

# BIOAKUMULÁCIA $^{137}\text{Cs}$ MIKROORGANIZMAMI IZOLOVANÝMI Z PÔDY KONTAMINOVANEJ RÁDIONUKLIDMI

## BIOACCUMULATION OF $^{137}\text{Cs}$ BY MICROORGANISMS ISOLATED FROM SOILS CONTAMINATED WITH RADIONUCLIDES

Mgr. MARTIN PIPÍŠKA, Mgr. MIROSLAV HORNÍK, Prof. Ing. JOZEF AUGUSTÍN, DrSc.

*Katedra biotechnológií, Fakulta prírodných vied, Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnave, Nám. J. Herdu 2, Trnava, 917 00, SR*  
[pipiskam@ucm.sk](mailto:pipiskam@ucm.sk)

### Abstrakt

S cieľom posúdiť možnosť využitia autochtónnej populácie pôdných mikroorganizmov, samotných alebo za spoluúčasti vyšších rastlín, v procesoch bioremediácie sme v pôdach kontaminovaných nízkymi aktivitami  $^{137}\text{Cs}$  (0,080 – 2,8 kBq/g) kvantitatívne stanovili počet psychrofilných a mezofilných baktérií, získali izoláty čistých kultúr húb a aktinomycét a stanovili ich bioakumulačnú aktivitu  $^{137}\text{Cs}$  za rastových podmienok. Zistili sme, že počet rozmnožovania schopných psychrofilných a mezofilných baktérií je signifikantne nižší v zeminách s najvyššou kontamináciou rádionuklidmi ako v zeminách s nízkou kontamináciou. Z kontaminovanej zeminy sme získali čisté kultúry 5 izolátov mikromycét a 3 izolátov aktinomycét. Najvyššie hodnoty bioakumulácie cézia 39  $\mu\text{mol/g}$  vlhkej biomasy za rastových podmienok vykazovali mikromycéty. Pri aktinomycétach boli tieto hodnoty 4,7  $\mu\text{mol/g}$ , teda približne o jeden poriadok nižšie. Podstatná časť cézia akumulovaného bunkovou hmotou za rastových podmienok bola lokalizovaná v bunkovej hmote a nedala sa odstrániť premývaním s 0,9 % roztokom NaCl. Zistené hodnoty biokoncentračného faktora BCF prepočítaného na suchú hmotnosť biomasy boli v rozmedzí 16,04 po 26,20 pri mikromycétach a pri aktinomycétach bola táto hodnota 3,24. Z uvedeného vyplýva, že autochtónna populácia pôdných mikromycét a aktinomycét, nachádzajúca sa v kontaminovanej zemine sa po vytvorení vhodných podmienok pre rast môže významnou mierou podieľať na procesoch viazania biologicky dostupných foriem  $^{137}\text{Cs}$ .

**Kľúčové slová:** rádiocézium, kontaminácia, pôdne mikroorganizmy, izolácia, bioakumulácia, bioremediácia

### Úvod

Rádionuklidy sa do životného prostredia dostávajú buď z prírodných alebo umelých zdrojov. Odhaduje sa, že v priemere 79 % radiácie, ktorej je ľudstvo vystavené pochádza z prírodných zdrojov, 19 % z medicínskych aplikácií a zostávajúce 2 % z testovania nukleárných zbraní a jadrových elektrární. Pozornosť obyvateľstva sa hlavne sústreďuje na žiarenie pochádzajúce z testovania jadrových zbraní a prevádzky atómových reaktorov, ktoré vypustili do životného prostredia významné množstvá umelých rádionuklidov. Pôda znečistená rádionuklidmi, hlavne s  $^{137}\text{Cs}$  a  $^{90}\text{Sr}$ , predstavuje dlhodobé radiačné ohrozenie človeka prostredníctvom potravinovej reťaze a iných ciest prenosu.

Cézium a draslík majú podobné chemické a fyzikálne vlastnosti. Z tohoto dôvodu i keď cézium nie je biogénny prvok, dostáva sa do biologických systémov spolu s draslíkom. Predpokladá sa, že toxicita  $\text{Cs}^+$  iónu je dôsledkom jeho chemickej podoby  $\text{K}^+$  iónu. Kým  $\text{Cs}^+$  sa ľahko akumuluje cez transportné systémy pre jednomocné kationy a môže nahradzovať  $\text{K}^+$  v intracelulárnom priestore,  $\text{Cs}^+$  očividne nemôže nahradiť  $\text{K}^+$  ión v jeho esenciálnych biologických funkciách (AVERY *et al.*, 1991; AVERY *et al.*, 1992a; AVERY *et al.*, 1992b; CIUFFO *et al.*, 2002).  $^{137}\text{Cs}$  (polčas premeny 30,2 roka) sa pevne viaže na ílovú frakciu pôdy a len malým podielom prechádza do vegetácie. Avšak do potravinovej reťaze môže prenikať aj priamo povrchovým zamorením poľnohospodárskych plodín a krmovín (EISENBUD *et GESELL*, 1997).

