+	pH 6	+
D-Maltose	+	1% Sodium Lactate	+	D-Glucuronic Acid	+	pH 5	+
D-Trehalose	+	D-Serine	-	Glucuronamide	+	1% NaCl	+
D-Cellobiose	+	D-Sorbitol	+	Mucic Acid	+	4% NaCl	+
Gentiobiose	+	D-Mannitol	+	Quinic Acid	-	8% NaCl	+
Sucrose	+	D-Arabitol	-	D-Saccharic Acid	+	Fusidic Acid	-
D-Turanose	+	myo-Inositol	+	p-Hydroxy-Phenylacetic Acid	-	Troleandomycin	-
Stachyose	+	Glycerol	+	Methyl Pyruvate	+	Rifamycin SV	-
D-Raffinose	+	D-Glucose-6-PO4	-	D-Lactic Acid Methyl Ester	-	Minocycline	-
α -D-Lactose	-	D-Fructose-6-PO4	+	L-Lactic Acid	+	Lincomycin	-
D-Melibiose	+	D-Aspartic Acid	+	Citric Acid	+	Guanidine HCl	+
β -Methyl-D-Glucoside	+	D-Serine	-	α -Keto-Glutaric Acid	-	Vancomycin	-
D-Salicin	+	Gelatin	+	D-Malic Acid	-	Tetrazolium Violet	+
N-Acetyl-D-Glucosamine	+	Glycyl-L-Proline	-	L-Malic Acid	+	Tetrazolium Blue	-
N-Acetyl- β -D-Mannosamine	-	L-Alanine	+	Bromo-Succinic Acid	-	Nalidixic Acid	-
N-Acetyl-D-Galactosamine	-	L-Arginine	+	Tween 40	-	Lithium Chloride	+
N-Acetyl Neuraminic Acid	-	L-Aspartic Acid	+	γ -Amino-Butyric Acid	-	Potassium Tellurite	+
α -D-Glucose	+	L-Glutamic Acid	+	α -Hydroxy-Butyric Acid	-	Aztreonam	+
D-Mannose	+	L-Histidine	+	β -Hydroxy-D,L-Butyric Acid	-	Sodium Butyrate	+
D-Fructose	+	L-Pyroglutamic Acid	-	α -Keto-Butyric Acid	-	Sodium Bromate	+
D-Galactose	-	L-Serine	+	Acetoacetic Acid	+		
3-Methyl Glucose	-	Niaproof 4	-	Propionic Acid	-		
D-Fucose	-	Pectin	+	Acetic Acid	-		
L-Fucose	+	D-Galacturonic Acid	+	Formic Acid	+		
L-Rhamnose	+	L-Galactonic Acid Lactone	+				

Tab. 15: Profil biochemiczny izolatu o morfologii 'B' pochodzącego z szalki oznaczonej jako SKA-A3 obejmujący utlenianie związków węgla oraz aktywność metaboliczną (wytwarzanie dehydrogenaz) w obecności antybiotyków, soli oraz przy różnych odczynach pH po 24 godzinach inkubacji.

substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	wytwarzanie dehydrogenaz
Dextrin	+	Inosine	+	D-Gluconic Acid	+	pH 6	+
D-Maltose	-	1% Sodium Lactate	+	D-Glucuronic Acid	+	pH 5	-
D-Trehalose	+	D-Serine	-	Glucuronamide	+	1% NaCl	+
D-Cellobiose	+	D-Sorbitol	-	Mucic Acid	-	4% NaCl	+
Gentiobiose	+	D-Mannitol	+	Quinic Acid	+	8% NaCl	+
Sucrose	+	D-Arabitol	-	D-Saccharic Acid	-	Fusidic Acid	-
D-Turanose	-	myo-Inositol	-	p-Hydroxy-Phenylacetic Acid	-	Troleandomycin	-
Stachyose	+	Glycerol	+	Methyl Pyruvate	+	Rifamycin SV	-
D-Raffinose	+	D-Glucose-6-PO4	-	D-Lactic Acid Methyl Ester	-	Minocycline	-
α -D-Lactose	-	D-Fructose-6-PO4	+	L-Lactic Acid	+	Lincomycin	-
D-Melibiose	+	D-Aspartic Acid	+	Citric Acid	+	Guanidine HCl	+
β -Methyl-D-Glucoside	+	D-Serine	-	α -Keto-Glutaric Acid	+	Vancomycin	-
D-Salicin	+	Gelatin	+	D-Malic Acid	+	Tetrazolium Violet	+
N-Acetyl-D-Glucosamine	+	Glycyl-L-Proline	-	L-Malic Acid	+	Tetrazolium Blue	-
N-Acetyl- β -D-Mannosamine	+	L-Alanine	+	Bromo-Succinic Acid	-	Nalidixic Acid	-
N-Acetyl-D-Galactosamine	-	L-Arginine	+	Tween 40	-	Lithium Chloride	+
N-Acetyl Neuraminic Acid	-	L-Aspartic Acid	+	γ -Amino-Butyric Acid	+	Potassium Tellurite	+
α -D-Glucose	+	L-Glutamic Acid	+	α -Hydroxy-Butyric Acid	-	Aztreonam	+
D-Mannose	+	L-Histidine	-	β -Hydroxy-D,L-Butyric Acid	-	Sodium Butyrate	+
D-Fructose	+	L-Pyroglutamic Acid	+	α -Keto-Butyric Acid	-	Sodium Bromate	+
D-Galactose	+	L-Serine	+	Acetoacetic Acid	-		
3-Methyl Glucose	-	Niaproof 4	-	Propionic Acid	-		
D-Fucose	+	Pectin	+	Acetic Acid	-		
L-Fucose	-	D-Galacturonic Acid	+	Formic Acid	-		
L-Rhamnose	-	L-Galactonic Acid Lactone	+				

Tab. 16: Profil biochemiczny izolatu o morfologii 'B' pochodzącego z szalki oznaczonej jako SKA-A3 obejmujący utlenianie związków węgla oraz aktywność metaboliczną (wytwarzanie dehydrogenaz) w obecności antybiotyków, soli oraz przy różnych odczynach pH po 48 godzinach inkubacji.

substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	wytwarzanie dehydrogenaz
Dextrin	+	Inosine	+	D-Gluconic Acid	+	pH 6	+
D-Maltose	-	1% Sodium Lactate	+	D-Glucuronic Acid	+	pH 5	+
D-Trehalose	+	D-Serine	-	Glucuronamide	+	1% NaCl	+
D-Cellobiose	+	D-Sorbitol	-	Mucic Acid	-	4% NaCl	+
Gentiobiose	+	D-Mannitol	+	Quinic Acid	+	8% NaCl	+
Sucrose	+	D-Arabitol	-	D-Saccharic Acid	-	Fusidic Acid	-
D-Turanose	-	myo-Inositol	-	p-Hydroxy-Phenylacetic Acid	-	Troleandomycin	-
Stachyose	+	Glycerol	+	Methyl Pyruvate	+	Rifamycin SV	-
D-Raffinose	+	D-Glucose-6-PO4	-	D-Lactic Acid Methyl Ester	-	Minocycline	-
α -D-Lactose	-	D-Fructose-6-PO4	+	L-Lactic Acid	+	Lincomycin	-
D-Melibiose	+	D-Aspartic Acid	+	Citric Acid	+	Guanidine HCl	+
β -Methyl-D-Glucoside	+	D-Serine	-	α -Keto-Glutaric Acid	+	Vancomycin	-
D-Salicin	+	Gelatin	+	D-Malic Acid	+	Tetrazolium Violet	+
N-Acetyl-D-Glucosamine	+	Glycyl-L-Proline	-	L-Malic Acid	+	Tetrazolium Blue	-
N-Acetyl- β -D-Mannosamine	+	L-Alanine	+	Bromo-Succinic Acid	+	Nalidixic Acid	+
N-Acetyl-D-Galactosamine	-	L-Arginine	+	Tween 40	-	Lithium Chloride	+
N-Acetyl Neuraminic Acid	-	L-Aspartic Acid	+	γ -Amino-Butyric Acid	+	Potassium Tellurite	+
α -D-Glucose	+	L-Glutamic Acid	+	α -Hydroxy-Butyric Acid	-	Aztreonam	+
D-Mannose	+	L-Histidine	-	β -Hydroxy-D,L-Butyric Acid	-	Sodium Butyrate	+
D-Fructose	+	L-Pyroglutamic Acid	+	α -Keto-Butyric Acid	-	Sodium Bromate	+
D-Galactose	+	L-Serine	+	Acetoacetic Acid	-		
3-Methyl Glucose	+	Niaproof 4	-	Propionic Acid	-		
D-Fucose	+	Pectin	+	Acetic Acid	-		
L-Fucose	+	D-Galacturonic Acid	+	Formic Acid	-		
L-Rhamnose	+	L-Galactonic Acid Lactone	+				

