

## INTERACȚIUNEA MICROORGANISMELOR CU RADIONUCLIZII

*Liuba COREȚCHI, Irina PLĂVAN,*  
Centrul Național de Sănătate Publică

### Summary

#### *The interaction of microorganisms with radionuclides*

*The paper presents a bibliographic analysis of the recent results study of environmental pollution by radioactive substances, their influence on human health and their bioremediation technologies. Most radioactive wastes are generated by nuclear power plants, which contribution constitutes 95% of all sources that generates radioactive pollution. Even a low concentration of radionuclides can have a negative impact on human health and on the environment for a long time. It is presented the key role of microorganisms introduced in biogeochemical cycles and their ability in maintaining the quality of the environment by their enormous physiological variety and huge potential to catabolic degradation of many organic molecules such as radioactive compounds, due to the adaptability to different environmental conditions.*

**Keywords:** *microorganisms, radioactive substances, human health*

### Резюме

#### *Взаимодействие микроорганизмов с радионуклидами*

*В работе представлены последние результаты изучения загрязнения окружающей среды радиоактивными веществами, их влияние на здоровье человека и технологий их биоремедиации. Самое большое количество радиоактивных отходов образуется на АЭС, вклад которых составляет 95% всех генерируемых источников радиоактивности. Даже низкие концентрации радионуклидов может иметь негативное воздействие на здоровье человека и окружающую среду в течение длительного времени. Показана ключевая роль микроорганизмов, введенных в биогеохимические циклы для обеспечения постоянного качества среды, благодаря огромному разнообразию физиологической и огромному потенциалу для катаболической деградации многих органических молекул, таких как радиоактивные соединения, в связи с их приспособляемостью к различным условиям окружающей среды.*

**Ключевые слова:** *микроорганизмы, радиоактивные вещества, здоровье человека*

### Introducere

Studierea radioactivității mediului reprezintă o preocupare majoră în monitorizarea sănătății umane și a mediului. De exemplu, accidentul nuclear de la Cernobîl (1986) și dezastrul nuclear de la Fukushima Daiichi (2011) au provocat poluarea mediului: o can-

titate mare de deșeuri radioactive a fost dispersată în mediul ambiant, provocând expunerea populației cu dereglări grave ale sănătății. Bioremedierea este considerată o alternativă ecologică pentru înlăturarea consecințelor dezastrelor distructive pentru mediu. Microorganismele posedă proprietăți genetice, biochimice și fiziologice endogene, ideale pentru remedierea agenților poluanți din sol și din apele subterane. Au fost încercări de a dezvolta microorganisme native cu ajutorul ingineriei genice pentru remedierea poluanților din mediu, inclusiv a radionuclizilor. Bioremedierea, mediată de către microorganisme, are efect asupra solubilității, biodisponibilității și mobilității radionuclizilor [12].

Generarea energiei nucleare, precum și unele cercetări din medicină care implică radiațiile ionizante deseori se soldează cu producerea de compuși organici radioactivi, ce conțin metale grele. Acești produși, formați în rezultatul activităților industriei nonnucleare, sunt recalcitranti și reprezintă un risc semnificativ pentru mediul ambiant. De aceea, este strict necesară elaborarea diverselor biotehnologii de tratare a deșeurilor organice radioactive, cu scopul de a le transforma într-o formă mai puțin periculoasă. Tehnologiile actuale prezintă tratamente fizice și chimice, în rezultatul cărora se formează deșeuri de ordin secundar, care, de asemenea, necesită un tratament înainte de a fi eliberate în mediul înconjurător [23].

### Rezultate și discuții

Cele mai multe deșeuri radioactive sunt generate de centralele nucleare, contribuția cărora constituie 95% din ponderea radioactivității generate a tuturor surselor [1; 59]. Conform acestor autori, radionuclizii specifici din bazinele acvatice, care rezultă din surse naturale și artificiale, includ  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{90}\text{Sr}$ ,  $^{129}\text{I}$ , de  $^{131}\text{I}$ ,  $^{137}\text{Cs}$ ,  $^{222}\text{Rn}$ ,  $^{226}\text{Ra}$ ,  $^{235}\text{U}$ ,  $^{238}\text{U}$ ,  $^{239}\text{Pu}$  și  $^{241}\text{Am}$ . Cea mai mare contribuție la expunerea totală de radiații este radiația de fond natural, care oferă o doză medie de aproximativ 2,6 mSv/an pentru toate viețuitoarele bazinelor. Precipitațiile radioactive globale, rezultate în urma testării atmosferice a armelor nucleare efectuate în anul 1963, au contribuit la cea mai mare scurgere a compușilor radioactivi în lacuri, datorită factorului antropic.

Un impact tot mai mare îl are radioactivitatea generată de diverse componente ale ciclului combustibilului nuclear. În ciuda reglementărilor stricte privind proiectarea și exploatarea instalațiilor nucleare, există un potențial mare pentru un accident grav, ca urmare a stocurilor mari de radionuclizi conținuți în miezurile reactoarelor. Implicit acestea pot avea o incidență negativă asupra sănătății populațiilor, având capacitatea să provoace diferite tipuri de cancer nonfatal sau ponderat fatal și defecte ereditare.

Chiar și o concentrație mică de radionuclizi poate avea un impact negativ atât asupra sănătății populației, cât și asupra mediului pentru o perioadă de timp îndelungată. Ca urmare, impactul negativ al poluanților radioactivi crește cu timpul. Cei mai frecvenți radionuclizi întâlniți sunt: cobaltul-60 ( $^{60}\text{Co}$ ), plutoniul-239 ( $^{239}\text{Pu}$ ), radiul-226 ( $^{226}\text{Ra}$ ), radonul-222 ( $^{222}\text{Rn}$ ), tehneciul-99 ( $^{99}\text{Tc}$ ), toriul-232 ( $^{232}\text{Th}$ ) și uraniul-238 ( $^{238}\text{U}$ ). Radionuclizii tipici, produși în reactoare nucleare prin dezintegrarea atomilor, sunt: taliul-201 ( $^{201}\text{Tl}$ ), iridiumul-192 ( $^{192}\text{Ir}$ ), cesiul-137 ( $^{137}\text{Cs}$ ) și stronțiul-90 ( $^{90}\text{Sr}$ ) – cu o perioadă de dezintegrare mai mare.

Expunerea la radionuclizi sau radiații provoacă efecte acute de disconfort, care încep cu greață, vărsături și dureri de cap. La o expunere prelungită, o persoană poate prezenta oboseală, slăbiciune, febră, cădere a părului, amețeli, dezorientare, diaree, sânge în scaun, scăderea tensiunii arteriale, șoc, în cele din urmă survenind decesul. Fetusii sunt deosebit de vulnerabili la efectele radiațiilor ionizante la nivel celular, care pot duce la declanșarea malformațiilor congenitale de genurile: cap mai mic, ochi slab formați, creștere anormală și retard mintal [47]. Studiile efectuate au demonstrat că expunerea cronică la radiații ionizante contribuie la un risc crescut de leucemie, leucopenie, leziuni renale și malformații genetice, care pot fi transmise următoarelor generații [44].

Industria nucleară nu a prezentat o soluție favorabilă pentru distrugerea sau îndepărtarea acestor compuși radioactivi. În acest scop biodegradarea, care reprezintă descompunerea sau îndepărtarea compușilor radioactivi prin mineralizarea lor, este bine-venită. A fost demonstrat că tratamentul biologic al deșeurilor radioactive este o alternativă ecologică pentru tratamentul fizic sau chimic, deoarece nu se produc deșeuri de ordin secundar [58]. Acest studiu a fost efectuat pentru a investiga posibilitatea de a aplica biodegradarea microbială ca o tehnologie de tratare a deșeurilor radioactive și solvenților organici (deșeuri mixte). Astfel, savanții și-au concentrat eforturile pe tratarea deșeurilor generate de cercetarea biomedicală, în rezultatul metodei de purificare prin cromatografie lichidă de înaltă performanță (HPLC). Aceste deșeuri sunt compuse, de obicei, din 80% de apă și 20% de acetonitril sau metanol, sau dintr-un amestec din ambele componente sus-numite. Obiectivul studiului a fost determinarea potențialului de utilizare a biodegradării pentru tratarea deșeurilor mixte la o concentrație sub nivelul-standard (1 mg/l de acetonitril). Când valorile ating nivelul-standard, deșeurile radioactive nu mai sunt clasificate ca deșeuri mixte și pot fi apoi solidificate și plasate într-un depozit sigur. Această investigație s-a axat pe tratarea

soluției de acetonitril de 10%, care a fost folosită ca o probă nonradioactivă, într-un bioreactor. Rezultatele au demonstrat că procesul de biodegradare poate diminua radioactivitatea acestei soluții mai puțin de 1 mg/l, care este nivelul de restricție standard.

