

FYTOINDIKÁCIA EKOGENOTOXICITY ODKALISKA HORNÁ VES PRI KREMNICI

PHYTOINDICATION OF GENOTOXICITY OF MINING TAILING POND IN HORNÁ VES (KREMNICA)

Andrea Pogányová¹, Erik Kerekeš¹, Karol Mičieta¹

¹Mgr. Andrea Pogányová, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského, Katedra botaniky, Révova 39, Bratislava 811 02, poganyova@gmail.com

¹Mgr. Erik Kerekeš, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského, Katedra botaniky, Révova 39, Bratislava 811 02, kerekkeserik@gmail.com

¹Prof. RNDr. Karol Mičieta, CSc., Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského, Katedra botaniky, Révova 39, 811 02 Bratislava, micieta@fns.uniba.sk

Abstrakt: Vedľajšie produkty ťažby a spracovania rúd predstavujú v oblastiach poznamenaných aktívou banskou činnosťou zásah do životného prostredia. Mnohé z takýchto lokalít sa stávajú environmentálne rizikovými, nakoľko môžu aj po desaťročiach uvoľňovať do prostredia toxickej a zdraviu škodlivé látky. V tejto práci sa venujeme detekcii genotoxických vplyvov na území nefunkčného odkaliska v Hornej Vsi pri Kremnici. Prostredníctvom vybranej fytoindikačnej metódy (test peľovej abortivity) sme v roku 2013 stanovili prítomnosť nešpecifických mutagénnych faktorov v prostredí. Priemer frekvencie abortivity všetkých druhov dosiahol na sledovanej lokalite trojnásobnú hodnotu v porovnaní s kontrolou lokalitou. Výsledky našej práce tým potvrdzujú pretrvávajúcu zvýšenú úroveň znečistenia na odkalisku.

Kľúčové slová: deteriorizácia prostredia, fytoindikácia, odkalisko Horná Ves, abortivita peľu

Abstract: By-products of ore mining and processing are negative influences to the environment in areas affected by mining activity. Many of these sites are becoming environmentally risk, because they may even decades later released toxic and harmful substance into the environment. The aim of study is detection of genotoxic effects in the area of dysfunctional mining tailings pond in Horná Ves near Kremnica. Using the selected phytoindication method (pollen abortivity assay), we determined the presence of non-specific mutagenic factors in the environment in 2013. Average abortivity frequency at all of the species reached three times higher value on monitored area, than on the control area. Our results confirm the continuing high level of pollution on the mining tailings pond.

Key words: environment deterioration, phytoindication, mining tailings pond Horná Ves, pollen abortivity