Pre odstraňovanie rádionuklidov a iných toxických kovov zo životného prostredia možno použiť metódy založené na fyzikálnych, chemických a biologických princípoch. Medzi fyzikálno-chemické procesy patria precipitácia, koagulácia, použitie dispergačných a chelatačných činidiel, membránové procesy (ultrafiltrácia, reverzná osmóza) a adsorpcia. Vo väčšine prípadov používanie týchto fyzikálno-chemických procesov je limitované vysokou cenou, zložitou procesov a nízkou efektívnosťou odstraňovania rádionuklidov a iných toxických kovov (KAPOOR *et VIRARAGHAVAN*, 1995).

Nedávny rozvoj environmentálnych biotechnológií ponúkol možnosť využitia biologických systémov mikroorganizmov a rastlín ako sorbentov ťažkých kovov a rádionuklidov. Procesy sa z pravidla označujú spoločným názvom bioremediácia.

Fyzikálno-chemické procesy na povrchu bunkovej steny alebo v cytoplazme a enzymaticky katalyzované reakcie mikroorganizmov sa môžu podieľať na transformácii iónov toxických kovov do

rôznych mobilných a imobilných foriem. Môžu byť zabudované do subcelulárnych štruktúr bunky alebo precipitované pomocou mikrobiálnych metabolitov, akumulované pomocou bunkových stien nešpecifickými, ale aj špecifickými mechanizmami a rôznymi oxidačno-redukčnými reakciami. Tieto procesy spôsobujú zmeny mobility mnohých toxických látok zo skupiny rádionuklidov a ťažkých kovov (GADD, 1996).

V pôde sa vyskytujú štyri základné skupiny mikroorganizmov významných z hľadiska biochemickej premeny látok: baktérie (hlavne z radu *Actinomycetales*), mikroskopické huby (mikromycéty), riasy a prvoky. Ich množstvo a druhové zastúpenie závisí od charakteru a typu pôdy, porastu, hnojenia, obrábania, prítomnosti toxických látok a iných faktorov. Z hľadiska hĺbkového rozloženia mikroorganizmov sa mikromycéty a aktinomycéty nachádzajú blízko povrchu a v nižších hĺbkach prevažujú hlavne anaeróbne baktérie.

Aktinomycéty sú typické pôdne baktérie, ktoré dodávajú pôde charakteristickú vôňu a veľkou mierou sa zúčastňujú kolobehu látok v prírode i rozkladu toxických látok. TOMIOKA (1992) zistil, že *Rhodococcus sp.* izolovaný zo vzoriek kontaminovaných pôd, akumuloval značné množstvá  $Cs^+$  za rastových podmienok.

Väčšina vláknitých húb je vybavená širokým spektrom enzýmov, ktorý im umožňuje pôsobiť v procesoch bioremediácie znečisteného prostredia bez ohľadu na to, či sa jedná o znečistenie organickými alebo anorganickými látkami. Túto ich úlohu v procese bioremediácie odráža aj značne rozsiahla vedecká literatúra (GADD, 1999; SAYER *et al.*, 1997; SAYER *et al.*, 1999; HAFEZ *et al.*, 1997; TOBIN *et al.*, 1994).

Cieľom tejto práce bolo získať poznatky o výskyte mikroorganizmov nachádzajúcich sa v zemine dlhodobo kontaminovanej nízkymi aktivitami rádiocézia, izolovať čisté kultúry aktinomycét a vláknitých húb a použiť tieto mikroorganizmy ako modelové biologické objekty pre štúdium procesov bioakumulácie  $^{137}Cs$  a intenzity väzby v definovaných laboratórnych podmienkach.

