

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

БИОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ

Катарина М. Јовичић

**ДИСТРИБУЦИЈА РАЗЛИЧИТИХ  
ПОЛУТАНАТА У ТКВИМА ПЕТ  
КОМЕРЦИЈАЛНИХ ВРСТА РИБА  
ИЗ ДУНАВА КОД БЕОГРАДА**

Докторска дисертација

Београд, 2019

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF BIOLOGY

Katarina M. Jovičić

**DISTRIBUTION OF DIFFERENT  
POLLUTANTS IN TISSUES OF FIVE  
COMMERCIAL FISH SPECIES FROM  
THE DANUBE RIVER NEAR BELGRADE**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2019

## **МЕНТОРИ И ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ ЗА ОДБРАНУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

### **Ментори:**

**Др Иван Јарић**, научни саветник,

Биолошки центар Чешке Академије Наука, Институт за хидробиологију,  
Чешке Будејовице, Република Чешка

Универзитет Јужне Бохемије, Природно-математички факултет, Одељење за  
биологију екосистема, Чешке Будејовице, Република Чешка

**Др Јасмина Крпо-Ћетковић**, ванредни професор,

Универзитет у Београду – Биолошки факултет

### **Комисија:**

**Др Александар Хегедиш**, научни саветник,

Универзитет у Београду – Институт за мултидисциплинарна истраживања,  
доцент, Универзитет у Београду – Биолошки факултет

**Др Божидар Рашковић**, ванредни професор,

Универзитет у Београду – Пољопривредни факултет

**Др Саша Јанковић**, научни сарадник,

Институт за хигијену и технологију меса

Датум одбране \_\_\_\_\_

## ПРЕДГОВОР

*Истраживања у оквиру ове докторске дисертације спроведена су у оквиру пројеката ОИ 173045 и ТР 37009 финансираних од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије.*

*Неизмерну захвалност дугујем свом ментору др Ивану Јарићу на несебичној помоћи и стручном вођењу током израде докторске дисертације. Иване, дугујем ти огромну захвалност за људске и стручне савете као и пожртвовано вођење кроз цели поступак научног истраживања и за несебично преношење знања и искуства.*

*Велику захвалност дугујем својој менторки др Јасмини Крпо-Ћетковић на стручном вођењу и конструктивним идејама, као и на свим саветима и сугестијама при изради рада. Хвала на указаном поверењу, свесрдној помоћи, залагању и саветима који су учинили ову дисертацију комплетнијом.*

*Неизмерну захвалност дугујем колегиници Жељки Вишњић-Јефтић на несебичној помоћи током свих фаза израде дисертације. Хвала на пријатељском односу, на свим сугестијама и саветима.*

*Дубоку захвалност дугујем др Божидару Рашковићу на преношењу знања из области хистопатологије и на помоћи приликом анализа хистолошких препарата.*

*Велику захвалност дугујем др Саши Јанковићу на сарадњи и великој помоћи приликом анализа акумулације метала као и органохлорних загађивача.*

*Велику захвалност дугујем др Драгици М. Николић на несебичној помоћи приликом анализа акумулације метала.*

*Велику захвалност дугујем Зорици Радовић на помоћи око припреме хистолошких препарата, на стрпљењу и саветима.*

*Велику захвалност дугујем Жарку Радовановићу на помоћи приликом прикупљања узорака на терену.*

*Неизмерну захвалност дугујем колегама а и пријатељима из лабораторије на практичној и моралној подршци током докторских студија и при изради докторске дисертације.*

*Хвала пријатељима на константној подршци и разумевању.*

*Највећу захвалност дугујем својим родитељима за све године мог школовања, на бескрајном разумевању и вери да ћу истрајати у својим замислима.*

# ДИСТРИБУЦИЈА РАЗЛИЧИТИХ ПОЛУТАНАТА У ТКВИМА ПЕТ КОМЕРЦИЈАЛНИХ ВРСТА РИБА ИЗ ДУНАВА КОД БЕОГРАДА

## Сажетак

Акватични екосистеми су данас угрожени на глобалном нивоу, стога је у циљу одрживог управљања воденим ресурсима неопходно успоставити континуирани мониторинг њиховог квалитета. Положај риба на врху ланца исхране и употреба у исхрани људи чини их важним за процену контаминације акватичних екосистема токсичним супстанцама.

У оквиру ове дисертације вршена је процена дистрибуције различитих полутаната на три локације на Дунаву: Батајница, Велико ратно острво и Гроцка, у периоду од новембра 2012. године до марта 2014. године. На основу анализе релативне заступљености (абунданције) и масеног удела присутних врста риба у укупном улову, као и биолошких и еколошких карактеристика самих врста, на испитиваним локалитетима најпре је одређено које врсте би могле бити оптималне индикаторске врсте, тако да су у даљим истраживањима коришћени штука, деверика, крупатица, соми смуђ.

На узорцима сома, применом масене спектрометрије са индуктивно спрегнутом плазмом (ICP-MS), испитана је дистрибуција 11 елемената у ткивима, као и њихове концентрације у различитим сегментима мишића, шкрга, јетре и црева како би се утврдио потенцијал коришћења ових ткива у мониторингу популација риба. Потенцијална корелација између концентрације метала и елемената у траговима у мишићу са концентрацијама у крљуштима и аналном перају испитана је на јединкама штуче, деверике, крупатице, сома и смуђа, у циљу развоја неинвазивних метода мониторинга квалитета рибљег меса. Такође, испитано је и присуство акумулације органохлорних загађивача (полихлорованих бифенила и пестицида) код јединки деверике и смуђа применом гасне хроматографије са детектором електронског захвата (GC-ECD). Хистопатолошке промене праћене су на шкргама и јетри деверике и смуђа, како би се утврдио потенцијал коришћења хистолошких анализа у развоју метода мониторинга популација риба.

Резултати су указали на висок ниво диференцијалне акумулације елемената међу анализираним ткивима у сому. Највиши свеукупни ниво акумулације уочен је у кичменом пршљену, бубрезима и јетри, док су минималне вредности уочене у жучној кеси, мишићу, мозгу и рибљем мехуру. Акумулација елемената у мишићу и кожи, као и у шкржним филаментима и луку, значајно се разликовала за већину елемената, док између два испитивана дела јетре, проксималног и дисталног, није било разлика у концентрацијама анализираних елемената. У проксималном и медијалном сегменту црева уочен је исти акумулациони ниво, док су у оба сегмента забележене значајно више концентрације Со и Zn и ниже концентрације Mn у односу на дистални сегмент. Није уочена значајна корелација концентрација елемената између мишића и крљушти код испитиваних врста, па се може закључити да метода коришћења крљушти за процену контаминације мишића датим елементима није задовољавајућа, мада се може користити као метода раног упозорења на контаминацију ткива. Концентрације органохлорних загађивача биле су испод прописаних максимално дозволених вредности. На акумулацију органохлорних једињења утичу како положај рибе у ланцу исхране тако и садржај липида, међутим у овом истраживању нису уочене значајне разлике у концентрацијама РСВ и пестицида између деверике и смуђа. Хистопатолошким анализом утврђене су више просечне вредности нивоа хистопатолошких промена у шкргама деверике, што је и очекивано имајући у виду да су шкрге риба у сталном контакту са супстанцама које се налазе у води која их окружује, па представљају релевантне индикаторе изложености риба загађивачима у води. Укупни хистопатолошки индекс јетре није се значајно разликовао међу врстама.