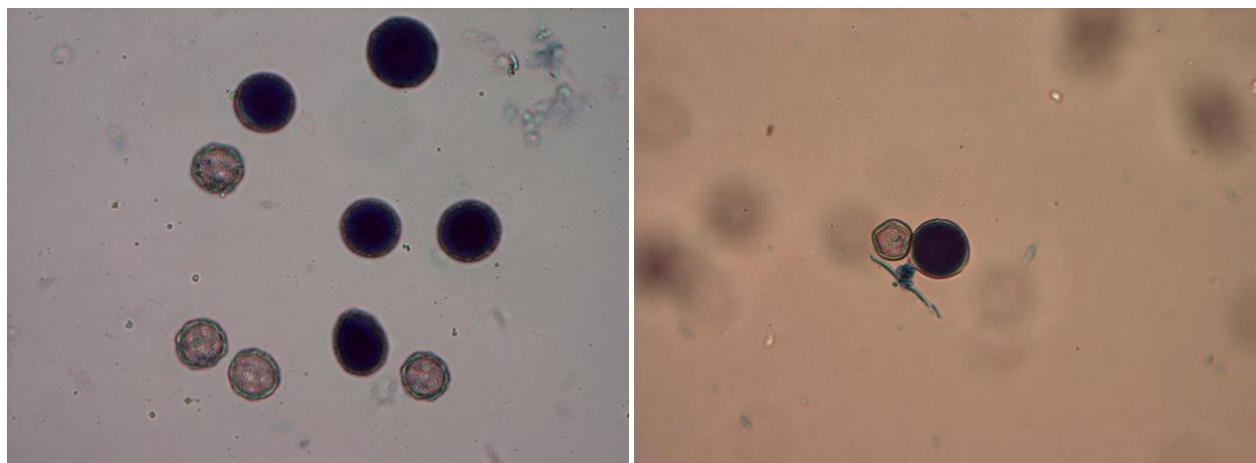
Úvod

Monitoring deteriorizácie životného prostredia antropogénne zatážených lokalít predstavuje nevyhnutnú súčasť prevencie environmentálnych rizík. Obzvlášť na lokalitách, v blízkosti ľudských osídlení a s problematickým charakterom, ako je bývalé banské odkalisko v Hornej Vsi. Ekogenotoxicitu a prítomnosť nešpecifických rizikových faktorov na sledovanom území tohto odkaliska sme overovali použitím rastlinnej fytoindikácie. Aplikácia rastlinných testov je vhodná pri indikácii znečistenia prostredia ďažkými kovmi (Majer et al., 2002) a monitoringu genotoxicity vôd, pôdy a vzduchu (Ma, Harris, 1985, Ma, 1994, Helma et al., 1998, Knasmüller et al., 1998). Senzitivita vybraných rastlinných organizmov umožňuje „*in situ*“ detekciu už pri nízkej koncentrácii chemických látok v prostredí (Uhl et al., 2003). Nakoľko sú divo rastúce rastlinné organizmy permanentne vystavené pôsobeniu genotoxicických látok indukovaných do prostredia, sú vhodné na hodnotenie environmentálneho rizika (Mičieta, Murín, 1996, 1997). Ich prirodzená integrujúca funkcia umožňuje sledovať všeobecnú alebo špecifickú odpoveď na zmenu v prostredí a tým registrovať vplyv rizikového faktora alebo rizikových faktorov (Mičieta, Murín, 1996, Gregušková, Mičieta, 2013). Genotoxicický potenciál sledovaného územia sme v tejto práci hodnotili sledovaním abortivity mikrospór a peľových zrn divisorastúcich druhov. Biologický účinok environmentálne rizikových látok sa prejavuje štatisticky hodnotiteľnou abortívnosťou – mikrospóry a peľové zrná zasiahnutej vegetácie majú pozorovateľné anomálie. Tieto vznikajú ako dôsledok letálnych mutácií, ktoré priamo ovplyvňujú vývoj peľu (Mišík et al., 2007). Cieľom štúdie bolo stanoviť mieru genotoxickej znečistenia na území odkaliska analýzou peľovej abortivity divisorastúcich druhov a zhodnotiť súčasný environmentálny stav sledovanej lokality.

Materiál a metodika

Fytoindikáciu mutagenity prostredia sme vykonali s použitím „*in situ*“ testu peľovej abortivity (Murín, 1987, 1995, Mičieta, Murín, 1996, Mičieta, Kunová 2000). Vzorky peľu z divisorastúcich druhov boli odobraté v októbri 2013 z cca 10 m širokého pásu vegetácie, ktorý sa nachádza na okraji odkaliska (obr 1). Vhodné druhy pre analýzu sme stanovili na základe prác Murína (1987) a Mičietu a Murína (1996). Vybrané, prevažne synantropné, druhy splňajú základné kritériá pre fytoindikáciu analýzou peľovej abortivity. Pre potreby štandardného monitoringu je nutné, aby sa vybrané diploidné druhy nachádzali na lokalite v dostatočnom počte. Taktiež musí ísť o druhy s dostatočnou tvorbou peľu a dobou kvitnutia počas celej vegetačnej sezóny, ideálne druhy jednodomé. Na základe týchto kritérií výsledný výber druhov takmer vždy zahŕňa synantropnú flóru, ktorej životná stratégia predurčuje svojich zástupcov ako najvhodnejších, pre tento typ monitoringu. Vzorky sme odobrali zo šiestich divisorastúcich rastlinných druhov: *Silene latifolia* Poir., *Cichorium intybus* L., *Lamium purpureum* L., *Artemisia vulgaris* L., *Ballota nigra* L., *Trifolium pratense* L. a *Linaria vulgaris* Mill. Dodržaný bol štandardný postup odberu vzoriek z min. 10 indívuidui jedného druhu. Odobraté súkvetia sme fixovali v zmesi etanolu (97 %) a kyseliny octovej (3:1). (Po 24 hodinách prefixácia do 70 % etanolu). Následnú analýzu abortivity sme vykonali v laboratóriu na mikroskope Nicon YS2 Alphaphot. Po vypreparovaní peľní a naťarení peľových zrn roztokom anylínovej modrej v laktofenole sme zhodnotili abortivitu peľových zrn podľa kritérií práce Mičietu a Murína (1996) (deformácie, farbiteľnosť, abnormálna veľkosť) (obr 1). Zhodnotených bolo cca 3 000 peľových zrn z každej odobratej vzorky. Vzorky z referenčnej lokality Horné Opatovce boli odobrané v identickom termíne ako vzorky v Hornej Vsi. Vzorky z kontrolnej lokality Ostrovné lúčky boli odoberané v mesiacoch júl, august a september v roku 2013 a pre výsledné zhodnotenie boli použité priemerné hodnoty druhov. Podľa doterajších poznatkov, sa počas vegetačnej sezóny