Phumza V. Tikilili și Evans M. N. (2009) au efectuat cercetări în domeniul biodegradării. În acest studiu au fost colectate deșeuri radioactive de la o fabrică din Cape Town, ce produce radioizotopi cu radioactivitatea de 0,677 Bq. În probele investigate s-au detectat 16 tipuri de compuși organici radioactivi, rata concentrației acestora variind între 0,001 și 25 mg/l. Rezultatele finale au demonstrat că, într-un interval de 15 ore de incubare, a avut loc biodegradarea totală a substanțelor radioactive [52].

Cercetări ale solurilor poluate din Fukushima, cu utilizarea bacteriei fotosintetice *Rhodobacter sphaeroides* SSI, imobilizată în picături algale, au fost efectuate de către Sasaki K. și Morikawa H. (2012). Solul poluat a fost umectat cu această soluție (la 5 kg de sol/10 l de soluție ce conținea alge). Radioactivitatea compoziției a scăzut cu 31% după 15 zile de tratament aerob, ceea ce înseamnă că materia organică radioactivă a fost descompusă prin digestie anaerobică și fermentație acido-lactică. Astfel, atât utilizarea combinată a tratamentului de digestie anaerobă și fermentație acido-lactică, cât și a tratamentului aerob adițional a dus la o diminuare a radioactivității cu 66% (3,52 μSv/h), în comparație cu cea inițială (10,56 μSv/h). Acest fapt demonstrează posibilitatea micșorării radioactivității prin intermediul tratamentului cu microorganisme [56].

De obicei, radionuclizii și metalele toxice se găsesc în soluri și deșeuri sub diverse forme: atât ca elemente, oxizi, coprecipitate, minerale naturale, complexe cu carbon, cât și sub formă de compuși organici solubili și insolubili. Aceste metale toxice nu pot fi distruse, ci pot fi doar transformate în alte forme sau pot fi îndepărtate. Microorganismele catalizează oxidoreducerea elementelor, având capacitatea de a bioacumula metale și radionuclizi și de a biodegrada compușii radionuclizilor. În acest studiu au fost folosite mostre de sol contaminat cu uraniu din Fernald, Ohio (SUA). În urma tratării solului cu bacteria *Clostridium* spp., s-a observat o stabilitate a uraniului în sol. Acest biotratament poate fi aplicat cu scopul de a forma o variantă stabilă, mai ușor degradabilă, a radionuclizilor și a metalelor toxice. Transformarea radionuclizilor și a metalelor toxice în forme mai stabile permite prelucrarea chimică a solului la suprafață sau în adâncime, în urma transformărilor geologice. Stabilitatea uraniului și a metalelor grele în deșeuri este obținută prin exploatarea capacităților metabolice unice ale bacteriei *Clostridium* spp. Radionuclizii sunt solubilizați de către această

bacterie direct, prin dizolvare enzimatic-reductivă, sau indirect, prin producerea metaboliților organici și acizi [16].

Microorganismele joacă un rol important nu numai în ciclurile biogeochimice, ci și în menținerea calității mediului ambiant. De fapt, culturile dispun de o enormă varietate fiziologică și de un potențial catabolic imens în vederea degradării atât a numeroaselor molecule organice, cât și a compușilor radioactivi, datorită adaptabilității lor la diferite condiții de mediu. Cercetări similare au fost efectuate de către savanții Hassan Brim și colab. în anul 2003. Ei au studiat capacitatea bacteriei *Deinococcus geothermalis* de a reduce sau de a degrada deșeurile radioactive la temperaturi înalte. În acest experiment au fost cercetate deșeurile contaminate cu Cr (VI) și U (VI). Astfel, cultura *Deinococcus geothermalis* a fost incubată la 40°C pe substratul Emben-Meyerhof-Parnas, în absența aminoacizilor esențiali. A fost demonstrată capacitatea acestei culturi de a crește pe mediu iradiat cu substanțe radioactive: crom și uraniu. De aici rezultă că *D. geothermalis* posedă un metabolism substanțial în ceea ce privește reducerea deșeurilor radioactive [21].

A fost relevată și capacitatea de biodegradare a microorganismului *Deinococcus radiodurans*. Astfel, această tulpină a fost testată la precipitarea sau degradarea compușilor poluați cu uraniu. Cercetările au constatat în reconstrucția tulpinii *Deinococcus radiodurans* R1, prin introducerea în genomul ei a unei gene *phoN*, ce poate codifica o fosfatază acidă, nonspecifică, extrasă din genomul microbului *Salmonella enterica* serovar Typhi. În calitate de vector pentru producerea multiplelor copii de gene *phoN* a servit bacteria *E. coli*. Multiplele clone de *Deinococcus* au fost iradiate utilizând diferite doze de gama iradiere cu  $^{60}\text{Co}$ , activitatea variind de la 1 până la 6 kGy, în prezența precipitatului de uraniu, din diluția de uranil nitrat. În aceste condiții, *Deinococcus phoN* a fost capabilă de a precipita, timp de 6 ore, uraniul din soluția de uranil nitrat în proporție de 90%. În urma acestui studiu s-a dovedit că tulpina recombinată de *Deinococcus phoN* are capacitatea de a bioprecipita uraniul din deșeurile radioactive. Radiorezistența acestui microorganism oferă o metodă efectivă și ecologică de recuperare a uraniului și a metalelor grele din deșeurile contaminate radioactiv [10].

Pentru elucidarea mecanismului de bioreducere a uraniului (VI) de către microorganisme a fost investigată o comunitate de microorganisme din genurile *Geobacter*, *Tolomonas*, *Clostridium*, *Arthrobacter*, *Dechloromonas* și *Pseudomonas* pe medii contaminate cu radionuclizi și nitrați, suplimentate cu etanol și glucoză, compuși folosiți ca donori

suplimentari de electroni în procesul de reducere a metalelor grele.

Studiul a fost efectuat la Centrul de Cercetare Oak Ridge Field, în Departamentul de Remediere a Mediului Ambiant, adiacent unui complex industrial de colectare și depozitare a deșeurilor radioactive. Pentru experiențele de laborator au fost colectate probe de sediment din fiecare secțiune, după care au fost omogenizate și depozitate, în condiții aseptice, în pungi pline cu  $\text{N}_2$ . Au fost construite microcosmosuri din 60 g de sediment omogenizat, încărcat radioactiv cu 10  $\mu\text{M}$  uraniu și nitrați cu concentrația de 15 mM.

Rezultatele au demonstrat că în probele lotului-martor activitatea microbiană nu s-a manifestat, însă s-a depistat că nitrații au fost reduși în probele tratate cu etanol și glucoză, începând cu ziua a doua, fiind complet degradați în ziua a patra și a șasea. În proba tratată cu etanol, compușii de uraniu și sulfatii au început să se degradeze în ziua a patra și au fost complet degradați până în ziua a douăsprezecea, iar în probele tratate cu glucoză compușii de uraniu nu au fost degradați complet nici până la sfârșitul tratamentului. Studiul în cauză a demonstrat că microorganismele au capacitatea de a degrada sau de a reduce substanțele radioactive. A mai fost stabilit faptul că în prezența etanolului și a glucozei, reducerea deșeurilor radioactive poate fi realizată cu succes [11].

Rezultate impunătoare în domeniul biomineralizării compușilor radioactivi de către microorganisme au fost obținute prin testarea bacteriei *Pseudomonas aeruginosa*. A fost biomineralizat uraniul dintr-o mină radiocontaminată. În rezultatul acestui studiu a fost determinată rezistența tulpinii *P. aeruginosa* la ionii grei de uraniu și natura chimică a interacțiunii bacteriei cu compușii de uraniu. Tulpina selectată a prezentat rezistență la uraniu și a realizat acumularea lui maximă de 275 mgU/la 1 g de biomasă bacteriană, pe parcursul a 6 ore.