**Кључне речи:** Дунав, метали и елементи у траговима, органско загађење, хистопатологија, *Silurus glanis*, *Sander lucioperca*, *Esox lucius*, *Abramis brama*, *Blicca bjoerkna*

**Научна област:** Екологија

**Ужа научна област:** Екологија риба, Екотоксикологија

**УДК број:** [574.64 (282): 597] (043.3)

# **DISTRIBUTION OF DIFFERENT POLLUTANTS IN THE TISSUES OF FIVE COMMERCIAL FISH SPECIES FROM THE DANUBE RIVER NEAR BELGRADE**

## **Summary**

Aquatic ecosystems are today globally endangered; thus, in order to ensure sustainable water resources management, it is necessary to establish continuous monitoring of their quality. Considering that fish are situated at the top of the food chain and used for human nutrition, it makes them important for the assessment of contamination of aquatic ecosystems with toxic substances.

In scope of this dissertation, the estimation of the distribution of different pollutants was carried out at three localities on the Danube: Batajnica, Veliko Ratno Ostrvo, and Grocka, in the period from November 2012 to March 2014. Based on the analysis of abundance and mass fraction of individual species in the total catch, as well as their biological and ecological characteristics, the optimal indicator species for this study were determined, and accordingly the following species were used: northern pike, freshwater bream, white bream, wels catfish, and pike-perch.

The distribution of 11 elements was assessed in the wels catfish tissue samples by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS), as well as their concentrations in different segments of muscles, gills, liver, and intestine, in order to determine the potential for the use of these tissues in monitoring fish populations. The potential relationship of metal and trace element concentrations in the muscle and their concentrations in scales and anal fins was assessed in northern pike, freshwater bream, white bream, wels catfish and pike-perch in order to develop non-invasive methods for monitoring the quality of fish meat. Using the gas chromatography with electron capture detector (GC-ECD), concentrations of organochlorine pollutants (polychlorinated biphenyls and pesticides) in freshwater bream and pike-perch were determined. Histopathological changes were assessed in gills and liver of freshwater bream and pike-perch in order to determine the potential for using histological analyses in the development of methods for monitoring fish populations.

The results indicated a high level of differential accumulation of elements among the analyzed tissues in wels catfish. The highest overall accumulation level was observed in vertebra, kidneys, and liver, while minimal values were observed in gallbladder, muscle, brain, and swim bladder. The accumulation of elements in the muscle and skin, as well as in the gill filaments and gill arch, differed significantly among most elements, while between the two examined parts of the liver, proximal and distal, there were no differences in concentrations of the analyzed elements. The same accumulation level was observed in the proximal and medial segments of the intestine, while both segments had significantly higher concentrations of Co and Zn and lower Mn concentration in comparison with the distal segment. There were no significant correlations between muscle and scales in element concentrations in all investigated species, which indicates that the method of using scales is inadequate for assessing muscle contamination with these elements, but that it can be used as an early warning method for assessing overall tissue contamination. Concentrations of organochlorine contaminants were below the prescribed maximum allowed levels. While the accumulation of organochlorine compounds is affected by both the position of the fish in the food chain and the lipid content, no differences in concentrations of polychlorinated biphenyls and pesticides between the freshwater bream and pike-perch were observed in this study. Histopathological analysis revealed higher average histological scores in the gills of freshwater bream, which was expected, given that the gills are in constant contact with the substances found in the surrounding water, which makes them good indicators of fish exposure to pollutants in water. The total histopathological index of the liver did not differ significantly between species.

**Key words:** Danube, metals and trace elements, organic pollution, histopathology, *Silurus glanis*, *Sander lucioperca*, *Esox lucius*, *Abramis brama*, *Blicca bjoerkna*

**Research field:** Ecology

**Specific research field:** Fish ecology, Ecotoxicology

**UDC No.:** [574.64 (282): 597] (043.3)



## САДРЖАЈ:

<b>1. УВОД .....</b>	<b>1</b>
1.1. Загађење водених екосистема .....	1
1.2. Неоргански полутанти у воденим екосистемима .....	2
1.2.1. Арсен .....	5
1.2.2. Бакар .....	5
1.2.3. Кадмијум .....	5
1.2.4. Олово .....	6
1.2.5. Цинк.....	6
1.2.6. Жива.....	6
1.3. Перзистентни органски полутанти ( <i>енгл.</i> persistent organic pollutants – POPs) .....	7
1.3.1. Полихлоровани бифенили .....	7
1.3.2. Пестициди.....	10
1.4. Хистолошке методе за процену загађења акватичне животне средине .....	13
1.5. Мониторинг акватичних екосистема .....	14
1.6. Рибе као индикатори загађења акватичних екосистема.....	18
1.7. Биологија и екологија истраживаних врста.....	20
<b>2. ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА .....</b>	<b>25</b>
<b>3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ .....</b>	<b>26</b>
3.1. Карактеристике подручја истраживања.....	26
3.1.1. Карактеристике истраживане реке .....	26
3.2. Параметри квалитета воде.....	28
3.3. Преглед фауне риба на испитиваном локалитету .....	30
3.4. Узорковање .....	31
3.4.1. Припрема узорака и анализа садржаја метала и елемената у ткиву риба методом масене спектрометрије са индуктивно спрегнутом плазмом (ICP- MS) .....	33
3.4.2. Припрема узорака за анализу полихлорованих бифенила и пестицида.....	36
3.4.3. Припрема хистолошких препарата.....	37
3.5. Анализа података.....	38
3.6. Анализа екотоксиколошке литературе .....	41