frekvencia abortivity peľových zín mierne zvyšuje, pričom svoj vrchol dosahuje zvyčajne v septembri (Kerekeš et al., 2013). Aj v našom prípade sme zaznamenali obdobné intrasezónne zvýšenie abortivity na kontrolnej lokalite Ostrovné lúčky. Priemer frekvencie abortivity všetkých druhov stúpol z hodnoty 1,7 v júni na 2,7 v septembri.

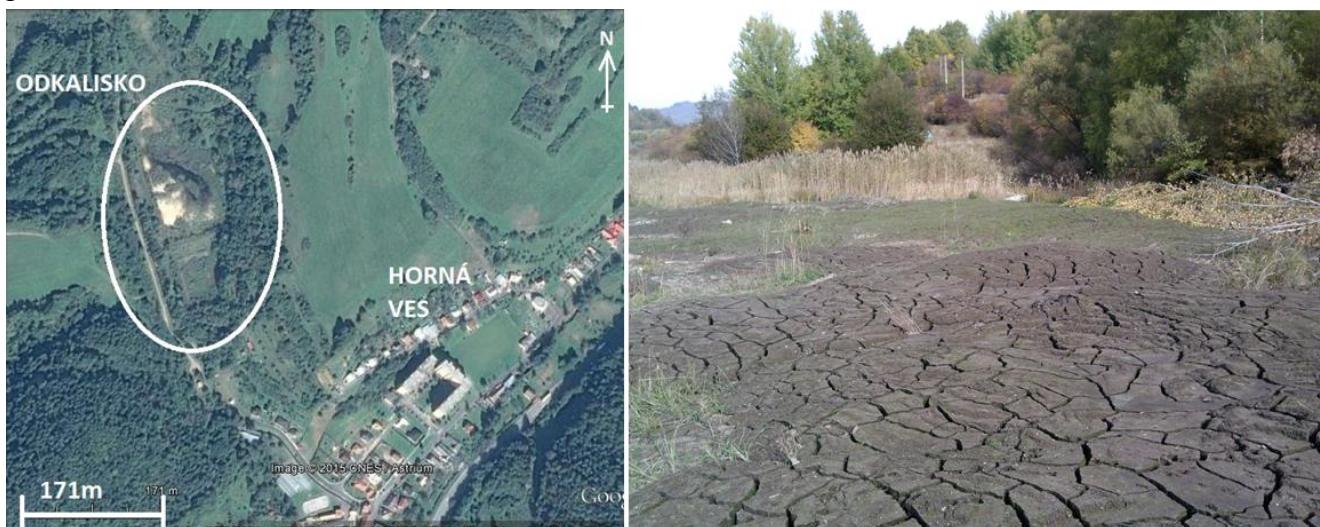


Obr 1 Skupina abortívnych peľových zín *Silene latifolia* Poir. a abortívne peľové zrno *Trifolium pratense* L. vo vzorkách z odkaliska.

Fig 1 Group of abortive pollen grains of *Silene latifolia* Poir. and abortive pollen grain of *Trifolium pratense* L. in samples from mining tailings pond.

Charakteristika územia

Oblast' na strednom Slovensku, v okolí Kremnice, je charakteristická ľažbou vzácnych kovov, zlata a striebra. Sledované odkalisko (obr 2) bolo vybudované v roku 1965 ako finálna súčasť spracovateľských procesov (gravitácia, floatácia, amalgamácia a lúhovanie kyanidom) využívaných pri ľažbe a spracovaní rúd (Matušková a Finka, 2010). Nachádza sa pri obci Horná Ves (cca. 200 m nad obcou) v miernom svahu v blízkosti Lúčanského potoka (GPS: 48°40' 49.,10" S, 18°54' 22.,86" V). Po roku 1970 sa na odkalisko ukladali produkty úprav rôznych surovín z viacerých závodov (Kovohuty, n. p. Krompachy, závod SNP Žiar nad Hronom a ďalšie). Medzi rokmi 1986 až 1992 tu boli vypúšťané kaly zo spracovania rúd povrchového lomu Šturec.