Tab. 17: Profil biochemiczny izolatu o morfologii 'C' pochodzącego z szalki oznaczonej jako SKA-A3 obejmujący utlenianie związków węgla oraz aktywność metaboliczną (wytwarzanie dehydrogenaz) w obecności antybiotyków, soli oraz przy różnych odczynach pH po 24 godzinach inkubacji.

substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	wytwarzanie dehydrogenaz
Dextrin	+	Inosine	+	D-Gluconic Acid	+	pH 6	+
D-Maltose	-	1% Sodium Lactate	+	D-Glucuronic Acid	+	pH 5	+
D-Trehalose	+	D-Serine	-	Glucuronamide	+	1% NaCl	+
D-Cellobiose	+	D-Sorbitol	-	Mucic Acid	-	4% NaCl	+
Gentiobiose	+	D-Mannitol	+	Quinic Acid	+	8% NaCl	+
Sucrose	+	D-Arabitol	-	D-Saccharic Acid	-	Fusidic Acid	-
D-Turanose	-	myo-Inositol	-	p-Hydroxy-Phenylacetic Acid	-	Troleandomycin	-
Stachyose	+	Glycerol	+	Methyl Pyruvate	+	Rifamycin SV	-
D-Raffinose	+	D-Glucose-6-PO4	-	D-Lactic Acid Methyl Ester	+	Minocycline	-
α -D-Lactose	-	D-Fructose-6-PO4	+	L-Lactic Acid	+	Lincomycin	-
D-Melibiose	+	D-Aspartic Acid	+	Citric Acid	+	Guanidine HCl	+
β -Methyl-D-Glucoside	+	D-Serine	-	α -Keto-Glutaric Acid	+	Vancomycin	-
D-Salicin	+	Gelatin	+	D-Malic Acid	+	Tetrazolium Violet	+
N-Acetyl-D-Glucosamine	+	Glycyl-L-Proline	-	L-Malic Acid	+	Tetrazolium Blue	-
N-Acetyl- β -D-Mannosamine	+	L-Alanine	+	Bromo-Succinic Acid	-	Nalidixic Acid	+
N-Acetyl-D-Galactosamine	-	L-Arginine	+	Tween 40	-	Lithium Chloride	+
N-Acetyl Neuraminic Acid	-	L-Aspartic Acid	+	γ -Amino-Butyric Acid	+	Potassium Tellurite	+
α -D-Glucose	+	L-Glutamic Acid	+	α -Hydroxy-Butyric Acid	-	Aztreonam	+
D-Mannose	+	L-Histidine	-	β -Hydroxy-D,L-Butyric Acid	-	Sodium Butyrate	+
D-Fructose	+	L-Pyroglutamic Acid	+	α -Keto-Butyric Acid	-	Sodium Bromate	-
D-Galactose	-	L-Serine	+	Acetoacetic Acid	+		
3-Methyl Glucose	-	Niaproof 4	-	Propionic Acid	-		
D-Fucose	+	Pectin	+	Acetic Acid	-		
L-Fucose	+	D-Galacturonic Acid	+	Formic Acid	-		
L-Rhamnose	-	L-Galactonic Acid Lactone	-				