Prin microscopia transmisiei de electroni și a difracției cu raze X s-a stabilit că uraniul a fost acumulat și depozitat în interiorul învelișului celular sub forma unui compus de uran-fosfat, ce realizează cristalizarea celulelor la pH-ul 4,0. De asemenea, a fost efectuată și analiza FTIR, care a evidențiat deprotonarea fosfatazei și facilitarea bioprecipitării uraniului în celulele tulpinii studiate. În baza acestor rezultate s-a dedus că bioprecipitarea uraniului nu are efect distructiv asupra microorganismului în cauză. S-a confirmat că această tulpină este capabilă de a acumula uraniul solubil în proporție de 99% și de a-l depozita în formă de oxid de uraniu și fosfat de uraniu în învelișul celular, în același timp menținându-și viabilitatea. Acest fapt joacă un rol important în bioremedierea uraniului în natură [7].

Cercetări asemănătoare au fost efectuate și în Rusia, prin studierea atât a florei microbiene din apele unui lac adiacent depozitului de deșeuri radioactive Toms-7 din Siberia (Rusia), cât și prin interacțiunile lor cu deșeurile de uraniu. În rezultatul acestor experimente au fost depistate trei tulpini bacteriene din genul *Microbacterium*. Două dintre aceste tulpini sunt aproape identice în ceea ce privește secvența de 16S ARNr, iar cea de-a treia posedă secvența de 16S ARNr, identică cu celelalte două în proporție de 99,8%. Cele trei tulpini posedă toleranță față de metalele grele – uraniu, plumb, cupru, argint și crom, dar s-au comportat diferit conform toleranței față de nichel și cadmiu. Celulele celor trei tulpini studiate au acumulat mari cantități de uraniu (până la 240 mg de uraniu la 1 g de biomasă uscată). Astfel, studiul în cauză demonstrează că microorganismele sunt capabile de a bioprecipita substanțele radioactive [46].

Au mai fost cercetate și proprietățile de biodegradare a compușilor radioactivi ale *Kineococcus radiotolerans*. Microorganismul în cauză reprezintă o bacterie aerobă, de culoare portocalie și aparține filumului *Actinobacteria*, cu capacități enorme de supraviețuire la concentrații înalte de radiații. Astfel, *K. radiotolerans* a fost izolată din zona Savannah River Site, caracterizată prin radioactivitate înaltă. În laborator, cultura a fost menținută și crescută pe un mediu suplimentat cu glucoză, extract de drojdie și agar, la temperatura 28°C, agitată la 150 rpm.

Pentru a observa particularitățile fiziologice ale acestei tulpini vizând rezistența la radiații ionizante, a fost secvențiat genomul, sugerând existența a trei repliconi, iar hibridizarea *Southern blott* a confirmat liniaritatea cromozomului. S-a stabilit ca *K. radiotolerans* are în genom o boxă unică, care îi conferă rezistență la radiațiile ionizante. În acest experiment, cultura a fost iradiată cu raze *gamma*, care, în general, cauzează distrugerea ADN-ului, prin penetrarea directă a membranei celulare și a țesuturilor interioare. În acest caz, distrugerea ADN-ului a fost reparată instant de către boxa reglatoare din genomul bacteriei. Pentru a-i studia proprietatea de degradare, tulpina a fost cultivată pe substraturi cu mai mulți poluanți prioritari: benzen, toluen, hidrocarburi polinucleare aromatice, cetone, fenoli. Dintre toți poluanții doar câțiva compuși au fost degradați, fiind folosiți ca surse de carbon oxalații și formații [8].

Deșeurile radioactive stabile pot fi transformate în compuși mobili prin activitatea metabolică a microorganismelor. Studiarea nămolurilor radioactive din două mine de uraniu din Canada, Rio Algom (Elliot Lake, Ontario) și Amok (Cluff Lake, Saskatchewan), contaminate cu  $\text{BaSO}_4$  și  $\text{RaSO}_4$  din cele două mine de uraniu, arată că la adăugarea de substraturi exogene de carbon, activitatea microbiană crește,

astfel biodegradând sulfații de radium și bariu, cu eliberarea cantităților substanțiale de particule de  $^{226}\text{Ra}^{2+}$ . Populațiile microbiene din aceste nămoluri contaminate includ numeroase bacterii aerobe, anaerobe și bacterii denitrificatoare. Prin suplimentarea mediului de creștere a florei microbiene cu sursa de carbon, în condiții anaerobe, ionii  $\text{SO}_4^{2-}$  au fost reduși până la  $\text{S}^{2-}$  cu o eliberare concomitentă de  $^{226}\text{Ra}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$  și  $\text{Ca}^{2+}$ . Nivelul de radium dizolvat a constituit circa 400 Bq/l după 10 săptămâni de incubare. Această eliberare nu a fost dependentă de adaosul de surse exogene de N și P [51].

**Microorganismele: o încercare de eliminare a radionuclizilor.** Bioremedierea solului și a sedimentelor din apă contaminate cu radionuclizi se poate realiza prin schimbări codificate biologic în starea de oxidare. Modificările în speciație, precum detoxifierea mercurului prin metilare [ $\text{Hg}(\text{CH}_3)_2$ ], pot afecta solubilitatea, proprietățile de transportare și toxicitatea radionuclizilor [65]. Strategiile de bioremediere a radionuclizilor depind de capacitățile microorganismelor de metabolizare activă. Radionuclizii pot fi solubilizați prin reducere enzimatică directă sau indirectă, prin oxidoreducere, modificarea pH-ului și Eh (activitatea electronilor), bioabsorpția per masă, biodegradarea complexurilor radionuclid-organice sau bioabsorpția per biomasă [22; 32]. În timpul biotransformării radionuclizilor, activitatea microbiană este mult influențată de donorii și acceptorii de electroni, de nutrienți și de factorii de mediu.

**Reducerea enzimatică directă a radionuclizilor.** Formele oxidate ale radionuclizilor sunt foarte solubile în mediu apos, ceea ce le face mobile în apele subterane, în timp ce formele reduse sunt foarte insolubile și adesea formează precipitate în soluție. A fost raportată reducerea enzimatică a U (VI) pe suprafața microorganismului *Shewanella putrefaciens*. Un citocrom de tip *c* cu masa de 9.6 kDa, necesar pentru reducerea U (VI), a fost observat în periplasma acestui microorganism. Studiile au arătat că a avut loc o reducere *in vitro* a uraniului [66]. De asemenea, a fost observat că și citocromul *c3*, în stare purificată, extras din *Desulfovibrio vulgaris*, are capacități de reducere a U (VI) *in vitro*, utilizând U(VI)-reductaza, în asociere cu o hidrogenază, ca donor fiziologic de electroni [38]. Studiile *in vivo* au demonstrat că un omolog al lui *Desulfovibrio desulfuricans* (G20) a confirmat rolul citocromului *c3* în reducerea dependentă de hidrogen a U (VI). În mod similar, Lloyd et al. (2003) au identificat un citocrom omolog (PpcA), *c7*, ce aparține bacteriei reducătoare de Fe (III) – *Geobacter sulfurreducens*, care avea un rol important în reducerea *in vitro* a uraniului.

Un alt radionuclid,  $^{99}\text{Tc}$ , cu durată relativ lungă de viață (timpul de înjumătățire de  $2,13 \times 10^5$  ani),

care apare mai ales în deșeurile nucleare, a constituit un obiect de studiu în acest sens [59]. Ionii de Tc (VII) au capacități diminuate de legare în diferiți compuși și este dificil de îndepărtat din soluție prin metode chimice convenționale. Microorganismele cu capacități de reducere a metalelor pot reduce Tc (VII) și precipita radionuclizii într-un oxid cu o valență mai mică – Tc (IV). Cu toate acestea, reducerea enzimatică microbială directă a Tc (VII) a fost stabilită primar de către Lloyd J. R. și Macaskie L. E. (1996), folosind microorganismele *S. putrefaciens* și *Geobacter metallireducens* și fosforilarea [36]. Într-un alt studiu, spectroscopia cu raze Röntgen a constatat că Tc (IV) este forma finală oxidată și insolubilă după Tc (VII), care a fost redus de către *G. sulfurreducens* și *S. putrefaciens* [66].