Obr 2 Banské odkalisko pri Hornej Vsi na strednom Slovensku (zdroj: google earth a autorská fotografia)

Fig 2 Mining tailings pond in Horná Ves in Central Slovakia (source: google earth and author's photography)

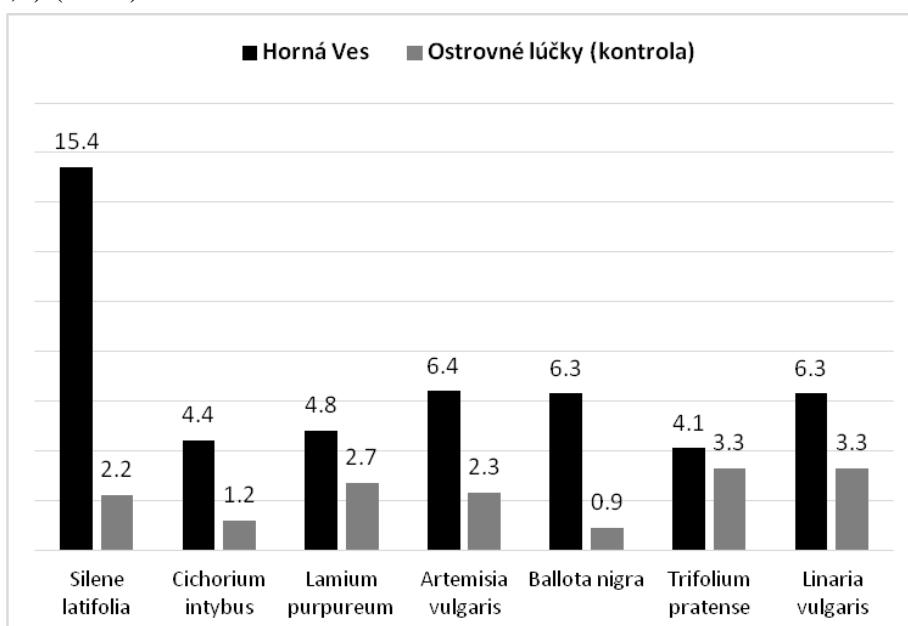
Odkalisko je v súčasnosti uzavretým areálom. Vzhľadom k environmentálnej závažnosti problematiky týkajúcej sa spracovania odpadových produktov vznikajúcich pri rôznych technologických postupoch, je tejto lokalite venovaná pozornosť v rade odborných prác (Matúšková, Finka, 2010, Poništ, 2008).

Abortivitu peľových zŕn hodnotenej lokality sme porovnali s kontrolou neznečistenou lokalitou v prírodnej rezervácii Ostrovné lúčky, ktorá je súčasťou Chránenej krajinej oblasti Dunajské luhy (GPS: 48°02' 24.,00" S, 17°10' 29.,50" V) vzdialenej cca. 12 km od Bratislavы. Vzorky z rastlinných druhov kontrolnej lokality boli odobraté, spracované a analyzované identickým spôsobom ako vzorky z odkaliska. Ako referenčnú lokalitu pre zhodnotenie našich výsledkov sme použili dátá z výskumu abortivity v zaniknej obci Horné Opatovce pri Žiari nad Hronom (GPS: 48°33' 22.,17" S, 18°51' 11.,52" V). Ide o lokalitu v blízkosti továrne na výrobu hliníka Slovalco a. s., ktorá je predmetom dlhoročného monitoringu genotoxicity (Mičieta a Murín, 1997, Mičieta a Kunová, 2000)

Štatistickú signifikantnosť rozdielu vo frekvencii abortivity medzi druhami na kontrolnej lokalite a odkaliskom sme overili použitím Studentovho t-testu.