<b>4. РЕЗУЛТАТИ</b> .....	<b>42</b>
4.1. Релативна заступљеност (абунданција) и масени удео врста .....	42
4.2. Анализа концентрације метала и елемената у траговима у ткивима јединки сома .....	44
4.3. Одређивање концентрације метала и елемената у траговима у различитим сегментима мишића, шкрга, јетре и црева јединки сома .....	51
4.4. Концентрације полутаната у мишићу, крљуштима и аналном перају штуче, деверике, крупатице, сома и смуђа .....	56
4.5. Одређивање концентрације метала и елемената у траговима, РСВ-а и пестицида и анализа хистопатолошких промена код две врсте риба различитог трофичког нивоа .....	59
4.5.1. Анализа концентрације метала и елемената у траговима .....	59
4.5.2. Хистопатолошке промене .....	60
4.5.3. Концентрације РСВ и пестициди .....	64
4.6. Анализа екотоксиколошке литературе .....	66
<b>5. ДИСКУСИЈА</b> .....	<b>67</b>
5.1. Индикатори стања рибљег фонда и квалитета рибљег меса .....	67
5.2. Дистрибуција метала и елемената у траговима у различитим ткивима сома .....	67
5.3. Одређивање концентрације метала и елемената у траговима у различитим сегментима мишића, шкрга, јетре и црева јединки сома .....	73
5.4. Испитивање могућности коришћења крљушти и аналног пераја као мање инвазивне методе праћења акумулације метала и елемената у траговима .....	75
5.5. Хистопатолошке промене, метали и елементи у траговима, РСВ и пестициди код врста различитих трофичких нивоа .....	77
<b>6. ЗАКЉУЧЦИ</b> .....	<b>85</b>
<b>7. ЛИТЕРАТУРА</b> .....	<b>87</b>
<b>8. ПРИЛОГ</b> .....	<b>113</b>

# 1. УВОД

## 1.1. ЗАГАЂЕЊЕ ВОДЕНИХ ЕКОСИСТЕМА

Загађење животне средине представља присуство штетних материја (полутаната) у ваздуху, води и земљишту, као и у живим организмима, које имају или могу имати негативан утицај на природне процесе у окружењу. Пораст светског становништва и развој индустрије и пољопривреде довели су до повећања количине и степена загађености отпадних вода (Nagajyoti *et al.* 2010; Naigaga *et al.* 2011). Најзначајније количине отпадних вода потичу из индустрије, из насеља и пољопривреде (Dalmacija & Agbaba 2008). Последњих деценија загађење великих река постаје све већи проблем (Antonijević *et al.* 2014).

Полутанте водених екосистема карактерише токсичност, постојаност у животној средини и способност дисперзије, док се према хемијском саставу деле на органске и неорганске (Mingelgrin & Nasser 2006). У органске полутанте спадају полициклична ароматична једињења, полихлоровани бифенили, пестициди, детерџенти, трихлоретилени и перхлорати, док у неорганске полутанте спадају метали и елементи у траговима, амонијак, фосфати, нитрати, нитрити и друге супстанце. Загађење акватичне животне средине органским и неорганским једињењима представља претњу по акватичне организме, укључујући и рибе (Antonijević *et al.* 2014). Према извору загађења, полутанти се могу поделити на тачкасте и дифузне. У тачкасте изворе спадају комуналне и индустријске отпадне воде, док загађење из дифузних извора представља депозицију полутаната путем падавина, отапањем снега и путем воде за наводњавање (Ritter *et al.* 2002).

Загађење водених екосистема на директан или индиректан начин проузрокује различите патолошке промене код риба и других водених организама, од биохемијских промена на ћелијском нивоу до промена на нивоу популације (Van der Oost *et al.* 2003), а може и утицати и на здравље људи (Forstner *et al.* 1981).

## 1.2. НЕОРГАНСКИ ПОЛУТАНТИ У ВОДЕНИМ ЕКОСИСТЕМИМА

Метали се налазе у Земљиној кори у виду стена, руда и минерала (Duruibe *et al.* 2007; Mohammed *et al.* 2011). У животну средину се могу природно ослободити као последица вулканских активности, шумских пожара, ерозије рудних лежишта, природних геохемијских циклуса и микробиолошких активности (Khoshnood *et al.* 2012). Поред природних извора, метали су присутни у животној средини и као последица антропогених активности (Sharma & Agrawal 2005), најчешће рударства и прераде руда, пољопривреде и индустрије (Walker *et al.* 2012). Метали и елементи у траговима могу бити есенцијални, односно неопходни за физиолошке процесе у организму, попут гвожђа (Fe), цинка (Zn), бабра (Cu), мангана (Mn), селена (Se), кобалта (Co) и ванадијума (Va), док у повишеним концентрацијама могу имати штетно дејство (Munoz-Olivas & Camara 2011). Неесенцијални метали и елементи у траговима, међу које спадају: алуминијум (Al), арсен (As), кадмијум (Cd), антимоно (Sb), калај (Sn), платина (Pt), жива (Hg), олово (Pb) и бизмут (Bi) могу имати изражено токсично дејство.

Тешки метали представљају посебну групу метала и металоида, која укључује Pb, Cd, никл (Ni), Co, Fe, цинк, хром (Cr), As, сребро (Ag) и елементе из групе платина (Nagajyoti *et al.* 2010). Атомска густина ових једињења је већа од  $5 \text{ g/cm}^3$  и одликују се токсичношћу и при малим концентрацијама (Jägrup 2003; Walker *et al.* 2012). Међутим, оваква дефиниција тешких метала накнадно је замењена класификацијом која узима у обзир хемијске карактеристике, а не релативну густину. Овакав приступ је логичнији, пошто неки метали на основу релативне густине не спадају у тешке, али представљају значајне загађиваче животне средине (Walker *et al.* 2012). Неки тешки метали, есенцијални за раст и развој, могу имати и токсичне ефекте када се у организму јављају у повишеним концентрацијама. Тако, на пример, отпадне воде из индустријских и рударских активности које се често испуштају у акватичну животну средину поседују високе концентрације Fe. Иако спада у есенцијалне метале, Fe у високим концентрацијама може довести до поремећаја респираторних функција код риба (Authman *et al.* 2015). Насупрот Fe, други тешки метали као што су Pb, Hg и Cd не спадају у есенцијалне елементе и поседују изражена токсична својства (Jeziarska & Witeska 2006). Најзначајнији за животну средину јесу метали присутни у седименту и

земљишту, као и у површинској, подземној и капиларној води у земљишту (Dalmacija & Agbaba 2008).

Метали и елементи у траговима представљају посебну претњу по животну средину услед високе способности биоаккумуляције и биомагнификације у живим организмима (Erdoğrul & Erbilir 2007). Биоаккумуляција представља акумулацију метала и елемената у траговима у ткивима, унетих путем хране, воде или из седимента, што доводи до њихове повишене концентрације у организму (Maskay & Fraser 2000). Биомагнификација представља повећање концентрације одређеног елемента у организмима виших трофичких нивоа у односу на концентрацију истог елемента у организмима нижих трофичких нивоа (Hoffman *et al.* 2002). Узевши све наведено у обзир, концентрације метала и елемената у траговима у ткивима риба могу се користити за процену оптерећења екосистема овим загађивачима (Kalyoncu *et al.* 2012; Weber *et al.* 2013).