Ulterior suportul biochimic de reducere a Tc (VII) a fost studiat în baza utilizării *Escherichia coli*. Studiile inițiale au demonstrat că culturile anaerobe de *E. coli* au realizat reducerea Tc (VII), soldându-se cu un precipitat redus de radionuclizi în interiorul celulei. Rezultatele obținute pe tipurile sălbatice și mutanți în transferul de electroni au fost utilizate pentru a construi un model de reducere a Tc (VII) cu ajutorul *E. coli*. Modelul demonstrează că trei componente majore ale format-hidrogenliazei catalizează transferul de electroni de la dihidrogen la Tc (VII). Cu toate acestea, potrivit acestui model, format-dehidrogenaza este necesară numai dacă formatul este folosit ca un donor de electroni pentru reducerea Tc (VII), în locul hidrogenului. Modelul a fost autentificat de o tulpină mutantă, incapabilă de a sintetiza toate cele trei componente ale hidrogenazei, pentru a reduce Tc (VII) atunci când hidrogenul sau formatul au fost utilizați ca donori de electroni [35].

Identificarea a trei componente ale format-hidrogenliazei și Tc (VII) – reductaza la *E. coli* – a deschis o nouă cale de testare a microorganismelor cu o capacitate naturală sporită de a reacționa împotriva Tc (VII).

O serie de alte organisme sunt cunoscute de a avea o activitate înaltă a format-hidrogenliazei. *Desulfovibrio desulfuricans* și alte organisme înrudite utilizează formatul ca donor de electroni, eficient pentru reducerea Tc (VII) [34]. Aceste studii au fost confirmate și de rolul proteinei periplasmice Ni-Fe hidrogenază în reducerea Tc (VII) de o rudă din subclasa N – *Desulfovibrio fructosovorans* [9].

Studiile ulterioare asupra dezvoltării unui bioprocedeu pentru decontaminarea apei poluate cu Tc (VII) s-au axat pe utilizarea celulelor imobilizate ale bacteriei *D. desulfuricans* reducătoare de sulfat, care este rezistentă la concentrații scăzute de Tc (VII) în prezența unei concentrații mari de ioni de nitrați, frecvent găsit în deșeurile nucleare [34]. Autorii Fuji-

moto și Morita (2006) au raportat o nouă tulpină de *Halomonas* (Tc-202), izolată dintr-un mediu marin, care, în condiții aerobe, a fost capabilă să îndepărteze Tc (VII) din fazele solidă și lichidă ale materialului studiat. Totuși, U și Tc rămân cei mai periculoși radionuclizi în cele mai multe deșeuri radioactive de nivele scăzut și mediu, de asemenea și alte actinide, inclusiv Th, Np, Pu și Am, ce se conțin în deșeurile contaminate [33; 59].

Bacteriile reducătoare de fier, cum ar fi *Geobacter spp.* și *Rhodoferrax ferrireducens*, au potențial de reducere metabolică pe cale enzimatică a radionuclizilor [30]. Aceste constatări sunt semnificative, deoarece majoritatea actinidelor tetravalente sunt supuse bioremedierii, datorită abilităților lor ridicate de legare cu diferiți compuși organici, și pot fi imobilizate în sedimente ce conțin biomasă activă [50].

Deși este posibil ca bacteriile reducătoare de Fe (III) să reducă și să precipiteze actinidele într-un singur pas (de exemplu, U (VI) solubil în U (IV) insolubil), puține studii susțin formarea directă a unei etape mineral-insolubile, rar se indică formarea unui cation predispus la bioprecipitare [33].

**Reducerea enzimatică indirectă a radionuclizilor.** Bioreducerea enzimatică a radionuclizilor poate fi declanșată și prin reducerea indirectă a contaminanților solubili, răspândiți în medii sedimentare și subterane, de microorganismele reducătoare de sulfați și metale. Unul dintre mecanismele care explică acest fenomen ar fi cuplarea compușilor organici în rezultatul reducerii fierului Fe (III) sau sulfului S (IV) sub formă de sulfat. Fierul Fe (III) poate fi bioredux în Fe (II) și, respectiv, S (VI) în S (II) (hidrogen sulfurat, H<sub>2</sub>S). Produsul poate fi redus chimic în continuare, pentru a obține compuși insolubili separați sau multicomponenți [63].

Formele reduse ale acestor metale sunt insolubile și se pot precipita ca oxizi reduși sau ca minerale hidroxide. În mod similar, bacteriile ce reduc sulfații pot fi stimulate pentru a produce hidrogen sulfurat. Unele microorganisme, de exemplu *Microbacterium flavescens*, se pot dezvolta în prezența radionuclizilor U, Th, Pu, producând acizi organici și metaboliții extracelulari, capabili să dizolve și să mobilizeze radionuclizii din sol. Acești compuși pot contribui și la transportarea radionuclizilor în celule [27]. Reducerea enzimatică directă și mobilizarea indirectă a radionuclizilor de microorganismele reducătoare de metale au loc prin captarea electronilor derivați din compușii organici (lactat sau acetat).

Radionuclizii Pu (IV), Th (IV), U (VI) și Fe (III) prezintă similitudini chimice și biochimice în ceea ce privește mecanismul de reducere al microorganismelor. Autorul Premuzic E. T. și col. (1985) au raportat prezența agenților chelatici extracelulari în celulele

*Pseudomonas aeruginosa*, care pot bioacumula uraniul. A fost demonstrat că dezvoltarea microbilor în prezența metalelor contribuie la formarea mai multor agenți de chelare, ce acumulează toriul și uraniul [53].

Savantul Brainard și col. (1992), în rezultatul cercetărilor, a solubilizat PuO<sub>2</sub> hidric, utilizând *Enterobacter siderophores*, desferrioxamina, carboxilatul amino-policarboxilat și liganzii cateholic. Totodată, s-a relevat că printre alte microorganisme testate, *Enterobacter siderophores* au fost extrem de eficiente în solubilizarea actinidelor, cum ar fi oxizii de plutoniu. Mai multe microorganisme testate au produs complexe extracelulare în prezența Pu și Th, contribuind la creșterea concentrației acestora în comparație cu lotul-martor [4].

Mobilitatea crescută a Pu și Th în sol rezultă din formarea complexelor de Pu și Th, neutre și încărcate negativ. În prezența metaboliților microbieni cunoscuți – liganzii sintetici (EDTA) și acidul citric, Pu (VI) și Th (IV) au fost reduși la Pu (IV) și Th (IV), respectiv, înainte de formarea complexului, sugerând că staturul valenței acesteia din urmă ar fi dominant în asociere cu complexe organice din sol [49].

**Bioabsorbția și bioacumularea.** Bioabsorbția reprezintă absorbția ionilor metalici cu sarcină pozitivă de membranele celulare, încărcate negativ. Absorbția metalelor de celulele intacte este realizată printr-o multitudine de mecanisme și interacțiuni care nu sunt încă pe deplin înțelese. Langley S. și Beveridge T. J. (1999) au descris rolul grupurilor carboxile în legarea cationilor metalici la catenele laterale ale lipopolizaharidelor (LPZ) și au concluzionat că metalul, cel mai probabil, a aderat la grupări fosforice în miezul lipidic – 'A' din LPZ, iar catenele laterale, încărcate negativ, afectează hidrofobia celulară a bacteriilor gramnegative [31].

A fost descrisă absorbția efectivă a radionuclidului U (VI) de o algă marină maro, *Cystoseira indica*, observându-se că pretratamentul algelor cu calciu ar putea spori absorbția eficientă a mai multor radionuclizi [29].

Mai multe microorganisme, inclusiv *Citrobacter freudii* și *Firmicutes*, au fost raportate ca bioabsorbânți de radionuclizi [20].

Absorbția de metale are un rol-cheie în interacțiunile microbilor cu radionuclizii. Precipitarea fosfatului de uranil de *Citrobacter* este inițiată de interacțiunea (electrostatică) cu grupările fosfat în LPZ. Această interacțiune oferă situsuri nucleare pentru legarea minerală și protejează o fosfatază de pe membrana exterioară [40].

Examinarea sorbției Pu (VI) de celule bacteriene în stare de repaus a demonstrat că interacțiunea cu aceste bacterii a cauzat schimbări în starea de

oxidare a Pu (V), datorită respirației endogene. Analiza EXAFS (absorbția extinsă a razelor Röntgen cu structură fină) a Pu, asociat cu celulele bacteriene, a arătat că Pu (VI) a fost legat în primul rând de grupările fosfat de pe suprafața celulei, iar eficiența bioabsorbției a fost în funcție de temperatură și ar putea avea loc în câteva ore. Acest proces este mult mai rapid decât bioreducerea directă. Cu toate acestea, solul contaminat cu radionuclizi este sărac, în mod normal, în concentrație de biomasă, din cauza toxicității mari a radionuclizilor. Prin urmare, numai bioabsorbția poate să nu fie suficientă pentru bioremedierea radionuclizilor, dar aceasta se poate realiza doar dacă conținutul de biomasă din sol este crescut. Pentru a îmbunătăți eficiența bioabsorbției, sunt utilizate strategii moderne – tehnologia ADN-ului recombinant și stimularea creșterii microbilor din solul contaminat, pentru a spori acțiunea de remediere a radionuclizilor [49].