Výsledky

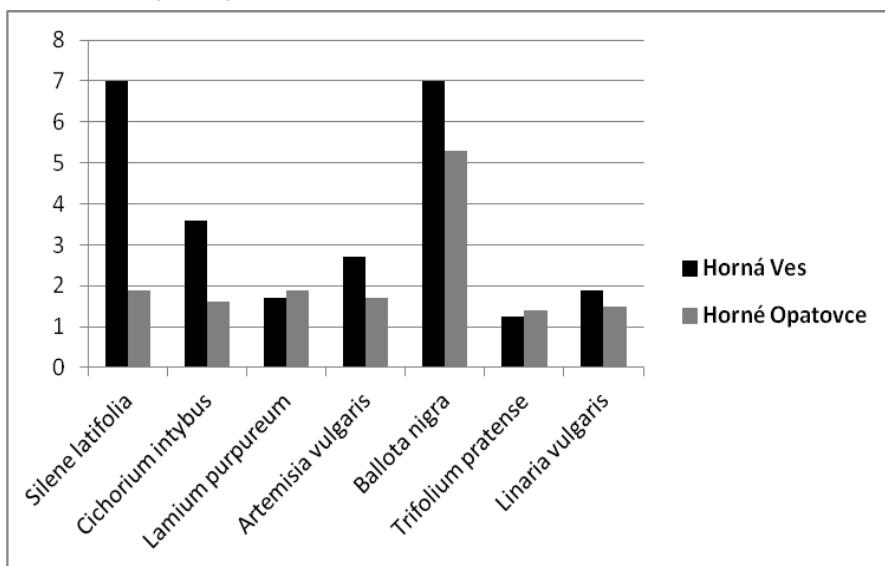
Analýza abortivity peľu potvrdila prejavy ekogenotoxicity u sledovaných indikačných druhov a tým aj pretrvávajúcu zvýšenú úroveň znečistenia na odkalisku. Priemerná hodnota abortivity na sledovanom území bola trojnásobne vyššia ($6,81\% \pm 3,9$) v porovnaní s kontrolou lokalitou ($2,27\% \pm 0,9$) (obr 3).



Obr 3 Abortivita peľu (%) vybraných druhov v lokalite Horná Ves a na kontrolnej lokalite
Fig 3 Pollen abortion (%) of selected species in Horná Ves and control site

Detekcia abortivity natívnej flóry na odkalisku potvrdila vzhľadom ku kontrole významný rozdiel. Preukaznosť tohto rozdielu medzi lokalitami sme štatisticky overili použitím Studentovho t-testu. Výsledná hodnota $p = 0,0113$ potvrdila, podľa konvenčných kritérií štatistiky, signifikantnosť výsledkov (použité hodnoty: $t = 2,9892$, $df = 12$, odchýlka = 1,520). Pri overovaní hodnoty získaných výsledkov a pre definovanie miery environmentálnej záťaže sme abortivitu odkaliska porovnali s hodnotami dlhodobo sledovanej referenčnej lokality Horné Opatovce. Výpočet indukčného indexu vyjadruje hodnotu výsledkov oboch lokalít

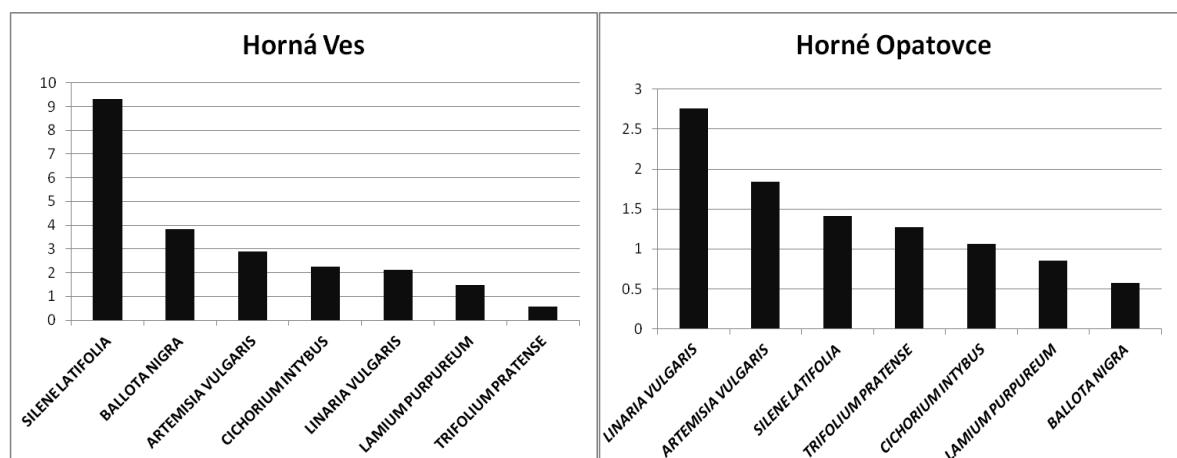
vzhladom ku kontrole. V grafe môžeme vidieť rozdiel medzi sledovanou lokalitou odkaliska a referenčnou lokalitou (obr 4).