## Materiál a metódy

### *Stanovenie počtu pôdných mikroorganizmov*

Pre stanovenie celkového počtu rozmnožovania schopných mezofilných a psychrofilných baktérií a mikromycét v lokalitách odberu vzoriek pre získanie izolátov boli použité postupy podľa práce KOMÁREK (1990). Celkový počet psychrofilných a mezofilných baktérií a mikromycét sme stanovovali ako počet kolóniotvorných jednotiek KTJ na 1 g suchej vzorky pôdy.

#### ▪ *Získanie čistých kultúr*

Izoláty pôdných aktinomycét a mikromycét sme získali zo vzoriek pôdy kontaminovanej rádiocéziom z kontrolovaného pásma čistiackej stanice odpadu v areáli Slovenských elektrární, a.s., VYZ, o.z. Jaslovské Bohunice. Pozemok je dokonale zmapovaný z hľadiska celkového množstva, časových zmien a vertikálneho i horizontálneho rozloženia rádionuklidov. Prevládajúcim rádionuklidom je  $^{137}Cs$ , ktorý tvorí 99,5% celkovej rádioaktivity (CHNAPKO *et al.*, 2001).

K štúdiu sme použili 9 vzoriek pôdy odobratých z troch hĺbok (5, 20 a 40 cm) v troch miestach z odlišnou aktivitou od 11 do 900 Bq/g. Izolačná metóda pozostávala z extrakcie vzorky zeminy 0,9 % roztokom NaCl s použitím ultrazvuku, následnej inokulácie špecifických médií na agarových platniach sériovo riedenými vzorkami extraktov a opakovanou reinokuláciou vybraných kolónií s výrazne odlišnou morfológiou. Izolované čisté kultúry mikroorganizmov sme identifikovali na základe mikroskopických a makroskopických morfológických znakov nativných preparátov a s použitím literatúry (HENSEYL *et al.*, 1994; ANDERSON *et al.*, 2001; CROSS *et al.*, 1986). Čisté kultúry boli udržiavané v zbierke na agarových pôdach pri 4 °C a použité priamo na inokuláciu kvapalných médií s prídavkom  $^{137}Cs$ .

### *Stanovenie bioakumulačnej aktivity izolátov za rastových podmienok*

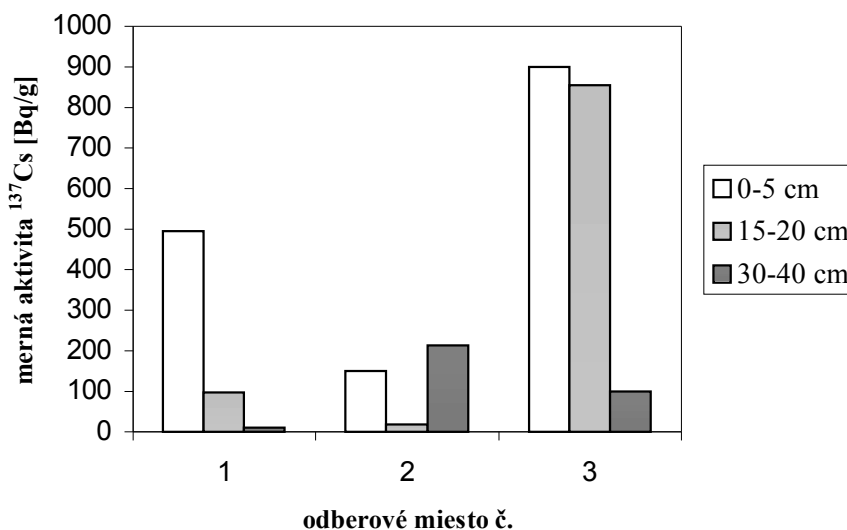
Pre stanovenie bioakumulačnej aktivity a hodnôt biokoncentračného faktora BCF sme použili čisté kultúry izolátov získaných nahromaďovacou kultiváciou na špecifických tuhých médiách. Rastové experimenty sa uskutočňovali pri 20 °C a aerácii na trepačke (120 min<sup>-1</sup>) v štandardných kvapalných kultivačných médiách Czapek-Dox (vláknité huby) a hovädzí extrakt-peptón-kvasničný extrakt-glukóza, NaCl (aktinomycéty) s prídavkom roztoku  $^{137}Cs$  (500 kBq/L). Biomasa zo suspenzie pri premývaní s 0,9 % NaCl sa zachytila na filtri s použitím vákua.