**Biostimularea.** Biostimularea prin folosirea anumitor comunități de microorganisme este un alt mecanism de sporire a bioremedierii radionuclizilor. O metodă de remediere *in situ* a fost dezvoltată pentru a reduce biodisponibilitatea și pentru a preveni răspândirea în continuare a uraniului în apele subterane, prin promovarea activității organismelor reducătoare de sulfat și de fier [64]. În procesul de biostimulare, azotatul servește ca un acceptor de electroni cu energie favorabilă pentru bacteriile reducătoare de metale în sedimentele contaminate cu acid azotic [13].

O lipsă de reducere microbiană a U (VI) a fost raportată în cazul în care sedimentul este co-contaminat cu nitrați [15]. Sakadevan K. și Bavor H. J. (1999) au raportat că reducerea nitraților a fost inhibată de prezența mai multor metale grele. Prin urmare, s-a încercat rezolvarea acestei probleme prin tratamentul *ex situ* și eliminarea metalelor grele și a nitraților anteriori, pentru biostimularea *in situ* de a reduce U (VI) [55; 67].

La site-urile co-contaminate cu ioni metalici cu o toxicitate înaltă, rezistența microbiană a populațiilor microbiene endogene este critică, în scopul biostimulării *in situ*. A fost evidențiat un număr de microbi ce efectuează precipitarea reductivă a radionuclizilor (de exemplu, *Desulfovibrio spp.*, *Geobacter spp.* și *Shewanella spp.*), dar rezistența acestor organisme la metale grele nereductibile ar putea limita eventual activitatea lor *in situ*. Martinez et al. (2006) au raportat prezența genelor ce conferă rezistență la metalele grele în cadrul comunităților microbiene endogene din Centrul de Cercetare din Oak Ridge. În prezența metalelor grele, potențialul de biostimulare a fost îmbunătățit prin utilizarea etanolului, pentru bioreducerea nitraților, urmată de reducerea cu succes și

imobilizarea *in situ* a U (VI) [42; 25; 48]. Prin urmare, a fost recomandată adăugarea unei surse adecvate de carbon la site-uri co-contaminate, pentru a stimula bioreducerea radionuclizilor.

O altă metodă a fost elaborată pentru a bioremedia zone contaminate cu concentrații mari de uraniu la pH scăzut și concentrații mari de acid azotic [67]. Metoda se bazează pe creșterea pH-ului, cu adăugarea de carbon (etanol), pentru a stimula creșterea bacteriilor denitrificatoare și reducătoare de radionuclizi, folosind un sistem de recirculare hidraulic compus dintr-o buclă exterioară și una interioară. A mai fost dezvoltat și un sistem *ex-situ* pentru a preveni deconectarea sistemului de recirculare hidraulic cu azot, aluminiu, calciu precipitat și biomasă, datorită denitrificării. În timp de un an, în condiții optime, concentrațiile de U (VI) și nitrat au fost reduse până la 5  $\mu\text{m}$  și, respectiv, 0,5  $\mu\text{m}$ . După doi ani de condiționare, nivelul de U (VI) a fost redus până la 0,126  $\mu\text{m}$  – sub nivelul recomandat de Agenția de Protecție a Mediului. Aceste studii au sugerat că alternanța parametrilor geochimici și hidrologici pot să biostimuleze eficient activitatea bacteriilor reducătoare de radionuclizi *in situ*. Remedierea U (VI) cu concentrații mari de etanol, ca biostimulator, este o abordare alternativă, care poate reduce în mod eficient 87% din U (VI) [41].

**Biominerizarea radionuclizilor.** Microorganismele pot interacționa cu ioni metalici, imobilizându-le transformarea. Unele microorganisme generează biofilme, pentru a lega cantități semnificative de ioni metalici, care pot servi ca o platformă pentru precipitarea mineralelor insolubile. Microorganismul *Citrobacter spp.* prezintă capacitatea de producere a depozitelor de fosfat metalic pe cale enzimatică. Policristalinul  $\text{NaUO}_2\text{Po}_4$  este acumulat atât în interiorul, cât și în jurul peretelui celular al microorganismului *Citrobacter*, prin sorbția lui la LPZ și prin activitatea unei fosfataze acide de pe membrana exterioară. Biominerizarea este condiționată de două gradiente din membranele exterioare: un complex de intrare,  $\text{UO}_4$ , și unul de ieșire,  $\text{PO}_4$ , astfel rezultând îndepărtarea totală a U din soluție și legarea de 1 mg  $\text{NaUO}_2\text{Po}_4$  la 1 mg de masă celulară. Keasling J. D. și col. (2000) au pregătit o versiune recombinată a acestui mecanism prin clonarea genei care codifică polifosfat-kinaza în microorganismul *P. aeruginosa*, rezultată din precipitarea unui complex care conține atât fosfor, cât și uraniu pe suprafața celulei [28].

**Biominerizarea prin liganzi generați de microbi.** Chelații sunt prezenți în deșeuri, deoarece aceștia sunt utilizați pe scară largă pentru decontaminarea reactoarelor și a echipamentelor, în operațiunile de curățare și de separare a radionuclizilor. Câțiva compuși organici – acidul citric, acidul hidroxil-acetic,

acidul oxalic, acidul tartric, EDTA, acidul dietilentrifosfamic (DTPA), acidul nitrilotriacetic (NTA) și acidul N-triacetic hidroxiethylenediamin (HEDTA) – au fost folosiți pentru a forma complexe cu radionuclizii. Acești agenți chelatici metalici sunt supuși la biodegradare aerobă sau anaerobă și provoacă precipitarea ionilor, eliberați ca hidroxizi sau oxizi insolubili în apă, cauzând migrarea lor în apele subterane. Citratul a fost găsit ca un agent de chelare util în decontaminare, deoarece formează complecși metal-citrat cu solubilitate mare, care pot fi degradați de microorganisme. Complexe stabile – bidentat, tridentat și complexe polinucleare – pot fi formate cu citrați și radionuclizi. Francis A. J. (1998) a raportat că uraniul bidentat asociat cu acid citric a fost ușor biodegradabil, în timp ce tridentat a fost recalcitant [17; 18].

**Biotransformările anaerobă și aerobă a uranil-citratului.** Microorganismul *D. desulfuricans*, reducător de sulfați, și *Schwannella alga*, facultativ reducătoare de fier, au redus cu citrat compușii de U (VI) în U (IV) în condiții anaerobe, însă o cantitate mică de uraniu a fost precipitată [19]. În mod similar, *Clostridium spp.* (ATCC 53464) a metabolizat glucoza, dar nu și citratul, și a redus U (VI)-citrat în U (IV)-citrat numai în prezența glucozei. Un alt microorganism, *Clostridium sphenoides* (ATCC 19403), a redus Fe (III) în Fe (II) și concomitent a metabolizat acidul citric. Din contra, U (VI)-citrat a fost redus la U (IV)-citrat de această bacterie în prezența glucozei, ca donor de electroni, sau a acidului citric. Prin urmare, aceste rezultate indică faptul că complexul de uraniu cu acid citric este ușor disponibil pentru organisme ca acceptor de electroni, în pofida incapacității lor de a metaboliza liganzii organici ai radionuclizilor.

Unele organisme metabolizează acidul citric în condiții aerobe, folosind enzimele aconitaza și citrat-liaza. Cu toate acestea, citrat-liaza este responsabilă de metabolismul anaerob al acidului citric. Testarea capacității microorganismelor *Acinetobacter*, *Citrobacter* și *Pseudomonas*, extrase din deșeuri cu radioactivitate scăzută, conform metabolizării acidului citric într-un complex de uranil-citrat, a demonstrat că aceste culturi nu au realizat niciun complex stabil binuclear de uranil-citrat, deoarece complexul citrat de uranil nu a fost transportat în interiorul celulelor, după cum reiese din analiza cu  $^{14}\text{C}$ . Mai mult decât atât, un extract lipsit de celule a organismului testat a demonstrat că complexul binuclear U-citrat a fost complet degradat [17]. Francis A. J. și col. (2002) au testat speciația uraniului și a acidului citric în funcție de pH și au concluzionat că particulele de U-citrat au fost degradate rapid la valorile pH-ului peste 6,0, în timp ce acidul citric nu a fost biodegradat și nici transportat.