Obr 4 Indukčné indexy jednotlivých druhov odkaliska a referenčnej lokality

Fig 4 Induction indexes of each species on mining tailings pond and reference site

Celkový indukčný index lokality Horná Ves dosiahol hodnotu $id = 3,59 \pm 2,5$. Táto hodnota vyjadruje celkovú záťaž lokality v porovnaní s kontrolou a v prípade odkaliska dosahuje výrazne vysokú hodnotu (viac ako trojnásobná hodnota), čo indikuje významnú prítomnosť genotoxických faktorov v prostredí. Podstatný rozdiel sa ukazuje aj pri porovnaní s referenčnou lokalitou. Celkový indukčný index referenčnej lokality v blízkosti továrne na výrobu hliníka dosiahol hodnotu „iba“ $id = 2,19 \pm 1,4$ (obr 3). Je zjavné, že jednotlivé rastlinné druhy reagujú na prítomnosť znečistujúcich látok v prostredí s rôznou mierou citlivosti. V našich výsledkoch (obr 3 a obr 4) sa javia ako najsenzitívnejšie druhy *Silene latifolia* Poir., *Ballota nigra* L., a *Cichorium intybus* L. Citlivosť jednotlivých druhov sme pre overenie zhodnotili výpočtom strednej kvadratickej odchylky. Táto hodnota nám umožňuje pozorovať mieru disperzie vo frekvencii abortivity pri jednotlivých druhoch. Obr 5 a obr 6 zobrazujú poradie druhov na základe rozptylu hodnôt abortivity na sledovanej a referenčnej lokalite.



Obr 5, Obr 6 Poradie druhov na základe citlivosti na znečistenie, stanovené pomocou štandardnej odchýlky, na odkalisku v Hornej Vsi a referenčnej lokalite v Horných Opatovciach

Fig 5, Fig 6 The species sequence based on sensitivity to pollution, determined by the standard deviation, on the mining tailings pond in Horná Ves and reference locality in Horné Opatovce

Zobrazené výsledky naznačujú rôznu mieru citlivosti jednotlivých druhov na znečistenie v prostredí. Taktiež pozorujeme odlišnú mieru reakcie v závislosti od typu znečistenia. To s najväčšou pravdepodobnosťou vysvetľuje rozdiely medzi odkaliskom a referenčou lokalitou. Na základe našich výsledkov predpokladáme že medzi najsenzitívnejšie druhy, a teda aj druhy najvhodnejšie pre monitoring genotoxicity fytoindikáciou, patria *Silene latifolia* L., *Artemisia vulgaris* L., *Cichorium intybus* L., a *Linaria vulgaris* Mill.

Diskusia

Lokalita odkaliska bola dlhé roky využívaná pri procesoch spracovania vedľajších produktov tăžby zlata a striebra, neskôr aj ostatných druhov kovov z rôznych spracovateľských závodov. Na území bolo akumulované veľké množstvo tăžkých kovov a ďalších environmentálne toxických látok. Napriek tomu, podľa dostupných analýz a odborných prác, tieto látky neboli do okolia uvoľňované v nadlimitných hodnotách (Matúšková, Finka, 2010).