Rádiocézium  $^{137}\text{Cs}$  v 0,1 M HCl prakticky bez nosiča (1 kBq/ml) dodal VÚJE Trnava, a.s. Meranie kvapalných vzoriek a bunkových sedimentov sa robilo scintilačnou technikou s použitím prístroja Gamaspectrometer Scintillation Detector 54BP54/2-X so studňovým kryštálom NaI(Tl) firmy Scionix, Holandsko. K výpočtu aktivity a identifikácii píkov sa použil vyhodnocovací program Scinti-Vison 32, firmy Ortec, USA.

## Výsledky a diskusia

### Charakterizácia rozloženia rádioaktivity v kontaminovanej pôde

Pre odber vzoriek na mikrobiologické hodnotenie pôdy sa vybrali tri lokality líšiace sa v stupňom kontaminácie publikovanej v roku 2001 (CHNAPKO *et* SLÁVIK, 2001). V našej práci v roku 2003 sme zistili, že merná rádioaktivita v odberovom mieste 1 a 3 bola najvyššia v povrchových vrstvách, avšak merateľná aj vo vrstve 30–40 cm pod povrchom (Obr. 1). Vertikálne rozdelenie rádioaktivity zeminy z odberového miesta 2 bolo atypické. Podľa overených informácií v tomto mieste sa v minulosti uskutočnili výkopové práce, čím došlo k premiešaniu pôdy z rôznych hĺbok. Z hľadiska možného využitia bioremediačných postupov pre dekontamináciu tejto lokality však hĺbku 15-20 cm treba považovať za deficientnú na kyslík a teda málo vhodnú pre rozvoj mikroorganizmov. Avšak ako zistil KRAJŇÁKOVÁ *et al.* (2003) rádiocézium nachádzajúce sa v zemine tejto lokality nie je extrahovateľné vodou ani roztokom solí a jeho biologická dostupnosť bude nízka.



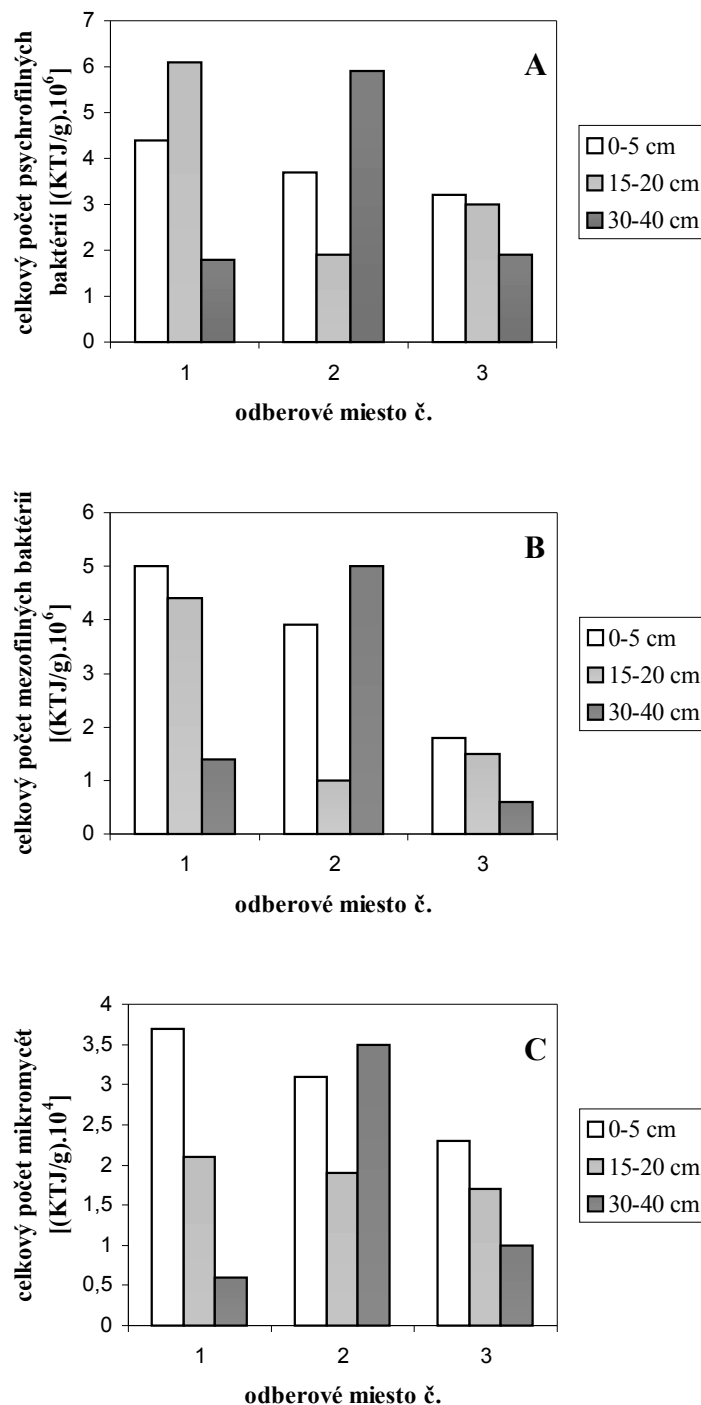
Obr. 1. Merná aktivita  $^{137}\text{Cs}$  (Bq/g) v rôznych hĺbkach kontaminovanej zeminy. Merná aktivita povrchovej vrstvy odberových miest v roku 2001 podľa práce CHNAPKO *et* SLÁVIK (2001).