У воденој средини метали могу бити у суспендованом, колоидном или раствореном облику (Förstner & Wittmann 1981), а могу се налазити у облику слободних металних јона, окружени молекулима воде, у облику анјона или у облику органских или неорганских комплекса са хидратисаним металним јонима (Dalmacija & Agbaba 2008). Метали у организам риба доспевају из воде у току респирације, адсорпцијом из воде на површину тела, као и путем хране, честица и воде у дигестивном систему, док се елиминација из организма одвија преко шкрга, урина и црева (Dalmacija & Agbaba 2008).

Шкрге могу да акумулирају метале и елементе у траговима растворене у води процесом размене јона (Yancheva *et al.* 2016). Епител шкрга риба представља централно место за процес размене гасова, јонске регулације, успостављања киселинско-базне равнотеже и екскреције (Evans 1987). Метали и елементи у траговима доспевају у организам риба преко шкрга путем „јонске мимикрије” где слободни, позитивно наелектрисани неесецијални метали служе као структурни и/или функционални хомолози или опонашају други елемент (обично есенцијални) на месту носача протеина, јонског канала, ензима, структурног протеина, транскрипционог фактора и/или протеина за који се метали везују (Bridges & Zalups 2005).

Јетра риба може да акумулира значајне количине метала и елемената у траговима њиховим везивањем за металотионеине, који имају значајну улогу у

детоксификацији (Ploetz *et al.* 2007). Јетра представља добар биомаркер физиолошког стања рибе која живи у загађеној води с обзиром да има важну улогу у многим виталним функцијама (Hinton *et al.* 2001; Triebkorn *et al.* 2002). Насупрот шкргама и јетри, мишићно ткиво не представља добар индикатор контаминације организма металима и елементима у траговима, пошто нема изражену способност акумулације (Has-Schön *et al.* 2006; Uysal *et al.* 2009). Метали и елементи у траговима се акумулирају у телу риба у различитим концентрацијама, што зависи од афинитета метала за дато ткиво, начина усвајања, депозиције и ефикасности екскреције. На основу нивоа акумулације у рибама, најчешће имају следећи однос концентрација: Fe > Zn > Pb > Cu > Cd > Hg (Jezierska & Witeska 2006).

Осим самог афинитета ткива или органа, на ниво токсичности метала утичу и абиотички фактори у воденој средини, као што су температура, алкалност и тврдоћа воде, као и биолошке, физиолошке и еколошке карактеристике самих јединки, попут величине, узраста, пола и исхране, као и положаја дате врсте у трофичком ланцу (Monikh *et al.* 2013). Бентосне рибе претежно акумулирају метале и елементе у траговима из седимента (Monikh *et al.* 2013), док писциворне врсте садрже виши садржај ових елемената од хербиворних и омниворних врста којима се хране (Hosseini *et al.* 2015).

Загађење металима и елементима у траговима има широки значај за животну средину и представља специфичан проблем услед њихове токсичности, перзистентности, широке распрострањености и биоакумулације у високим концентрацијама у акватичним организмима (Begum *et al.* 2013; Golovanova, 2008). С обзиром да се рибе користе у људској исхрани, значај токсичних једињења која се акумулирају у њиховим ткивима јесте велики. Многе националне и међународне агенције дефинисале су граничне концентрације за метале и елементе у траговима у ткивима која се користе за исхрану људи. Елементи чије се максималне концентрације у мишићном ткиву риба прате према законодавству Европске Уније (1881/2006/EC) и усклађеном националном законодавству (Службени Гласник РС 2011) јесу As, Cu, Cd, Pb, Zn и Hg.

### 1.2.1. Арсен

Најважнији извор As у акватичној средини представљају отпадне воде из домаћинства, као и индустријска постројења која испуштају отпадне воде у комуналне канализационе системе (Moore 2012). Активно се метаболише у ткиву риба, нарочито у јетри, и одликује се способношћу биоакумулације. Акутно излагање може изазвати тренутну смрт услед повећања продукције мукуса индукованог As изазивајући гушење или директне штетне ефекте на епител шкрга. Хронична изложеност може довести до акумулације до токсичних нивоа и одговорна је за неколико болести (Hughes 2002).

### 1.2.2. Бакар

Бакар се јавља као природни минерал са широком употребом. Представља есенцијални елемент у траговима и микронутријент за ћелијски метаболизам, као и кључни састојак метаболичких ензима (Monteiro *et al.* 2009). Међутим, може бити изузетно токсичан за акватичне животиње при повишеним концентрацијама (Hernández *et al.* 2006; Abdel-Tawwab *et al.* 2007). Рибе акумулирају Cu путем исхране и из воде (Sfakianakis *et al.* 2015). Чак и при ниским концентрацијама у животној средини, Cu показује посебан афинитет за акумулацију у јетри риба (Jezierska & Witeska 2006). Хистолошке промене услед дејства Cu се најчешће јављају на шкргама и бубрезима (Sorensen 1991).

### 1.2.3. Кадмијум

Кадмијум представља неесенцијални и веома токсичан метал, који је широко распрострањен у животној средини. Извори Cd у животној средини представљају сагоревање фосилних горива и комунални отпад (Nriagu & Расуна 1988). Минерална ђубрива такође често садрже значајне количине Cd. Производња, потрошња и емисија Cd у животној средини драматично се повећала током XX века услед индустријске употребе, што је довело до значајне контаминације акватичних станишта (Järup 2003). У слатководним рибама акумулира се углавном у бубрезима и јетри (Chowdhury *et al.* 2004), али се може депоновати и у срцу (Cattani *et al.* 1996) и другим ткивима. Кадмијум узрокује различите патолошке промене у поменутиим органима (Thophon *et al.* 2004).

#### 1.2.4. Олово

Олово представља природни елемент, чија се концентрација у животној средини значајно повећала антропогеним изворима који укључују рударство, производњу батерија, боје на бази олова и фосилна горива (Monteiro *et al.* 2011). Акватични организми акумулирају Pb из воде и путем исхране. Олово се депонује у јетри, бубрезима и слезини, а такође и у дигестивном тракту и шкргама (Jeziarska & Witeska 2006). Концентрације Pb испод леталних граница имају хематолошке и неуролошке ефекте на рибе

#### 1.2.5. Цинк

Цинк представља есенцијални елемент. Извори Zn у води јесу геолошка подлога и људске активности, као што је испуштање индустријских и комуналних отпадних вода (Moore 2012). Акумулира се у шкргама риба, где може имати штетно дејство на процес респирације и довести до хипоксије и смрти (Sorensen 1991). Бубрези се сматрају центром акумулације Zn код риба (Omar *et al.* 2014). Повишене концентрације Zn у организму могу узроковати смрт, ретардацију раста, респираторне и срчане промене, инхибицију мреста и друге штетне ефекте који угрожавају опстанак риба (Afshan *et al.* 2014).