Tab. 18: Profil biochemiczny izolatu o morfologii 'C' pochodzącego z szalki oznaczonej jako SKA-A3 obejmujący utlenianie związków węgla oraz aktywność metaboliczną (wytwarzanie dehydrogenaz) w obecności antybiotyków, soli oraz przy różnych odczynach pH po 48 godzinach inkubacji.

substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	utlenianie	substrat	wytwarzanie dehydrogenaz
Dextrin	+	Inosine	+	D-Gluconic Acid	+	pH 6	+
D-Maltose	-	1% Sodium Lactate	+	D-Glucuronic Acid	+	pH 5	+
D-Trehalose	+	D-Serine	-	Glucuronamide	+	1% NaCl	+
D-Cellobiose	+	D-Sorbitol	-	Mucic Acid	-	4% NaCl	+
Gentiobiose	+	D-Mannitol	+	Quinic Acid	+	8% NaCl	+
Sucrose	+	D-Arabitol	-	D-Saccharic Acid	-	Fusidic Acid	-
D-Turanose	-	myo-Inositol	-	p-Hydroxy-Phenylacetic Acid	-	Troleandomycin	-
Stachyose	+	Glycerol	+	Methyl Pyruvate	+	Rifamycin SV	-
D-Raffinose	+	D-Glucose-6-PO4	-	D-Lactic Acid Methyl Ester	+	Minocycline	-
α -D-Lactose	-	D-Fructose-6-PO4	+	L-Lactic Acid	+	Lincomycin	-
D-Melibiose	+	D-Aspartic Acid	+	Citric Acid	+	Guanidine HCl	+
β -Methyl-D-Glucoside	+	D-Serine	-	α -Keto-Glutaric Acid	+	Vancomycin	-
D-Salicin	+	Gelatin	+	D-Malic Acid	+	Tetrazolium Violet	+
N-Acetyl-D-Glucosamine	+	Glycyl-L-Proline	-	L-Malic Acid	+	Tetrazolium Blue	-
N-Acetyl- β -D-Mannosamine	+	L-Alanine	+	Bromo-Succinic Acid	+	Nalidixic Acid	+
N-Acetyl-D-Galactosamine	-	L-Arginine	+	Tween 40	-	Lithium Chloride	+
N-Acetyl Neuraminic Acid	-	L-Aspartic Acid	+	γ -Amino-Butyric Acid	+	Potassium Tellurite	+
α -D-Glucose	+	L-Glutamic Acid	+	α -Hydroxy-Butyric Acid	-	Aztreonam	+
D-Mannose	+	L-Histidine	-	β -Hydroxy-D,L-Butyric Acid	-	Sodium Butyrate	+
D-Fructose	+	L-Pyroglutamic Acid	+	α -Keto-Butyric Acid	-	Sodium Bromate	+
D-Galactose	+	L-Serine	+	Acetoacetic Acid	+		
3-Methyl Glucose	-	Niaproof 4	-	Propionic Acid	-		
D-Fucose	+	Pectin	+	Acetic Acid	-		
L-Fucose	+	D-Galacturonic Acid	+	Formic Acid	-		
L-Rhamnose	-	L-Galactonic Acid Lactone	-				

ANNEX II

Przewodnik z zaleceniami dla sadownictwa ekologicznego (wytyczne w zakresie przeciwdziałania skażeniom produktów roślinnych związkami DDT)