1. - 77 Bq/g, 2. - 2 572 Bq/g, 3. - 2 861 Bq/g.

### Mikrobiálne osídlenie pôdy kontaminovanej rádiocéziom

Zistili sme, že v dlhodobo kontaminovanej študovanej pôde v horných vrstvách (0-5 cm) s najnižšou aktivitou 0,080 kBq/g sa nachádzajú baktérie v množstvách  $4,4 - 5 \cdot 10^6$  KTJ/g a mikromycét v množstvách  $3,7 \cdot 10^4$  KTJ/g (Obr. 2). Vo vzorkách s najvyššou rádioaktivitou pôdy 2,8 kBq/g sa zistili nižšie množstvá baktérií, avšak v rámci rovnakého poriadku ako v prípade zeminy s najnižšou kontamináciou, teda poriadku  $10^6$  KTJ/g. Rovnako nižší obsah mikromycét sa zistil v najviac kontaminovanej zemine, avšak taktiež v rozmedzí poriadku  $10^4$  KTJ/g. Zníženie je možné pripísať dlhodobému účinku ionizujúceho žiarenia na pôdnu mikroflóru. Avšak z hľadiska možnej účasti prítomnej pôdnej mikroflóry v kontaminovanej lokalite na procesoch bioakumulácie rádiocézia, alebo oxidoredukčných premenách rádionuklidov iných prvkov toto zníženie nebude hrať významnú úlohu. Po prídavku živín hnojením a aerácie kyprením pôdy sa vytvoria

vhodné podmienky pre rozmnožovanie autochtónnej populácie mikroorganizmov. I keď pri vývoji postupov bioremediácie pôdy kontaminovanej toxickými látkami možno pozorovať tendenciu pridávať do pôdy čisté kultúry vyrobené vo fermentačnom závode, v konkrétnom prípade pôdy s vysokým počtom mikroorganizmov sa tento postup nejaví ako vhodné riešenie.



Obr. 2. Celkový počet psychrofilných baktérií (A), mezofilných baktérií (B) a mikromycét (C) v rôznych hĺbkach kontaminovanej zeminy.

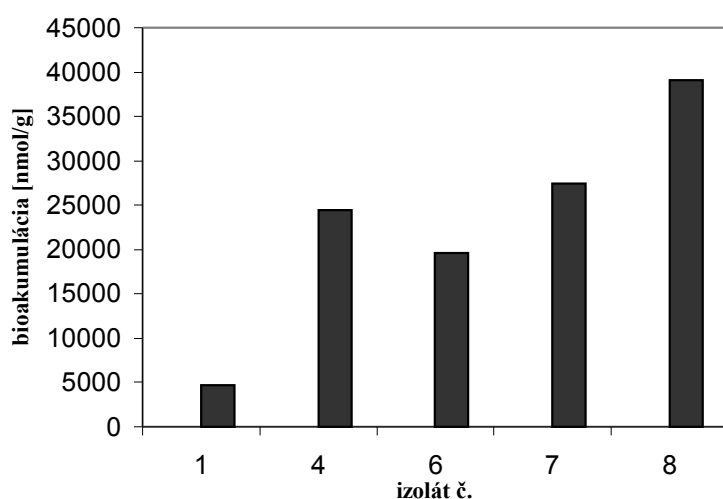
Merná aktivita povrchovej vrstvy zeminy v roku 2001 (CHNAPKO et SLÁVIK 2001): 1. - 77 Bq/g, 2. - 2 572 Bq/g, 3. - 2 861 Bq/g.