#### 1.2.6. Жива

Жива се у природи јавља у три облика, као елементарна, неорганска или органска, при чему сваки има специфичне карактеристике у погледу токсичности (Clarkson *et al.* 2003). Метил-жива ( $\text{MeHg}^+$ ) је најчешће органско једињење Hg које се јавља у животној средини, а формира се као резултат метилације неорганске форме Hg од стране микроорганизама који се налазе у земљишту и води (Dorr *et al.* 2004). Жива се користи у електричној индустрији и различитим индустријским процесима, у нуклеарним реакторима, као фунгицидни агенс за прераду дрвета, као растварач за реактивне и племените метале и као конзерванс фармацеутских производа (Tchounwou *et al.* 2003).

Жива је високо липофилни загађивач животне средине и веома лако улази у организам рибе. Подаци о хроничној токсичности указују да метил-жива представља најтоксичније једињење живе (USEPA 1986; Deng *et al.* 2015). Јетра има главну улогу у везивању, складиштењу и дистрибуцији једињења Hg која



улазе у периферну циркулацију (Sorensen 1991). Ткива риба имају висок акумулациони потенцијал за Hg (Gochfeld 2003).

### **1.3. ПЕРЗИСТЕНТНИ ОРГАНСКИ ПОЛУТАНТИ (ЕНГЛ. PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS – POPS)**

Перзистентни органски полутанти представљају групу органских једињења различитог порекла. Ова једињења су постојана у животној средини и одликује их слаба растворљивост у води, док у липидима имају високу растворљивост (Jones & De Voogt 1999). Ове особине им омогућавају да лако продиру у организам риба, да се акумулирају у масном ткиву и биомагнификују кроз трофичке ланце исхране (Fiedler 2002). Представљају полуиспарљива једињења и могу се атмосферски транспортовати на велике удаљености (Weber *et al.* 2011).

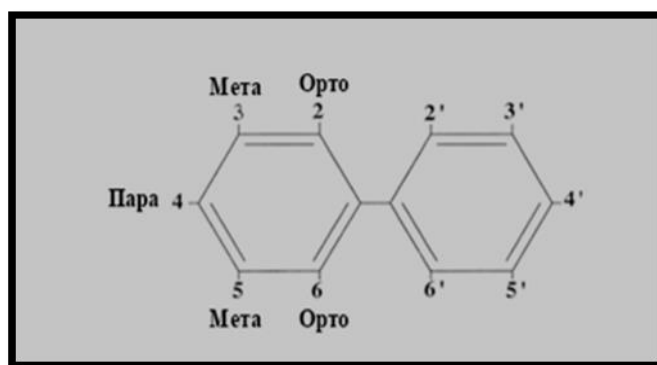
У циљу смањења и/или престанка употребе ових једињења, у Стокхолму је 2001. године потписана Стокхолмска конвенција о перзистентним органским полутантима, којом је обухваћено 12 загађивача: алдрин, ендрин, хлордан, дихлор-дифенил-трихлоретан (DDT), диелдрин, хептахлор, мирекс, токсафен, хексахлорбензен (HCB), полихлоровани бифенили (PCB), дибензо-*p*-диоксини (PCDD) и полихлоровани дибензофурани (PCDF). У групу перзистентних органских загађивача спадају и полициклични ароматични угљоводоници (ПАН) који се формирају спаљивањем и сагоревањем органских једињења (El-Shahawi *et al.* 2010). У оквиру истраживања представљених у овој дисертацији, праћене су концентрације полихлорованих бифенила и DDT-а.

#### **1.3.1. Полихлоровани бифенили**

Полихлоровани бифенили (PCB) су лабораторијски синтетисани још 1866. године, али су први пут произведени у индустријским размерама 1929. године у САД, од стране компаније „Monsanto” (Sibley & Hanson 2011). Произведени су као комплексне смеше које садрже вишеструке изомере са различитим степеном хлоринације и првобитно су пласирани под називом „Aroclor” (Bhavsar *et al.* 2007). Од почетка идустрijske производње па све до 1977. године, ова једињења била су широко коришћена у индустрији.

Хемијске особине РСВ-а, као што су стабилност и ниска реактивност, чине их идеалним за многе индустријске намене (Sibley & Hanson 2011). Ова једињења употребљавана су као диелектрична средства за трансформаторе, кондензаторе, реостате, расвету, средства за термоизолацију, мазива (хидрауличка уља, мазива за вакуум пумпе итд.), као адитиви за пластичне масе, додаци за боје, лакове, штампарске боје, лепкове, каблове, конац, текстил, каучук, папир, као адитиви за пестициде и инсектициде (DDT), као и додаци за различита средства за импрегнацију (Gavrančić & Skala 2000). У животној средини се споро разлажу у поређењу са већином других органских хемикалија и углавном су постојани у свим медијумима. Поседују релативно слабу растворљивост у води и високу липофилност, као и низак притисак паре, а полуживот ових једињења износи и до 30 година (Sibley & Hanson 2011).

Основа хемијске структуре јесте бифенил ( $C_{12}H_{10}$ ), који се састоји од два хексагонална прстена угљеникових атома повезаних угљеничним везама (Слика 1). Специфичан начин на који атоми угљеника деле електроне који формирају хексагонални прстен доводе до тога да бифенил постаје ароматично једињење. Полихлоровани бифенили имају између 1 и 10 атома хлора (Cl) који замењују атоме водоника на бифенилним прстеновима.



Слика 1. Структурна формула полихлорованих бифенила која приказује број и позицију атома хлора

Захваљујући различитом броју и позицијама атома Cl на бифенилном молекулу, постоји 209 могућих хемијских структура РСВ-а, такозваних конгенера. На основу структуре, конгенери се могу поделити на диоксинима сличне РСВ и РСВ који нису слични диоксинима.

Бензенови прстени могу да ротирају око угљеничне везе, а два екстремна положаја јесу планарни (оба прстена у истој равни) и непланарни (прстени међусобно под углом од  $90^\circ$ ). По овој карактеристици конгенери се могу поделити у планарне, копланарне и непланарне конгенере (Syracuse Research Corporation 2000).

PCB се такође могу поделити на основу степена хлоринације или броја атома Cl по молекулу бифенила, односно по специфичном садржају Cl. Индустрijski PCB представљају сложене смеше састављене од 50 до 60 конгенера (National Research Council 2001). Структура PCB одређује њихову токсичност, и то на основу броја и положаја атома Cl на бензеновим прстеновима, као и тога колико је конгенер близу планарности (National Research Council 2001).