Zanieczyszczenie środowiska jest problemem, który wpływa nie tylko na naturalne zasoby w środowisku, ale także w agroekosystemie. W tym systemie skażenie gleb i pozostałości pestycydów są jednym z głównych źródeł zanieczyszczeń, których ryzyko wystąpienia jest szeroko analizowane i oceniane podczas procesu zatwierdzania nowych lub już zatwierdzonych do użytku substancji czynnych. W przypadku substancji takich jak tzw. trwałe zanieczyszczenia organiczne, a wśród nich również DDT, które były stosowane w przeszłości - stwierdzono, że mają one bardzo długą trwałość w glebie i wciąż istnieje możliwość znajdowania ich pozostałości w produktach spożywczych z powodu przypadkowych zanieczyszczeń. Jednakże, oprócz ryzyka zanieczyszczenia, fakt stwierdzenia pozostałości w ekologicznych kwalifikowanych uprawach może również wskazywać na zastosowanie niedozwolonej substancji.

W obecnym czasie, kiedy istnieje zakaz stosowania środków opartych na DDT, obok ilości, które mogą wynikać z wcześniejszych zastosowań, zanieczyszczenie roślin lub gleby, które wykazują duże skłonności do bioakumulacji jest możliwe przez pozostałości tej substancji pochodzące z atmosfery. Na przykład z powodu przenoszenia ich przez wiatr nawet z dużych odległości, z powodu erozji gleby lub spływania z zanieczyszczonych gleb na sąsiednie tereny. Poziom potencjalnego zanieczyszczenia z innych źródeł lub pozostałości z wcześniejszych zastosowań można ocenić, biorąc pod uwagę wyniki monitoringu i badań przeprowadzonych w różnych krajach. Pozostałości DDT w próbkach liści roślin drzewiastych i porostów pobrane z Europejskich naturalnych siedlisk w latach 1983-84 były na poziomie od 3.5 do 1400 ng/g s.m (tj. 1.4 mg/kg, a trzeba pamiętać, że najwyższy dopuszczalny poziom pozostałości - NDP - dla żywności pochodzenia roślinnego wynosi 0.05 mg/kg!). W 2002 roku, w rejonie delty rzeki Yangtze (Chiny), w powietrzu odnotowano nawet około 1000 pg/m³ DDT. Ten bardzo wysoki poziom zanieczyszczenia powietrza był związany ze zastosowaniem dikofolu (akarycydu), który był i nadal jest syntetyzowany z DDT, zaś jego formułacje zawierały wysokie stężenia technicznego DDT. W raporcie UE dotyczącym pozostałości pestycydów w żywności w 2016 r. opublikowanym przez EFSA najczęściej wymienianymi pestycydami w produktach zwierzęcych były trwałe zanieczyszczenia organiczne, przy czym DDT stwierdzono w około 2,8% próbek. Ten sam dokument informuje o wynikach analiz 5495 próbek produktów ekologicznych. Około 4% próbek z wykrytymi pozostałościami również pochodzących z krajów Azji Wschodniej, zawierało pozostałości DDT, ale były niższe od NDP. Problem pozostałości DDT w agroekosystemie jest więc nadal rzeczywistością.

W Polsce, podobnie jak w innych krajach UE, pomimo, że od prawie 30 lat istnieje zakaz stosowania środków zawierających DDT, nadal w niektórych produktach żywnościowych można zidentyfikować zanieczyszczenia pozostałościami tej substancji lub jej metabolitami (DDE, DDD i ich izomerami – o,p'-DDE, p,p'-DDE, o,p'-DDD, itp.). Zwiększona czułość analityczna metod i narzędzi wykorzystywanych do analizy pozostałości pestycydów i innych związków spowodowała, że coraz częściej mogą być wykrywane pozostałości DDT, w