▪ **Bioakumulácia  $^{137}\text{Cs}$  čistými kultúrami za rastových podmienok**

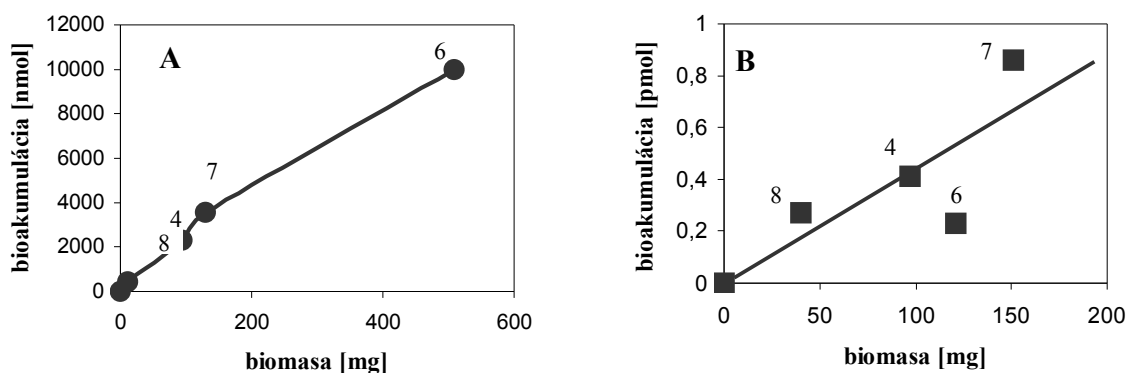
Bunky mikroorganizmov sa vyznačujú veľkým merným povrchom (povrch/objem) a celkovým záporným nábojom povrchu v neutrálnom prostredí, nakoľko karboxylové skupiny zložiek bunkovej steny sa nachádzajú v ionizovanej forme ( $-\text{COO}^-$ ). Bunky pôsobia teda ako vymieňače kationov a môžu reverzibilne viazať kationy kovov prítomných v médiu. Takto iónovo viazanej forme možno pripísať množstvo  $^{137}\text{Cs}^+$  nachádzajúce sa v biomase buniek inkubovaných v roztoku  $^{137}\text{Cs}^+$  po odstredení (odsatí) média. Toto cézium je ľahko odstrániteľné premývaním roztokmi solí (v našom prípade 0,9 % roztokom NaCl). Premývaním neodstrániteľný podiel treba považovať za  $^{137}\text{Cs}^+$  nachádzajúce sa v cytoplazme a možno ho solubilizovať rozrušením štruktúry bunky autolýzou (PIPIŠKA, ROZLOŽNÍK, AUGUSTÍN, 2003).

Množstvo  $^{137}\text{Cs}^+$  v bunkovej hmote vyrastenej v kvapalných médiách s prídavkom  $^{137}\text{Cs}^+$  a počiatkovej koncentrácii CsCl 6 mmol/L po dosiahnutí stacionárnej fázy rastu sa pohybovalo v rozmedzí 19,6 až 39  $\mu\text{mol/g}$  vlhkej hmotnosti mycélia testovaných izolovaných mikromycét rodu *Penicillium*. Aktinomycéta rodu *Streptomyces* vykazovala za identických podmienok najnižšiu schopnosť akumulácie  $^{137}\text{Cs}$  (4,7  $\mu\text{mol/g}$ ), (Tab. 1, Obr. 3).

Ako je zrejmé z údajov na Obr. 4, množstvo akumulovaného cézia po dosiahnutí maximálnej stacionárnej fázy rastu stúpalo s množstvom vyrastenej bunkovej hmoty vláknitých húb.



Obr. 3. Množstvo cézia akumulované biomasou aktinomycéty rodu *Streptomyces* (1) a mikromycét rodu *Penicillium* (4, 6, 7 a 8) za rastových podmienok po dosiahnutí maximálnej stacionárnej fázy rastu. Počiatková koncentrácia CsCl 6 mmol/L. Údaje nmol/g vlhkej hmoty počítané z rádioaktivity buniek premytých s 0,9 % roztokom NaCl.



Obr. 4. Závislosť bioakumulácie cézia bunkovou hmotou mikromycét rodu *Penicillium* ( , - izoláty č. 4, 6, 7 a 8) rozmnožujúcich sa v médiách v prítomnosti 500 kBq/L  $^{137}\text{Cs}$  na množstve vyrastenej biomasy (vlhká hm.). Stav po dosiahnutí maximálnej stacionárnej fázy rastu.