Еколошки утицај специфичног PCB конгенера и еколошког утицаја на вишим нивоима биолошке организације тешко је идентификовати услед тога што индивидуални конгенери показују различите степене токсичности и усвајају се и метаболишу у различитим стопама док пролазе кроз ланце исхране (Sibley & Hanson 2011). За карактеризацију контаминације, према одредбама ове Конвенције, мери се шест индикаторских конгенера: PCB-28, PCB-52, PCB-101, PCB-138, PCB-153 и PCB-180. Ови конгенери имају способност да се дуго након емисије задржавају у високим концентрацијама у животној средини, храни и људском организму.

Главни извор PCB у акватичним системима су отпадне воде. С обзиром да PCB нису више у употреби, основни извор ових једињења је процес кружења у животној средини (Swackhamer & Armstrong 1986). Мале количине PCB могу dospети у површинске и подземне воде након изливања хидрауличних течности, испуштања отпадних уља у систем градске канализације, или отицањем са пољопривредних површина где је коришћен отпадни муљ (Gan & Berthouex 1994). Код риба, ракова и мекушаца PCB из воде и седимента доспевају у водене организме путем шкрга. Услед изражене липофилности депонују се претежно у масно ткиво (Beyer & Viziuk 2009), а с обзиром на изражену способност биоманификације, путем ланаца исхране преносе се на више трофичке нивое.

Лако се адсорбују на честице и површину земљишта, док се у води адсорбују на седименте и органске честице. Адсорпција смањује њихову доступност у акватичној животној средини, чиме се спречава или ограничава

директан унос. Међутим, ова једињења остају и даље доступна детритиворима (Beyer & Viziuk 2009).

Биодеградација РСВ се примарно одвија активношћу аеробних и анаеробних бактерија и других микроорганизама, што представља једини процес којим се ова једињења разлажу у земљишту и акватичној средини (Beyer & Viziuk 2009). Брзина елиминације из организма је знатно мања од брзине уноса. Такође, брзина елиминације се смањује са повећањем степена хлоринације бензенских прстенова (Dalmacija & Agbaba 2008). Концентрација РСВ у мастима предатора пропорционална је концентрацијама у животној средини и у плену (Dalmacija & Agbaba 2008). Људи и животиње им могу бити изложени директним контактом са загађеним ваздухом, седиментом или водом, или индиректно кроз исхрану (Brazova *et al.* 2012). Код људи, храна представља главни извор РСВ, и то најчешће конзумација рибе и масти животињског порекла.

Средином 60-их година прошлог века РСВ су први пут идентификовани код галебова и орлова (Jensen *et al.* 1969), да би након тога били откривени и у адипозном ткиву људи и животиња, мајчином млеку, као и слатководним и морским седиментима (Sibley & Hanson 2011). Након што су њихова токсичност и ефекат на животну средину научно доказани, Агенција за заштиту животне средине САД (USEPA, Environmental Protection Agency) је 1979. године трајно забранила производњу, прераду, дистрибуцију и употребу РСВ у САД. Иако се РСВ више не користе у комерцијалне сврхе, услед њихове отпорности, око 31% од укупне произведене количине (370 000 тона) је и даље присутно у седименту и води (Tanabe 1988). РСВ могу бити изузетно токсични и негативно утицати на репродуктивну способност, као и проузроковати смрт чак и при врло ниским концентрацијама. Код водених организама поједини конгенери изазивају патолошке промене, као што су нарушен раст и репродукција, настанак тумора, биохемијске промене, анемија, хипергликемија и нарушен метаболизам холестерола (Dalmacija & Agbaba 2008).

### **1.3.2. Пестициди**

Савремена пољопривредна пракса се ослања на употребу синтетичких пестицида (углавном хербицида, фунгицида и инсектицида) како би се спречили губици које наносе фитопатогени и штеточине (Oerke & Dehne 2004). Глобална

производња пестицида достигла је значајне нивое после Другог светског рата, уз изражени даљи раст од око 500 000 тона годишње 1950. године до преко 3 милиона тона годишње на почетку XXI века (Tilman *et al.* 2002). Овакав тренд ће се вероватно наставити током наредних деценија услед повећања људске популације и повећане потражње за храном (Tilman *et al.* 2002; Noyes *et al.* 2009). Један од највише коришћених пестицида је дихлор-дифенил-трихлоретан (DDT), инсектицид широког дејства који је био веома популаран због своје ефикасности, изражене отпорности, ниске акутне токсичности за сисаре и ниске цене (Faroon & Harris 2002). Први пут је откривен 1939. године, а потенцијални негативни утицај DDT на дивље животиње први пут је широј јавности приказан у књизи Рејчел Карсон „Тихо пролеће”, што је на крају довело до његове забране у САД 1972. године (USEPA 1975; Seagren 2005).

DDT је први пут примењен за време Другог светског рата, када је коришћен у контроли епидемије тифуса. Након тога, његова употреба је порасла, и коришћен је као инсектицид све до 1970. године (Van Metre *et al.* 1997). Још увек се комерцијално производи у Кини, Индији, Индонезији и Мексику (Fisher *et al.* 2003). DDT је широко коришћен у пољопривреди за контролу инсеката, услед тога што обезбеђује дуготрајну контролу над циљним организмима чиме смањује потребу за поновном применом.

Производња, трговина и употреба DDT-а строго су ограничени Стокхолмском конвенцијом о перзистентним органским полутантима. Употреба DDT-а је дозвољена само у појединим земљама у развоју, у складу са препорукама Светске здравствене организације (WHO), где се користи за контролу ендофилних вектора паразитских болести – маларије и лишманијазе.

DDT, у хемијском смислу, представља мешавину три форме: *p,p'*-DDT (85%), *o,p'*-DDT (15%) и *o,o'*-DDT. Сва ова једињења су бела, кристална, без укуса и скоро без мириса, са високим степеном отпорности према деградацији. Продукти деградације DDT представљају једињења дихлор-дифенил-дихлоретилен (DDE) и дихлор-дифенил-дихлоретан (DDD). Карактеристике ових једињења веома су сличне карактеристикама DDT, као што су изражена перзистентност, липофилност и склоност ка биоакумулацији (Syracuse Research Corporation 2002). DDT доспева у водене екосистеме након спирања пестицида са пољопривредних површина, или депозицијом из атмосфере. У површинској води,

DDT се везује за честице у води, након чега их усвајају ситни организми и рибе. Акумулација у живим системима, због феномена биомагнификације, достиже неколико хиљада пута више концентрације него у воденом медијуму (Vitorović & Milošević 2002). Усвајање овог једињења од стране риба условљено је њиховом величином, па тако мање јединке усвајају релативно више пестицида у односу на веће (Dalmacija & Agbaba 2008). Људи нису изложени DDT и његовим метаболитима појединачно, већ мешавини сва три једињења.