niektórych partiach produktów, także ekologicznych. Na przykład, w kilku próbkach ziół pobranych w 2007 roku w południowej części Polski stwierdzono przekroczenie NDP. Wyniki monitoringu poziomu zanieczyszczenia prowadzonego przez nas w ramach projektu finansowanego przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi pokazują, że około 80% próbek gleby ze 100 pobranych w różnych województwach, zawierało pozostałości tego związku. Dlatego ważne jest znalezienie metody redukcji lub eliminacji tego zanieczyszczenia bezpośrednio w glebie. Chemiczne i fizyczne traktowanie gleby jest szybsze niż zabiegi biologiczne, ale generalnie bardziej niszczące i inwazyjne dla gleby, bardziej energochłonne i często droższe niż remediacja. Remediacja skupia się na 3 metodach, charakteryzujących się łatwością stosowania, niskim kosztem oraz ogólną akceptacją środowiskową:

- a) **Bioremediacja**, zastosowanie mikroorganizmów wspomagających rozkład DDT do związków niezalegających w glebie i nieszkodliwych,
- b) **Fitoremediacja**, uprawa roślin akumulujących pozostałości DDT, które będą umożliwiać ich „ekstrakcję” z gleby,
- c) **Ryzo-bioremediacja**, wykorzystanie konsorcjów mikroorganizmów wspomagających rozkład DDT do związków niezalegających lub/ oraz wspomagające wzrost korzeni roślinnych w celu ułatwienia pobierania związków DDT przez rośliny akumulujące.

W celu zmniejszenia ryzyka zanieczyszczenia pozostałościami DDT i rozpoczęcia procesu rekultywacji gleby na podstawie badań własnych prowadzonych w latach 2016-2018 oraz wyników wcześniejszych badań zaleca się podejmować działania mające na celu:

- zmniejszenie ryzyka związanego z wprowadzaniem do obrotu produktów zawierających pozostałości DDT oraz
 - zmniejszenie ilości pozostałości DDT obecnych w glebie.
1. Rolnicy muszą mieć świadomość, że DDT jest silnie związany z materią organiczną, co powoduje, że jego naturalna degradacja jest bardzo powolna. Ponadto obecność w terenie jest zwykle bardzo niejednolita, dlatego należy pobierać próbki do analizy gleby w celu sprawdzenia ewentualnego zanieczyszczenia, faworyzując możliwe miejsca skażenia. Próbki z miejsc zagrożonych zanieczyszczeniem należy gromadzić oddzielnie od prób z miejsc o nieznanym statusie lub o mniejszym ryzyku wcześniejszego zanieczyszczenia. Taka strategia pozwoliłaby rolnikom na zidentyfikowanie pól lub obszarów w obrębie pola, w których ryzyko pozostałości w roślinach jest wyższe.
 2. Ważne jest, aby wybrać laboratorium do analizy pozostałości DDT, które ma wcześniejsze doświadczenia z tym związkiem. Analiza wymaga specyficznej metody, która umożliwi wykrycie nie tylko DDT, ale także wszystkich metabolitów i izomerów (p,p'-DDT, o,p'-DDT, o,p'-DDE, p,p'-DDE, o,p'-DDD i p,p'-DDD, DDMU-p,pi DDM-p,p). W rzeczywistości, wszystkie z nich są sumowane, aby stwierdzić ostateczną zawartość wyrażoną jako DDT, która jest następnie raportowana w sprawozdaniu z badań. Prawidłowe wykonane badania powinny również zawierać informacje o poziomie niepewności pomiaru analitycznego, co jest bardzo ważne w celu sprawdzenia zgodności próbki z prawnymi ograniczeniami.