**A. koncentrácia CsCl - 6 mmol/L; B. koncentrácia CsCl – 1 nmol/L ( bez prídavku nosiča).**

Súčasťou projektu, v rámci ktorého bola riešená táto práca sa problém bioakumulácie riešil aj s využitím mikroorganizmov dlhodobo udržiavaných v zbierke mikroorganizmov. Ako zistil PIPÍŠKA *et al.* (2003) hodnoty BCF cézia pre zbierkové aktinomycéty, vlákňité huby a kvasinky boli v rozmedzí 4,8 – 24,0 (pre suchú hmotnosť biomasy), čo sú hodnoty temer identické s hodnotami zistenými pri práci s izolátmi z prírody zistenými v tejto práci (Tab. 1). Na možnosť získania kmeňov, vyznačujúcich sa vysokými hodnotami BCF cézia poukazujú práce AVERY (1995) a TOMIOKA *et al.* (1992). Avšak podľa nášho názoru, úspech v tomto smere si vyžiada rozsiahly skríningový program alebo využitie princípov molekulovej genetiky.

Tab. 1. Hodnoty biokoncentračného faktora BCF bioakumulácie cézia pôdnymi izolátmi mikromycét rodu *Penicillium* (izoláty č. 4, 6, 7 a 8) a aktinomycét (izolát č. 1).

Hodnoty po dosiahnutí maximálnej stacionárnej fázy rastu za aerácie pri 20 °C. Počiatočná koncentrácia Cs<sup>+</sup> 6 mmol/L.

Izolát č.	Rod	Bioakumulácia Cs <sup>+</sup> (μmol/g) <sup>a</sup>	BCF <sup>b</sup> (μmol/g)/(μmol/g)	BCF <sup>c</sup> (μmol/g)/(μmol/g)
1	<i>Streptomyces</i>	4,65	0,81	3,24
4	<i>Penicillium</i>	24,42	4,25	17,00
6	<i>Penicillium</i>	19,63	4,01	16,04
7	<i>Penicillium</i>	27,39	4,89	19,56
8	<i>Penicillium</i>	39,01	6,55	26,20

(a) Množstvo viazaného cézia v 1 g vlhkej bunkovej hmote

(b) Biokoncentračný faktor BCF =  $\frac{\mu\text{mol Cs/g (vlhkej hm.)}}{\mu\text{mol Cs/g kultivačného média}}$

(c) Biokoncentračný faktor BCF =  $\frac{\mu\text{mol Cs/g (suchej hm.)}}{\mu\text{mol Cs/g kultivačného média}}$

## Záver

V pôde dlhodobo kontaminovanej rádionuklidmi s hlavným podielom <sup>137</sup>Cs<sup>+</sup> 2,8 kBq/g, bol zistený počet rozmnožovania schopných psychrofilných a mezofilných baktérií v priemere 2-3 KTJ/g a signifikantne nižší ale v rámci rovnakého poriadku 10<sup>6</sup> KTJ/g vo vzorkách pôdy tej istej lokality s nízkym rádioaktívnym zamorením 0,080 kBq/g.

Nahromaďovacou kultiváciou boli z rádionuklidmi dlhodobo kontaminovaných vzoriek pôdy získané 3 izoláty čistých kultúr aktinomycét rodu *Streptomyces* a 5 izolátov čistých kultúr mikromycét rodu *Penicillium*, ktoré boli v ďalšej časti práce testované na schopnosť bioakumulácie <sup>137</sup>Cs<sup>+</sup>. Zistené hodnoty bioakumulácie <sup>137</sup>Cs<sup>+</sup> čistými kultúrami získaných izolátov z kvapalných médií za rastových podmienok boli v rozmedzí 19,6 až 39 μmol/g vlhkej hmotnosti. Podstatnú časť bioakumulovaného <sup>137</sup>Cs<sup>+</sup> nebolo možné odstrániť premývaním roztokom 0,9 % NaCl, z čoho vyplýva, že ide o Cs<sup>+</sup> inkorporované do subcelulárnych štruktúr bunky. Autochtónna populácia pôdných mikromycét sa teda môže podieľať na bioakumulácii biologicky dostupných foriem cézia v kontaminovanom prostredí, rovnako ako aktinomycéty, ktoré predstavujú jednu z dominantných skupín pôdných mikroorganizmov.

## Literatúra

ANDERSON, A. S., WELLINGTON, E. M.: The taxonomy of Streptomyces and related genera. Int. J.