V súčasnosti sa odkalisko považuje za bezpečné, nemalo by dôjsť k uvoľneniu toxickeho kalu do okolia ani v prípade veľkých zrážok, ako sa stalo pri havárii v roku 1971. Opustený areál hojne zarastá vegetáciou. Okrem vegetácie je tu prítomné rozmanité množstvo živočíšnych druhov. Napriek tomu naše výsledky potvrdili výrazne vysokú prítomnosť abnormálnych prejavov spôsobených mutáciami na chromozómovej úrovni. Obdobné pozorovania nachádzame aj v prácach niektorých slovenských autorov. Pri monitoringu okolia mestskej spaľovne v Bratislave a okolia spoločnosti Slovnaft (Mičieta, Kunová, 2000) autori pozorovali prítomnosť dvoj až trojnásobne vyšších hodnôt abortivity v porovnaní s kontrolou lokalitou. Tieto hodnoty boli zistené v dobe kedy, s použitím bežných analytických metód, neboli v tejto lokalite namerané hodnoty prekračujúce doporučené koncentrácie rizikových látok. Výskum genotoxicity analýzou abortivity lokálnej flóry, doplnenej o analýzu peľovej abortivity implantovaného druhu *Tradescantia paludosa* a taktiež o *Tradescantia* MCN test, sa uskutočnil aj v okolí priemyselných lokalít a skládky pri Žiline (Solenská et al., 2006). Autori na základe výsledkov konštatujú možnosť vyšej citlivosti peľových zŕn natívnej flóry na znečistenie, ako je tomu pri teste na mikrojadrá. Z ich pozorovaní taktiež vyplýva existencia priameho vzťahu medzi abortivitou a vzdialenosťou rastlín od priameho zdroja znečistenia. Na podstatný význam tohto vzťahu poukazuje aj práca zahraničných autorov (Carneiro et al. 2011), ktorí analýzu abortivity uplatnili pri monitoringu znečistenia emisiami z dopravného koridoru v Sao Paulo. Za hlavný potenciálny nedostatok tejto metodiky sa považuje možná adaptácia exponovaných rastlinných populácií na pôsobenie environmentálnych toxínov (Mičieta, Murín, 1997). Na tento fakt autori upozorňujú v práci venovanej monitoringu prostredia potenciálne kontaminovaného rádioaktivitou (Murín, Mičieta, 2009). Za ďalší potenciálny nedostatok metodiky môžeme považovať prirodzené ovplyvnenie abortívnosti rastlín zmenou klimatických faktorov.

Aj keď našim predpokladom je, že pôsobenie týchto základných premenných, pri porovnávaní výsledkov s kontrolou lokalitou, neovplyvňuje výslednú abortivitu výraznejšie než prítomnosť genotoxicických látok v prostredí, vplyv klimatických faktorov na skreslenie výsledkov nie je zanedbateľný. Tento problém výraznou mierou redukuje voľba vhodnej kontrolnej lokality, mimo dosahu znečistenia, avšak s identickými klimatickými parametrami.

Na základe našich výsledkov, získaných jednorazovou analýzou stavu odkaliska z hľadiska prítomnosti genotoxicických faktorov, odporúčame aj naďalej venovať tejto lokalite pozornosť v podobe pravidelného monitoringu a preventívnych bezpečnostných opatrení.

Záver

Znečistovanie životného prostredia vedľajšími produktmi banskej činnosti má výrazný vplyv na jednotlivé zložky ekosystému. Aj keď znečistenie vďaka adaptabilite rastlinných aj živočíšnych organizmov nemusí byť na prvý pohľad viditeľné, výsledky našej štúdie naznačujú že staré environmentálne záťaže svoj vplyv na prostredie majú. Test peľovej abortivity aplikovaný „*in situ*“ na vybrané druhy flóry odkaliska naznačil, že v prostredí sa nachádza množstvo genotoxických látok s mutagénnym účinkom.

Poděkovanie

Táto práca bola finančne podporená projektom VEGA 1/0380/13.