DDT се дуго може задржати адсорбован за честице земљишта, а време задржавања зависи од температуре и типа земљишта (ATSDR 1994). Већина DDT-а се поступно разграђује на DDD и DDE активношћу микроорганизама у земљишту, док један део ових једињења може доспети у слојеве земљишта у којима нису подложни активностима микроорганизама (Faroon & Harris 2002). DDT и његови метаболити могу доспети у ваздух испаравањем са контаминираног земљишта или воде. У атмосфери, DDT доспева и као резултат употребе у областима у којима је то још увек дозвољено. Око 50% DDT се налази везано на чврстим честицама, а 50% се налази у фази паре (Bidleman 1988). DDT, DDD и DDE се из ваздуха депонују на копнене или површинске воде процесом суве или влажне депозиције. Овај процес, заједно са испаравањем, омогућава овим једињењима пренос на велике удаљености у атмосфери, па су пестициди тако пронађени чак и у снегу и животињама на Арктику и Антарктику, тј. на местима где нису никада коришћени (ATSDR 1994). Међутим, током последњих пар деценија, након забране употребе, њихова концентрација у ткиву људи и животиња опада. Научно је доказано да је DDT токсичан и за инсекте и за друге ектотермне организме, као што су рибе (Fisher *et al.* 2003). DDT је познат као ендокрини дисруптор и узрочник патолошких промена на развојном и репродуктивном нивоу, у нервном систему, а препознат је и као узрочник рака код људи (Fisher *et al.* 2003).

#### 1.4. ХИСТОЛОШКЕ МЕТОДЕ ЗА ПРОЦЕНУ ЗАГАЂЕЊА АКВАТИЧНЕ ЖИВОТНЕ СРЕДИНЕ

Рибе су често изложене веома загађеној води услед испуштања индустријских, пољопривредних и отпадних вода из домаћинства у акватичну средину, што може довести до различитих промена на ткивима и органима (Bernet *et al.* 1999, Yancheva *et al.* 2016). Биолошки и еколошки одговори на дејство загађивача могу варирати од промена на молекуларном нивоу до нивоа популације и заједница, што може утицати на динамику и структуру читавог ланца исхране (Teh *et al.* 1997). Различити приступи се користе за процену ефекта стреса на здравље популација риба (Adams *et al.* 1993). Најчешће коришћене методе укључују анализу старости, раста, кондиционог фактора, органосоматских индекса, као и бројне анализе биохемијских, физиолошких и патолошких параметара (Le Cren 1951; Adams 1990, Goede 1990; Niimi 1990; Van der Oost *et al.* 2003). У оквиру ових метода, за процену ефеката загађивача на акватичне организме користе се хистопатолошке методе, и то најчешће за процену ефеката метала и елемената у траговима, органохлорних пестицида и полихлорованих бифенила, као и општих физичко-хемијских параметара воде (Mallat *et al.* 1985; Pollock *et al.* 2007; Miranda *et al.* 2008; Abalaka *et al.* 2015). Хистопатолошке методе се примењују за процену промена насталих на нивоу ткива риба, услед акутне или хроничне изложености загађивачима (Ameur *et al.* 2012). Хистолошке карактеристике специфичних органа одражавају њихово стање и представљају временски интегрисане ендogene и екзогене утицаје на организме који произилазе из промена на нижим нивоима биолошке организације (Teh *et al.* 1997). Поред тога, хистолошке промене се јављају раније него репродуктивне промене и осетљивије су од параметара раста (Van Dyk *et al.* 2009). Већина лезија пријављених у литератури по природи је неспецифична и није везана за врсту токсиканта, ниво изложености (акутни или хронични), медијум (слатка или морска вода) или врсту рибе (Schlenk & Benson 2003).

У мониторингу акватичних екосистема хистологија представља широко коришћену методу, с обзиром да пружа могућност брзе детекције последица излагања полутантима тако што локализује, описује и квантификује лезије које се јављају на истраживаним органима биондикаторских врста (Barišić *et al.* 2015).

Иако се хистопатолошким анализама не може открити идентитет токсичне материје, може се идентификовати тип загађења кроз његов начин деловања (Fonseca *et al.* 2016). Такође, сама метода је субјективна и квантификација лезија на органима зависи од знања и искуства истраживача (Wolf *et al.* 2014; Wolf *et al.* 2015). Циљни органи при анализи обично су они који су у директном контакту са воденом средином (шкрге и кожа), као и органи на које загађење делује на посредан начин јер имају улогу у биотрансформацији штетних молекула (јетра), њиховој екскрецији (бубрег) или репродукцији (гонаде). Шкрге слатководних риба поседују велику респираторну површину која је у директном и константном контакту са водом и представљају први орган на који утичу загађивачи, па се стога користе као примарни маркер акватичног загађења (Bernet *et al.* 1999; Poleksić & Mitrović-Tutundžić 1994). Промене на шкргама су међу најчешћим одговорима на еколошке стресоре и указују на присуство физичког и хемијског стреса (Mallat 1985; Au 2004). Основне функције јетре укључују усвајање, трансформацију, складиштење и редистрибуцију хранљивих материја, поготово угљених хидрата, као и биотрансформацију ксенобиотика. Такође, јетра је централни орган за метаболизам липида и липофилних једињења, у које спада велики број ксенобиотика, док је функција у варењу формирање и излучивање жучи. Јетра је веома осетљива на излагање загађујућим материјама и одређене лезије на јетри добро су корелисане са излагањем контаминантима (Au 2004). У студијама процене токсичности у којима се као биомаркер користи хистопатологија, неопходно је направити разлику између лезија проузрокованих токсикантима и нормалних варијација у структури (Van Dyk *et al.* 2009; Wolf *et al.* 2015).

## **1.5. МОНИТОРИНГ АКВАТИЧНИХ ЕКОСИСТЕМА**

Акватични екосистеми су угрожени на глобалном нивоу, како услед присуства различитих врста загађивача тако и услед неадекватног коришћења земљишта или управљања водама. У циљу одрживог управљања воденим ресурсима неопходно је успоставити мониторинг квалитета акватичних екосистема. Мониторинг представља процес дефинисања једног или више елемената – индикатора и различитих мерења, која се понављају у складу са



унапред одређеним распоредом у простору и времену, уз коришћење упоредиве методологије (Hegediš *et al.* 2013). Програм мониторинга статуса површинских водних тела у Србији усклађен је са захтевима Оквирне директиве о води ЕУ (2000/60/ЕС) 2012. године (Denić *et al.* 2015). У Анексу V ове Директиве описана су три типа мониторинга површинских вода: надзорни, оперативни и истраживачки. Програм надзорног мониторинга се односи на утврђивање статуса водних тела и процену дугорочних промена. Програм оперативног мониторинга усмерен је искључиво на водна тела за која је установљено да се налазе под ризиком, а програм истраживачког мониторинга фокусиран је на водна тела за која је установљено да имају неповољан статус, како би се идентификовали извори који су узрок таквог стања (WFD 2000/60/ЕС). Овим Анексом дефинисани су и елементи квалитета који морају бити коришћени за процену еколошког статуса и потенцијала, који се одређују на основу следећих параметара (Институт за водопривреду „Јарослав Черни” 2015):

- биолошких, у које спадају алге, водене макрофите, водени бескичмењаци и рибе;
- физичко-хемијских, који су од значаја за биолошке параметре за дату категорију површинских вода и дати тип површинских вода;
- хидроморфолошких, који су од значаја за биолошке параметре за дату категорију и тип површинских вода;
- микробиолошких.