- Evol. Microbiol., 51, 2001, p. 797-814.
- AVERY, S. V., CODD, G. A., GADD, G. M.: Caesium accumulation and interactions with other monovalent cations in the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803. J. Gen. Microbiol., 137, 1991, p. 405-413.
- AVERY, S. V., CODD, G. A., GADD, G. M.: Interactions of cyanobacteria and microalgae with caesium. In: Impact of heavy metals on the environment, Elsevier, Amsterdam, 1992a, p. 133-182.
- AVERY, S. V., CODD, G. A., GADD, G. M.: Replacement of cellular potassium by caesium in *Chlorella emersonii*: differential sensitivity of photoautotrophic and chemoautotrophic growth. J. Gen. Microbiol., 138, 1992b, p. 69-76.
- AVERY, S. V.: Caesium accumulation by microorganisms: uptake mechanisms, cation competition, compartmentalization and toxicity. J. Indust. Microbiol., 14, 1995, p. 76-84.
- CIUFFO, L. E. C., BELLI, A. P., MENEGON, S., VELASCO, H. R.:  $^{137}\text{Cs}$  and  $^{40}\text{K}$  soil-to-plant relationship in a seminatural grassland of the Giulia Alps, Italy. Sci. Total Environ., 295, 2002, p. 69-80.
- CROSS, T., MAKKAR, N. S.: Spore dome Streptomycetes. In Szabó G., Biró S. and Goodfellow M. (Eds.) Biological, Biochemical and Biomedical Aspects of Actinomycetes. Akadémia Kiadó, Budapest, 1986, p. 579.
- CHNAPKO, P., SLÁVIK, O.: Vyrad'ovanie JE A-1-I. etapa Jaslovské Bohunice, Predprojektová štúdia. Časť 1.5. Zamedzovanie splachovania kontaminovaných zemín z nespevnených plôch v okolí obj. 41, 44/10. Čiastka 1.5.1. Predprajektová príprava. p. 21 VÚJE a.s., Trnava, 2001.
- EISENBUD, M., GESELL, T.: Environmental radioactivity from natural, industrial and military sources, Academic Press, San Diego, 1997.
- GADD, G. M.: Influence of microorganisms on the environmental fate of radionuclides. Curr. Op. Biotechnology, 1996, p. 150-156.
- GADD, G. M.: Fungal production of citric and oxalic acid: importance in metal speciation, physiology and biogeochemical processes. Adv. Microbiol. Physiol., 41, 1999, p. 47-92.
- HAFEZ, N., ABDEL-RAZEK, A. S.: Accumulation of some heavy metals on *Aspergillus flavus*. J. Chem. Technol. Biotechnol., 68, 1997, p. 19-22.
- HENSYL, W. R. (Ed.): Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th edition, Williams and Wilkins, London, 1994, p. 789.
- KAPOOR, A., VIRARAGHAVAN, T.: Fungal biosorption – an alternative treatment option for heavy metal bearing wastewaters: a review. Bioresource Technol., 53, 1995, p. 195-206.
- KOMÁREK, L.(Ed.): Návrh jednotných mikrobiologických vyšetrení pôdy, tekutých a tuhých materiálov. Acta hygien., epidemiol. mikrobiol. Príloha č. 15/1990, p. 1-15
- KRAJŇÁKOVÁ, M., JAKUBÍK, J., VARGA, R., LESNÝ, J.: Sekvenčná extrakcia rádiocézia z kontaminovaných pôdnych matric. Tento zborník (v tlači).
- PIPIŠKA, M., ROZLOŽNÍK, M., AUGUSTÍN, J.: Bioakumulácia  $^{137}\text{Cs}$  zbierkovými kultúrami baktérií a húb. Tento zborník (v tlači).
- SAYER, J. A., GADD, G. M.: Solubilization and transformation of insoluble inorganic metal compounds to insoluble metal oxalates by *Aspergillus niger*. Mycol. Res., 101, 1997, p. 653-661.
- SAYER, J. A., COTTER-HOWELLS, J. D., WATSON, C., HILLIER, S., GADD, G. M.: Lead mineral transformation by fungi. Curr. Biol., 9, 1999, p. 691-694.
- TOBIN, J. M., WHITE, C., GADD, G. M.: Metal accumulation by fungi: applications in environmental biotechnology. J. Ind. Microbiol., 13, 1994, p. 126-130.
- TOMIOKA, N., UCHYAMA, H., YAGI, O.: Isolation and characterization of cesium-accumulating bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 1992, p. 1019-1023.