Literatúra

- Carneiro, M.F.H., Ribeiro, F.Q., Fernandes-Filho, F.N., Lobo, D.J.A., Barbosa Jr., F., Rhoden, C.R., Mauad, T., Saldiva, P.H.N., Carvalho-Oliveira, R. 2011. Pollen abortion rates, nitrogen dioxide by passive diffusive tubes and bioaccumulation in tree barks are effective in the characterization of air pollution. *Environ. Exp. Botany*, 72, s. 272-277. ISSN 0098-8472.
- Gregušková E., Mičieta, K. 2013. Phytoindication of the Ecogenotoxic Effects of Vehicle Emissions Using Pollen Abortion Test with Native Flora. *Pol. J. Environ. Stud.* Vol. 22, 4, s. 1069-1076. ISSN 1230-1485.
- Helma, C., Eckl, P., Gottmann, E., Kassie, P., Rodinger, W., Steinkellner, H., Wind-Passinger, C., Schulte-Hermann, R., Knasmüller, S. 1998. Genotoxic and ecotoxic effects of groundwaters and their relation to routinely measured chemical parameters. *Environ. Sci. Technol.*, 32, s. 1799-1805. ISSN 0013-936X.
- Kerekeš, E., Pogányová, A., Miškovic, J., Mičieta, K. 2013. Test abortivity peľu natívnej flóry a *Tradescantia* MCN test v dlhodobej fytoindikácii zmien ekogenotoxickej záťaže v Horných Opatovciach. In Galamboš, M., Džugasová, V., Ševčovičová, A. (eds.): Študentská vedecká konferencia PriF UK 2013 – Zborník recenzovaných príspevkov. Bratislava : Vydavateľstvo UK, s. 334-338. ISBN 978-80-223-3392-4.
- Knasmüller, S., Gottmann, E., Steinkellner, H., Fomin, A., Pickl, C., Paschke, A., God, R., Kundi, M. 1998. Detection of genotoxic effects of heavy metal contaminated soils with plant bioassays. *Mutation Research*, 420, s. 37-48. ISSN 1383-5718.
- Ma T.H., Harris, M.M. 1985. *In situ* monitoring of environmental mutagens, s. 77-106. In Saxena, J. (ed.): *Hazard Assessment of Chemicals*. Vol. 4. New York : Academic Press, 1985. ISBN 978-01-231-2404-3.
- Ma, T.H. 1994. Application of quick and simple plant bioassays to assess the genotoxicity of environmental pollutants - detection of potential health hazards of air, water and soil contaminants. In Degen, G.H., Seiler, J. P., Bentley P. (eds.): *Proceedings of 1994 EUROTOX Congress*. Basel : Springer, s. 420-433. ISBN 978-35-405-8781-1.
- Majer, B.J., Tscherko, D., Paschke, A., Wennrich, R., Kundi, M., Kandeler, E., Knasmüller, S. 2002. Effects of heavy metal contamination of soils on micro-nucleus induction in *Tradescantia* and on microbial enzyme activities: a comparative investigation. *Mutation Research*, 515, s. 111-124. ISSN 2224-4263.
- Matúšková, L., Finka, O. 2010. *Vplyv banskej činnosti na životné prostredie - odkalisko Horná Ves - správa*. Kremnica Gold, s. r. o., Banská Bystrica, 2010, s. 3-10. [online]. [cit. 11-2.2015]. Dostupné na internete: <http://www.zbsc.eu/download/odkalisko.pdf>
- Mičieta, K., Kunová, K. 2000. Poznáme únosnosť genetickej deteriorizácie v ochrane ohrozených a vzácných druhov? *Acta Environmentalia universitatis comenianae*, 10, s. 99-103. ISSN 1335-0285.
- Mičieta, K., Murín, G. 1996. Microspore analysis for genotoxicity of polluted environment. *Environ. Exp. Botany*, 36, 1, s. 21-27. ISSN 0098-8472.
- Mičieta, K., Murín, G. 1997. Wild plant species in practical use for bioindication of polluted environment. *Ekológia*, 16, s. 193-202.
- Mišk, M., Mičieta, K., Solenská, M., Mišková, K., Pisarčíková, H., Knasmüller, S. 2007. In situ biomonitoring of the genotoxic effects of mixed industrial emissions using the *Tradescantia* micronucleus and pollen

- abortion tests with wild life plants: Demonstration of the efficacy of emission controls in an Eastern European city. *Environ. Pollut.*, 145, s. 459-466. ISSN 0269-7491.
- Murín, A. 1987. Kvety ako indikátory mutagenity a fytotoxicity znečisteného životného prostredia. *Biológia*, 42, s. 447-456.
- Murín, A. 1995. Basic criteria for selection of plant bioindicators from regional flora for monitoring of an environmental pollution. *Biologia*, 50, s. 37-40. ISSN 0006-3088.
- Poništ, M. 2008. Systematická identifikácia environmentálnych záťaží SR, čiastková záverečná správa za okres Žiar nad Hronom. In Paluchová, K. (ed.): *Systematická identifikácia environmentálnych záťaží SR, záverečná správa 2008*, Banská bystrica, 2008, s. 116. [online]. [cit. 11-2-2015]. Dostupné na internete: www.sazp.sk/public/index/open_file.php?file=CEI/EZ/ZavSprava.pdf
- Solenská, M., Mičieta, K., Mišík, M. 2006. Plant bioassay of *in situ* monitoring of air near an industrial area and municipal solid waste – Žilina (Slovakia). *Env. Monit. Assess.*, 115, s. 499-508. ISSN 0167-6369.
- Uhl, M., Plewa, M.J., Majer, B.J., Knasmüller, S. 2003. Basic principles of genetic toxicology with an emphasis on plant bioassays. In Maluszynska, J., Plewa, M. (eds): *Bioassays in plant cells for improvement of ecosystem and human health*. Katowice : Wydawnictwo Uniwersytetu Ślaskiego, 2003. 150 s. ISBN 978-83-226-1316-0.