În mod similar, acidul citric poate forma complexe mixte cu un număr de metale, iar complexul format afectează biodegradarea și mobilitatea complexelor metal-citrat. De exemplu, biotransformarea complexului de Fe-U-citrat a fost recalitrantă. Când excesul de acid citric a fost adăugat în proporție de 1:1:2 la complexul de Fe – U-citrat, excesul de acid citric a fost complet degradat. Cu toate acestea, cu adăugarea cantității duble a acidului citric, (1:1:1), complexul Fe – U-acid citric rămâne în soluție după ce excesul de acid citric este biodegradat. Prin urmare, acest studiu a sugerat că complexe Fe – U-mixt-metalice de acid citric rezistă la biodegradare și pot persista în mediu, ceea ce denotă o limitare a tehnologiilor actuale și o provocare pentru bioremedierea mediată de microorganisme a radionuclizilor [14].

**Microorganisme modificate genetic.** Ingineria genetică (IG) și tehnologia ADN-ului recombinat au fost folosite la generarea microorganismelor cu caractere specifice pentru îndepărtarea eficientă a metalelor prin absorbție. Au fost generate diferite microorganisme modificate genetic, suprafața celulei bacteriene a cărora este echipată cu polipeptide ce leagă metalele la domenii de legare: metalotioninele [61], polipeptidele generate aleatoriu, polihistidinele și fitochelatinele sintetice [2]. Aceste proteine modificate genetic au realizat o creștere în legarea de metale. Metalotioninele, de asemenea, au fost testate în studiul microcosmosurilor [62]. La o altă tulpină recombinată de *E. coli* a sporit de cinci ori capacitatea de absorbție a U (VI) prin combinarea genei transporter *nixA* (*Helicobacter pylori*) și, respectiv, *merTP* (*Serratia marcescens*) [3]. Prin urmare, atât expresia ambelor proteine de transportare a metalelor, cât și peptidele de legare a metalelor pot spori capacitatea unei tulpini de a acumula ioni metalici.

Microorganismul *Deinococcus radiodurans* a fost studiat pentru capacitatea sa de a detoxifica Cr (VI), U (VI) și Tc (VII) din sol [26]. A fost modificată prin IG o tulpină de *D. radiodurans*, prin clonarea genei *merA* din *E. coli*, care oferă posibilitatea de a utiliza carbonul și energia din catabolismul toluenului și a mercurului (contaminanți radioactivi). Au fost înregistrate progrese în construirea tulpinii de *D. radiodurans* pentru remedierea radionuclizilor. Cu toate acestea, o strategie *in situ* de bioremediere rămâne a fi descoperită. Microorganismele *Deinococcus murrayi* și *Deinococcus geothermalis* au fost caracterizate ca termorezistente la o temperatură mai ridicată (55°C) și care prezintă rezistență înaltă împotriva iradierii cronice (50 Gy h<sup>-1</sup>) [21].

Un potențial majorat de reducere a activității radiațiilor ionizante a demonstrat și familia microbiiană *Geobacteriaceae* [37]. Gena *dcuB*, extrasă de la *G. sulfurreducens*, care codifică o proteină transportoare

de fumarat, a fost încorporată în *G. metallireducens*, cu scopul de a transforma fumaratul într-un acceptor de electroni [6]. Indubitabil, microbii genetic modificați relevă promisiuni considerabile, dar aplicarea lor *in situ*, cu scopul bioremedierii, necesită elaborarea unor metode sigure de îndepărtare a radionuclizilor din mediu.

**Conceptul genetic, implementat în bioremedierea radionuclizilor.** Genomul unui organism cuprinde un set întreg de informații ereditare, care este transformat în ARNm (transcriptomul) pentru translația proteinelor. Proteomica unui organism este întregul set de proteine, inclusiv enzimele, exprimate în organism în funcție de condițiile specifice de mediu. Pentru a identifica genele, proteinele și enzimele implicate în bioremedierea radionuclizilor, este important de a studia interacțiunile structurale și funcționale dintre proteine și alți metaboliți. Genele potențiale și proteinele implicate în metabolizarea radionuclizilor pot fi identificate și studiate prin tehnici avansate din genomică și proteomică [45; 57]. Descoperirile recente din genomică și proteomică permit expresarea unei proteine sau a unei enzime de interes în organisme rezistente la radionuclizi, cu scopul bioremedierii. Concomitent, analizarea transcriptomului genomic ne poate oferi o mai bună înțelegere a căilor metabolice și fiziologia microorganismelor.

Actualmente sunt disponibile secvențele genice ale mai multor microorganisme și pot fi utilizate pentru organizarea genomului, inclusiv comparațiile prin razele Röntgen [24]. Printre numeroasele studii ale genomului la nivel de gene și proteine, implicate în căile de reducere a radionuclizilor, Methe B. A. și colegii (2003) au raportat că *G. sulfurreducens* are mai mult de 100 de gene citocrom de tip *c*, care codifică regiuni din genomul propriu și multe dintre proteinele sale, ce sunt implicate în căile de reducere a radionuclizilor [43]. Analiza ADN mediată prin raze Röntgen a relevat 121 de gene în genomul microorganismului *Shewanella oneidensis* ce stimulează reducerea U (VI), în comparație cu reducerea Cr (VI), în cazul în care au fost relevate numai 83 de gene [3]. Într-un studiu genomic comparativ a fost observat că organismul *Thermococcus gammatolerans* este radiorezistent, în comparație cu *Archaea* spp. Ultimul expresează reductaza thioredoxin (*tgo180*), o proteină – glutaredoxin (*tg1302*), două peroxiredoxine (*tg1253* și *tg1220*), ceea ce a permis organismului să suporte stresul provocat de radionuclizi [68]. S-a constatat că expresia genei *NiCoT* în *Rhodospseudomonas palustris* CGA009 și *Novosphingobium aromaticivorans* F-199 a fost extrem de înaltă atunci când organismele au fost crescute în prezența cobaltului radioactiv [54].

Tehnologiile proteomice sunt foarte eficiente în studierea proteinelor implicate în bioremedierea radionuclizilor. Astfel, au fost identificate 552 de proteine reglatoare diferențiate, inclusiv un citocrom *bd* ubiquinol oxidaza, pe membrana microorganismului *D. geothermalis*, care sunt implicate în formarea radiorезistenței organismului. Multe dintre aceste proteine îndeplinesc funcții în grup, inclusiv transportarea nutrimentelor, producerea de energie, și biogeneza peretelui celular [60]. La o bacterie radiorezistentă, *D. radiodurans*, 2DE și MALDI-TOF MS, studiată detaliat, a fost stabilit că 31 de proteine, sensibile la radiații, au fost stimulate semnificativ, inclusiv RecA și PprA, care sunt cunoscute suficient pentru replicarea și repararea ADN-ului [39].

Studierea genelor specifice și a proteinelor codificate este esențială în vederea depistării mecanismelor implicate în bioremedierea radionuclizilor.

**Provocări.** În pofida progreselor din domeniul bioremedierii radionuclizilor folosind microorganismele, încă multe alte provocări își așteaptă rezolvarea. O preocupare de bază este optimizarea condițiilor și a procedurilor eficiente de bioremediere în prezența anionilor concurenți, metalelor toxice, compușilor organici și agenților de chelare. Un alt aspect de interes major este reoxidarea și remobilizarea radionuclizilor reduși prin intermediul metabolismului microbial și a mecanismelor abiotice. O atenție deosebită trebuie să fie acordată biostimulării *in situ*, în care diverși aditivi (microbi sau ingrediente chimice) sunt folosiți pentru a spori activitatea microbială, care pot fi și destructivi pentru microbiota naturală.

Mai există o problemă: de a spori activitatea metabolică prin menținerea condițiilor de creștere necesare – pH-ul, temperatura și nivelurile de contaminanți și de substanțe nutritive, inclusiv parametrii chimici diverși ai populațiilor microbiene selectate pentru bioremedierea *in situ*. În plus, este necesar de a se cunoaște natura eterogenă a contaminanților în locuri ce pot forma un flux neuniform de lichid sau gaz care conține microbi.