3. W glebach zanieczyszczonych DDT zaleca się, aby nie uprawiać roślin, w przypadku, których sprzedany produkt jest częścią rosnącą w glebie (tj. części spichrzowe marchwi, buraków, bulwy selera, itp.) lub może wejść w kontakt z glebą (np. truskawka, jeśli nie jest ściółkowana). Chociaż różne gatunki roślin mają różną zdolność wychwytywania DDT, a korzenie są często myte przed wprowadzeniem na rynek, wciąż istnieje ryzyko znalezienia pozostałości z powodu bardzo wysokiej czułości metody analitycznej (nawet pojedynczą cząsteczkę DDT można wykryć, gdy jest obecna w 1 miliardzie innych cząsteczek). W naszych doświadczeniach stwierdzono obecność związków DDT (niekiedy zależnie od poziomu DDT i jego metabolitów w glebie) w korzeniach roślin takich jak: kukurydza, jęczmień, lucerna, dynia, cukinia, pomidor, truskawka, malina, koleus, aksamitka, ogórek i por.
4. Podczas zbiorów, w szczególności owoców i części roślin niezwiązanych bezpośrednio z glebą, ważne jest, aby unikać zabrudzenia produktu ziemią lub cząstkami gleby (np. pozostającymi na ściankach skrzynek). Stwierdzono, że w większości gatunków jest małe prawdopodobieństwo przeniesienia DDT do wyższych części rośliny, nawet jeśli substancja ta jest obecna w glebie i została pobrana przez korzenie. Może się to zdarzyć w przypadku niektórych upraw (patrz poniżej), które są wykorzystywane do rekultywacji gleby. Dlatego w takich przypadkach obecność pozostałości w analizie może wynikać z kontaktu z glebą lub z nieuprawnionego użycia substancji.
5. Rośliny gatunków należących do dyniowatych (Cucurbitaceae) mają dobrą zdolność pobierania DDT, a także przenoszenia tych związków do organów nadziemnych, w tym owoców. Dlatego w przypadku gatunków takich jak cukinia, ogórek, dynia, melon i arbuż istnieje zagrożenie wykrycia w ich owocach pozostałości związków DDT, jeżeli są uprawiane w zanieczyszczonych lub potencjalnie zanieczyszczonych glebach (nie została wykonana analiza potwierdzająca brak związków DDT) i nie powinny być uprawiane na takich glebach.
6. Wykazano, że niektóre gatunki roślin nie gromadzą DDT w organach roślin wykorzystywanych do spożycia (np. sałata), nawet w obecności niektórych związków DDT w glebie. Jednakże ilość pozostałości DDT w innych glebach (gleby z pól uprawnych), a także ich właściwości fizykochemiczne mogą być różne od tych testowanych, co powoduje możliwość pobierania związków DDT przez te same gatunki roślin. Głównymi właściwościami, które należy uwzględnić w glebie przy ocenie ryzyka, są jej tekstura i zawartość materii organicznej (im większa ilość gliny lub materii organicznej, tym większe ryzyko pozostałości DDT). Poza tym, główną drogą zanieczyszczenia roślin jest absorpcja przez woski pokrywające włoski liściowe związków DDT z zanieczyszczonej atmosfery w procesie suchej lub mokrej jej depozycji.
7. Należy zwracać szczególnie uwagę na substancji naturalnych, jakie stosowane są obecnie w uprawach. Pod szczególnym nadzorem powinny być przygotowywane samodzielnie np. gnojówki z różnych rodzajów roślin (szczególnie pokrzywa). Zdarza się, że produkty pochodzenia naturalnego (roślinnego) mogą zawierać pozostałości DDT i jego metabolitów, i mogą być źródłem skażenia, jeśli są pozyskiwane ze skażonych pól i zakumulowały szkodliwe związki.