Având în vedere viteza lentă de atingere a unor niveluri acceptabile de decontaminare la diverse site-uri, este dificil de a prezice performanța de bioremediere efectuată de microorganismele. Microorganismele modificate genetic sunt folosite cu succes în bioremediere, dar eliminarea acestora nu este o sarcină ușoară. Imobilizarea directă a enzimelor pe materiale de suport ar putea fi utilă pentru bioremediere, dar sunt necesare optimizări adiționale ale substraturilor specifice.

Descoperirile recente din genomică, ca transcriptomica și proteomica, sunt domenii care pot revoluționa științele biologice. Un profil întreg de transcriere din genomul *E. coli* a dezvăluit deja stra-

tegiile potențiale pentru detoxificarea radionuclizilor [5]. Datorită disponibilității actuale a secvențelor complete ale genomului multor microorganismele radiorezistente, pot fi determinate mecanismele exacte, relevante interacțiunii radionuclid – microbi. Cu toate acestea, descoperirile din domeniul științelor naturii sunt într-un substadiu de dezvoltat și nu a fost încă demonstrată utilitatea lor în bioremedierea mediului. În viitor sunt necesare multe eforturi coordonate multidisciplinar, pentru a descifra procesul global prin care microorganismele degradează radionuclizii, precum și pentru punerea în aplicare a condițiilor în care radionuclizii sunt degradați cel mai eficient.

## Concluzii

1. Transformările microbiene ale radionuclizilor, metalelor grele și ale mineralelor sunt o parte vitală a proceselor naturale ale biosferei și pot avea consecințe benefice pentru comunitatea umană.

2. Interacțiunile dintre microorganismele și radionuclizi nu sunt simple, nefiind ușor înțeleasă gama largă de medii în care aceste componente interacționează.

## Bibliografie

- Ahier Brian A., Tracy Bliss L. *Radionuclides in the Great Lakes basin*. In: Environmental Health Perspectives Supplements, 1995, vol. 103, nr. 9, p. 89-101.
- Bae W. et al. *Enhanced bioaccumulation of heavy metals by bacterial cells displaying synthetic phytochelatin*. In: Biotechnol Bioeng, 2000, vol. 70, p. 518-524.
- Bencheikh-Latmani R. et al. *Global transcriptional profiling of Shewanella oneidensis MR-1 during Cr(VI) and U(VI) reduction*. In: Applied Environmental Microbiology, 2005, vol. 71, nr. 11, p. 7453-7460.
- Brainard J.R. et al. *Actinide binding and solubilization by microbial siderophores*. In: Radiochimica Acta, 1992, vol. 58, nr. 59, p. 357-363.
- Brocklehurst Kathryn R. et al. *Metal-ion tolerance in Escherichia coli: analysis of transcriptional profiles by gene-array technology*. In: Microbiology, 2000, vol. 146, nr. 9, p. 2277-2282.
- Butler J.E. et al. *Genetic characterization of a single bifunctional enzyme for fumarate reduction and succinate oxidation in Geobacter sulfurreducens and engineering of fumarate reduction in Geobacter metallireducens*. In: Journal of Bacteriology, 2006, vol. 188, p. 450-455.
- Choudhary S., Sar P. *Uranium biomineralization by a metal resistant Pseudomonas aeruginosa strain isolated from contaminated mine waste*. In: Journal of Hazardous Materials, 2011, vol. 186, nr. 1, p. 336-343.
- Cristopher E. et al. *Survival in nuclear waste, extreme resistance, and potential applications gleaned from the genome sequence of Kineococcus radiotolerans*. <http://www.plosone.org/> 2008, vol. 3, nr. 12, p. 3878.
- De Luca Gilles et al. *Desulfovibrio fructosovorans is mediated reduction of Technetium (VII) by the nickel-iron hydrogenase*. In: Applied Environmental Microbiology, 2001, vol. 67, nr. 10, p. 4583-4587.

10. Deepti Appukuttan et al. *Engineering of Deinococcus Radiodurans R1 for Bioprecipitation of Uranium from Dilute Nuclear Waste*. In: Applied Environmental Microbiology, 2006, vol. 72, nr. 12, p. 7873-7878.
11. Denise M. Akob et al. *Functional diversity and electron donor dependence of microbial populations capables of U (VI) reduction in radionuclide-contaminated subsurface sediments*. In: Applied Environmental Microbiology, 2008, vol. 74, nr. 10, p. 3159-3170.
12. Dhan Prakash et al. *Bioremediation: a genuine technology to remediate radionuclides from the environment*. In: Microbial Biotechnology, 2013, vol. 6, p. 349-360.
13. DiChristina Thomas J. *Effects of nitrate and nitrite on dissimilatory iron reduction by Shewanella putrefaciens 200*. In: Journal of Bacteriology, 1992, vol. 174, nr. 6, p. 1891-1896.
14. Dodge C. J. et al. *Association of uranium with iron oxides typically formed on corroding steel surfaces*. In: Environmental Science and Technology, 2002, vol. 36, nr. 16, p. 3504-3511.
15. Finneran K.T. *Multiple influences of nitrate on uranium solubility during bioremediation of uranium-contaminated subsurface sediments*. In: Environmental Microbiology, 2002, vol. 4, p. 510-516.
16. Francis A. J. *Bioremediation of uranium contaminated soils and wastes*. In: Department of Applied Science, Brookhaven National Laboratory, Upton, New York, 1973, USA.
17. Francis A. J. *Biotransformation of uranium and other actinides in radioactive wastes*. In: J. Alloys Comp., 1998, vol. 271, nr. 273, p. 78-84.
18. Francis A.J. et al. *Biotransformation of uranium and transition metal citrate complexes by Clostridia*. In: Journal Nuclear Science Technology, vol. 3, 2002, p. 935-938.
19. Ganesh Rajagopalan et al. *Reduction of hexavalent uranium from organic complexes by sulfate- and iron-reducing bacteria*. In: Applied and Environmental Microbiology, 1997, vol. 63, nr. 11, p. 4385-4391.
20. Haferburg G. et al. *Biosorption of metal and salt tolerant microbial isolates from a former uranium mining area. Their impact on changes in rare earth element patterns in acid mine drainage*. In: Journal of Basic Microbiology, 2007, vol. 47, p. 474-484.
21. Hassan Brim, Amudhan Venkateswaran, Heather M. Kostandarithes. *Engeneering Deinococcus geothermali for Bioremediation of High-Temperature Radioactive Waste*. In: Environment 10.1128/AEM., 2003, vol. 69, nr. 8, p. 4575-4582.
22. Hegazy A. K., Emam M. H. *Accumulation and soil-to-plant transfer of radionuclides in the Nile Delta Coastal Black Sand Habitats*. In: International Journal of Phytoremediation, 2011, vol. 13, nr. 2, p. 140-155.
23. International Atomic Energy Agency. *Predisposal Management of Organic Radioactive waste*. In: Technical Report Series No. 427, IAEA, Vienna, 2004.
24. Ishii N. et al. *Multiple high-throughput analyses monitor the response of E. coli to perturbations*. In: Science, 2007, vol. 316, nr. 5824, p. 593-597.
25. Istok J.D. *In situ bioreduction of technetium and uranium in a nitrate-contaminated aquifer*. In: Environmental Science Technology, 2004, vol. 38, nr. 2, p. 468-475.
26. James K. Fredrickson. *Geomicrobiology of high-level nuclear waste-contaminated vadose sediments at the Hanford Site, Washington State*. In: AEM, 2004, vol.70, nr. 7, p. 4230-4241.
27. John Seth G. et al. *Siderophore Mediated Plutonium Accumulation by Microbacterium flavescens (JG-9)*. In: Environmental Science and Technology, 2001, vol. 35, nr. 14, p. 2942-2948.
28. Keasling J. D. *Application of polyphosphate metabolism to environmental and biotechnological problems*. In: Biochemistry, 2000, vol. 65, nr. 3, p. 324-331.
29. Khani Mohammad Hassan. *Biosorption of uranium from aqueous solutions by nonliving biomass of marine algae Cystoseira indica*. In: Electronic Journal of Biotechnology, 2005, vol. 9, nr. 2.
30. Kim So-Jeong. *Molecular analysis of spatial variation of iron-reducing bacteria in riverine alluvial aquifers of the Mankyeong River*. In: Journal of Microbiology, 2012, vol. 50, nr. 2, p. 207-217.
31. Langley S., Beveridge T. J. *Effect of O-side-chain-lipopolysaccharide chemistry on metal binding*. In: Applied Environmental Microbiology, 1999, vol. 65, nr. 2, p. 489-498.
32. Law Gareth T. W. *Geomicrobiological redox cycling of the transuranic element neptunium*. In: Environmental Science & Technology, 2010, vol. 4, nr. 23, p. 8924-8929.
33. Lloyd J. R. et al. *Direct and Fe (II)-mediated reduction of technetium by Fe (III)-reducing bacteria*. In: Applied and Environmental Microbiology, 2000, <http://aem.asm.org>
34. Lloyd J. R. et al. *Reduction of technetium by Desulfovibrio desulfuricans: biocatalyst characterization and use in a flow through bioreactor*. In: Applied and Environmental Microbiology, 1999, vol. 65, nr. 6, p. 2691-2696.
35. Lloyd J. R., Cole J. A., Macaskie L. E. *Reduction and removal of heptavalent technetium from solution by Escherichia coli*. In: Journal of Bacteriology, 1997, vol. 179, nr. 6, p. 2014-2021.
36. Lloyd J. R., Macaskie L. E. *A novel Phosphor Imager-based technique for monitoring the microbial reduction of technetium*. In: Applied and Environmental Microbiology, 1996, vol. 62, nr. 2, p. 578-582.
37. Lloyd Jon R. et al. *Biochemical and genetic characterization of PpcA, a periplasmic c-type cytochrome in Geobacter sulfurreducens*. In: Biochemical Journal, 2003, vol. 369, nr. 1, p. 153-161.
38. Lovley D. R., Phillips E. J. *Reduction of chromate by Desulfovibrio vulgaris and its c(3) cytochrome*. In: Applied Environmental Microbiology, 1994, vol. 60, p. 726-728.
39. Lu H. et al. *Deinococcus radiodurans Pprl switches on DNA damage response and cellular survival networks after radiation damage*. In: Moleculuar & Cellular Proteomics, 2009, vol. 8, nr. 3, p. 481-494.
40. Macaskie Lynne E. et al. *Enzymically mediated bioprecipitation of uranium by a Citrobacter sp.: a concerted role for exocellular lipopolysaccharide and associated phosphatase in biomineral formation*. In: Microbiology, 2000, vol. 146, nr. 8, p. 1855-1867.
41. Marsili E. et al. *Uranium immobilization by sulfate-reducing biofilms grown on hematite, dolomite, and calcite*. In: Environmental Science Technology, 2007, vol. 41, nr. 24, p. 8349-8354.