8. Różne praktyki agrotechniczne mogą pomagać w zmniejszeniu ilości pozostałości DDT obecnych w glebie (tzw. remediacja). Biorąc pod uwagę dobrą zdolność wychwytywania DDT i translokację do organów nadziemnych gatunków należących do dyniowatych (Cucurbitaceae), można je wykorzystać do "oczyszczenia" zanieczyszczonej gleby. Należy podkreślić, że istnieją różnice w zdolnościach fitoremediacji między gatunkami, ale także wśród odmian tego samego gatunku. Badania przeprowadzone w Instytucie Ogrodnictwa w Skierniewicach po wybraniu i przetestowaniu około 30 różnych odmian roślin dyniowatych pochodzących z ponad 10 krajów wykazały, że niektóre z nich mają dobre właściwości remediacyjne, w tym również kilka odmian powszechnie uprawianych w Polsce (n.p. Junova i Miranda). Oczekuje się, że wyniki te będą potwierdzone również w różnych warunkach glebowych w terenie, ponieważ okazało się, że ich zdolność do pobierania różni się w zależności od poziomu DDT obecnego w glebie. Aspekt ten nie był wcześniej rozważany w tego rodzaju badaniach, również w innych krajach, dlatego wymaga dodatkowych badań.
9. Zastosowanie bionawozów, tj. nawozów opartych na mikroorganizmach, takich jak grzyby mikoryzowe, może prowadzić do zwiększonego wychwytywania DDT przez rośliny dyniowate. Mechanizm leżący u podstawy takiego wyniku nie jest w pełni jasny, ale przypuszcza się, że strzępki grzyba przerastają większą warstwę gleby niż system korzeniowy rośliny i mogą dotrzeć do miejsc w glebie zawierającej związek, który nie jest dostępny dla rośliny. Dlatego zaleca się stosowanie roślin (np. ogórka) z tym rodzajem grzybów w celu zwiększenia efektywności z którą DDT może potencjalnie zostać pobrane przez roślinę i w ten sposób usunąć tą substancję z zanieczyszczonej gleby.
10. Wykorzystanie mikroorganizmów biodegradowalnych jest metodą wymagającą szczególnej wiedzy fachowej w zakresie postępowania z produktami zawierającymi te drobnoustroje oraz dostępności szczepów wysoce skutecznych w wykorzystaniu DDT, jako źródła pożywienia i zdolnych do jego metabolizmu. Obecnie istnieją produkty komercyjne, które wydają się odpowiednie do degradacji pestycydów, ale nie są specyficzne dla DDT. Zostały one jednak przetestowane na glebie zanieczyszczonej przemysłowo, gdzie stężenie związków chemicznych jest kilkakrotnie wyższe niż w glebach rolniczych. Dlatego nie wiadomo, czy mogą one być skuteczne w warunkach polowych. Jak donoszą najnowsze dane literaturowe przeprowadzono badania z wykorzystaniem grzybów brunatnych, kompostu z bydlęcego obornika oraz zużytego podłoża po produkcji grzybów do bioremediacji DDT. Grzyby brunatne, w tym *Gloeophyllum trabeum*, *Fomitopsis pinicola* i *Daedalea dickinsii*, wykazały dobrą zdolność degradowania DDT. Grzyby z gatunków *Mucor circinelloides* i *Galactomyces geotrichum* wyizolowane z kompostu bydlęcego obornika oraz *Pleurotus ostreatus* z odpadów przy produkcji bocznika wykazały degradację DDT w sztucznie zanieczyszczonej glebie i są uznawane jako obiecujące źródło bioremediacji tego związku.
11. Niektóre szczepy grzybów (*Mortierella*, *Trichoderma* i *Rhizopus*) i bakterii (różne gatunki *Bacillus* i *Paenibacillus*) wyizolowane z zanieczyszczonych polskich gleb uprawnych zostały opisane i scharakteryzowane we współpracy z Zakładem Biologii

Środowiskowej, Uniwersytetu La Sapienza w Rzymie i przetestowane w doświadczeniach przeprowadzonych w Instytucie Ogrodnictwa. Wstępne wyniki zachęcają do kontynuowania tych testów również w celu przygotowania preparatu (formulatu) do praktycznego zastosowania.