42. Martinez Robert J. *Horizontal gene transfer of  $P_{IB}$ -type ATPases among bacteria isolated from radionuclide- and metal-contaminated Subsurface Soils*. In: Applied Environmental Microbiology, 2006, vol. 72, nr. 5, p. 3111–3118.
43. Methé B. A. et al. *Genome of Geobacter sulfurreducens: metal reduction in subsurface environments*. In: Science, 2003, vol. 302, nr. 5652, p. 1967–1969.
44. Mohner M. et al. *Leukemia and exposure to ionizing radiation among German uranium miners*. In: American Journal of Industrial Medicine, 2006, vol. 49, nr. 4, p. 238–248.
45. Nagaraj Nagathihalli S., Singh Om V. *Using genomics to develop novel antibacterial therapeutics*. In: Critical Reviews in Microbiology, 2010, vol. 36, nr. 4, p. 340–348.
46. Nedelkova M. et al. *Microbacterium isolated from the vicinity of a radioactive waste depository and their interaction with uranium*. In: Microbiology Ecology, 2007, vol. 59, nr. 3, p. 694–705.
47. Nussbaum Rudi H. *The Chernobyl nuclear catastrophe: unacknowledged health detriment*. In: Environmental Health Perspectives, 2007, vol. 115, nr. 5, p. 238–239.
48. Nyman J. L. et al. *Heterogeneous response to biostimulation for U(VI) reduction in replicated sediment microcosms*. In: Biodegradation, 2006, vol. 17, nr. 4, p. 303–316.
49. Panak P. J. et al. *X-ray absorption fine structure spectroscopy of plutonium complexes with Bacillus sphaericus*. In: Radiochimica Acta, 2002, vol. 90, nr. 6, p. 315–321.
50. Peretrukhin V. F. et al. *Biosorption of technetium-99 and some actinides by bottom sediments of Lake Beloe Kosino of the Moscow region*. In: Radiochemistry, 1996, vol. 38, nr. 5, p. 440–443.
51. Philip M., Fedorak I., Donald W. S. *Microbial release of  $^{226}\text{Ra}^{2+}$  from (Ba, Ra)SO<sub>4</sub> sludges from uranium mine wastes*. In: American Society for Microbiology, 1986, p. 262–268.
52. Phumza V. Tikilili, Evans M. N. Chirwa. *Microbial degradation of recalcitrant organics from radioactive waste using indigenous cultures of naphthalene degrading bacteria*. In: Chemical Engineering Transaction, 2009, vol. 18, p. 845–850.
53. Premuzic E. T. et al. *Induced formation of chelating agents by Pseudomonas aeruginosa grown in presence of thorium and uranium*. In: Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 1985, vol. 14, nr. 6, p. 759–768.
54. Raghu G. et al. *Bioremediation of trace cobalt from simulated spent decontamination solutions of nuclear power reactors using E. coli expressing NiCoT genes*. In: Applied Microbiology Biotechnology, 2008, vol. 81, nr. 3, p. 571–578.
55. Sakadevan K., Bavor H. J. *Nutrient removal mechanisms in constructed wetlands and sustainable water management*. In: Water Science and Technology, 1999, vol. 40, nr. 2, p. 121–128.
56. Sasaki K. et al. *Practical removal of radioactivity from soil in Fukushima using immobilized photosynthetic bacteria combined with anaerobic digestion and lactic acid fermentation as pre-treatment*. In: Bioscience Biotechnology Biochemistry, 2012, vol. 76, nr. 9, p. 1809–1814.
57. Singh O.V., Nagaraj N.S., Gabani P. *Systems biology: integrating ‘-omics’ oriented approaches to determine food borne microbial toxins*. In: Handbook of Systems Toxicology: From Omics Technology to Nanotechnology, 2011, p. 469–488.
58. Strinfellow W. T. et al. *Biological treatment of concentrated hazardous and radionuclide mixed waste without dilution*. In: Lawrence Berkley national Laboratory, California.
59. Tamponnet C., Declerck S. *Radionuclide (RN) pollution is a worldwide problem that arises from human activities*. In: Journal Environmental Radioactivity, 2008, vol. 99, p. 773–774.
60. Tian Bing. *Proteomic analysis of membrane proteins from a radioresistant and moderate thermophilic bacterium Deinococcus geothermalis*. In: Molecular BioSystems, 2010, vol. 6, nr. 10, p. 2068–2077.
61. Valls M. et al. *Engineering a mouse metallothionein on the cell surface of Ralstonia eutropha CH34 for immobilization of heavy metals in soil*. In: Nature Biotechnology, 2000, vol. 18, nr. 6, p. 661–665.
62. Valls M. et al. *Engineering outer-membrane proteins in Pseudomonas putida for enhanced heavy-metal bioadsorption*. In: Journal of Inorganic Biochemistry, 2000, vol. 79, nr. 1–4, p. 219–223.
63. van Hullebusch E. D. et al. *Sorption of cobalt and nickel on anaerobic granular sludges: isotherms and sequential extraction*. In: Chemosphere, 2005, vol. 58, nr. 4, p. 493–505.
64. Vrionis H. A. et al. *Microbiological and geochemical heterogeneity in an in situ uranium bioremediation field site*. In: Applied Environmental Microbiology, 2005, vol. 71, nr. 10, p. 6308–6318.
65. Wang Jianxu. *Remediation of mercury contaminated sites – a review*. In: Journal of Hazardous Materials, 2012, p. 221–222.
66. Wildung R. E. *Effect of electron donor and solution chemistry on products of dissimilatory reduction of technetium by Shewanella putrefaciens*. In: Applied Environmental Microbiology, 2000, vol. 66, nr. 6, p. 2451–2460.
67. Wu W. M. et al. *Pilot-scale in situ bioremediation of uranium in a highly contaminated aquifer. Conditioning of a treatment zone*. In: Environmental Science Technology, 2006, vol. 40, nr. 12, p. 3978–3985.
68. Zivanovic Yvan et al. *Genome analysis and genome-wide proteomics of Thermococcus gammatolerans, the most radioresistant organism known amongst the Archaea*. In: Genome Biology, 2009, vol. 10, nr.6, R70 URL: <http://genomebiology.com/>

Prezentat la 05.06.2014