Како би се проценио ризик од загађивача по живе организме и како би се извршила класификација квалитета животне средине, примењује се пет типова мониторинга животне средине (de Zwart 1995):

- хемијски мониторинг – процена изложености мерењем нивоа изабраног скупа познатих загађивача у абиотичким компонентама животне средине;
- биоакумулацијски мониторинг – процена изложености мерењем нивоа загађивача у живим организмима или одређивање критичне дозе на критичној локацији (биоакумулација);
- мониторинг биолошког ефекта – процена изложености и ефекта утврђивањем раних штетних промена које су делимично или потпуно реверзибилне (биомаркери);

- мониторинг здравља – процена ефекта испитивањем појаве иреверзибилних болести или оштећења ткива код организама;
- екосистемски мониторинг – процена интегритета екосистема праћења популација, на пример, састава врста, бројности и диверзитета.

С обзиром да биоакумулацијски мониторинг, мониторинг биолошког ефекта, мониторинг здравља и екосистемски мониторинг користе живе организме у процени промена животне средине или квалитета воде, они се заједничким именом називају биолошки мониторинг или биомониторинг (de Zwart 1995). Иако представља саставни део мониторинга, мерење физичко-хемијских параметара квалитета воде даје само слику о тренутном загађењу (Denić *et al.* 2015)

Биолошки мониторинг је током последњих 20 година у широј употреби од хемијског мониторинга услед тога што хемијски мониторинг не узима у обзир антропогене измене речних система (нпр. регулисање речног тока) које могу изазвати озбиљну деградацију станишта, са истовремено малим или никаквим утицајем на квалитет воде (Ziglio *et al.* 2008). Биолошки мониторинг представља систематску употребу живих организама у циљу утврђивања стања или промена у животној средини (Oertel & Salánki 2003). Биолошки мониторинг укључује употребу индикатора, индикаторских врста или индикаторских заједница (Ambasht & Ambasht 2003) и даје бољи увид у присуство загађивача и њихов могући еколошки утицај, па стога у систему управљања водама хемијски мониторинг мора бити комбинован са биолошким мониторингом.

Врсте организама које се користе за биолошки мониторинг река, језера и акумулација су фитопланктон, макрофите и фитобентос, као делови водене флоре, затим водени бескичмењаци и рибе. Они се оцењују на основу специфичних параметара као што су састав врста, бројност, биомаса и узрасна структура, а као крајњи резултат добија се класа еколошког статуса или еколошког потенцијала (Denić *et al.* 2015).

Приликом мониторинга акватичне животне средине, адекватан приступ би обухватао праћење промена на различитим нивоима биолошке организације: биохемијске промене, хистопатолошке промене, укључујући и промене на нивоу ћелије и целог организма, као и промене у заједници (Addison 2002). Теренска истраживања су важна за процену ризика и разумевање биолошких ефеката

загађивача у природним условима, а такође дају и увид у стварно стање акватичне животне средине (Liebel *et al.* 2013).

Услед индустријске употребе постојаних и биоакумулативних хемикалија растворљивих у води, које се тешко метаболишу и елиминишу из животне средине, неопходне су нове технике у програмима мониторинга животне средине (Burkhardt-Holm and Bloesch 2000; Tillitt and Papoulias 2003; Lam and Wu 2003; Teh *et al.* 2005). При екотоксиколошким истраживањима развијено је неколико метода од *in-vitro* тестова, биомаркера и биосензора, до биолошких тестова целокупног организма који су примењиви у програмима еколошког мониторинга. Међу њима, биомаркери имају најширу употребу (Sanchez & Porcher 2009). Биомаркери представљају биохемијске, ћелијске и физиолошке промене или варијације у понашању, које се могу измерити како на нивоу ткива и у узорцима телесних течности, тако и на нивоу целог организма, које пружају доказе о ефектима загађујућих материја (Depledge 1993).

Међутим, услед великог броја загађивача присутних у акватичној животној средини и њиховог синергистичког дејства, ниједан појединачни биомаркер не може да утврди целокупни ниво деградације животне средине (Depledge 1993). Биомаркери пружају брзу процену токсичности и рану индикацију стреса на популацију и заједницу, захваљујући чему имају добар потенцијал да се користе као маркери за специфичне хемикалије (Huggett *et al.* 2018). Биомаркери се примењују заједно са хемијским и биолошким мониторингом, али и заједно са *in-vitro* биолошким, генетичким и хистолошким истраживањима у циљу унапређења процене ризика по животну средину. Биомаркери пружају информацију значајно раније пре него што се јаве ефекти на нивоу популације или екосистема (Adams 2000) и то нарочито код организама који живе у неповољним условима, где могу обезбедити рано упозорење пре него што популације и екосистеми буду озбиљно оштећени (Ham *et al.* 1997; Adams *et al.* 1999; Adams 2000). Неки биомаркери су високо специфични (реагују само на једну хемикалију или групу хемикалија). Међутим, већина биомаркера је мање специфична и реагује уопштено на еколошки стрес (Lam 2009). Биомаркери се могу поделити на две групе, у зависности од броја супстанци или група супстанци на које реагују (Wernersson *et al.* 2015):

- општи (интегративни) биомаркери – реагују на неколико класа токсичних супстанци, а често и на друге врсте стресора, услед чега се користе за екосистеме изложене комплексним мешавинама загађивача;
- специфични биомаркери – првенствено реагују на неколико група супстанци, и погодни су за откривање и идентификацију дејства одређених врста супстанци у загађеној животној средини.

Међу биомаркерима, хистопатолошки биомаркери представљају важне индикаторе општег здравља риба и осликавају ефекте изложености различитим типовима антропогених загађивача (Van der Oost *et al.* 2003). Акутне промене су видљиве када су нивои загађивача довољно високи, док је неопходно хронично дејство загађења како би се проценили сублетални аспекти промена (Van der Oost *et al.* 2003).

## **1.6. РИБЕ КАО ИНДИКАТОРИ ЗАГАЂЕЊА АКВАТИЧНИХ ЕКОСИСТЕМА**

Рибе су широко заступљене у истраживањима која се баве проценом биолошких и биохемијских одговора на загађиваче присутне у животној средини (Powers 1989). Њихов положај на врху ланца исхране и употреба у исхрани људи чини их важним за процену контаминације (Li *et al.* 2010). Загађивачи који су у природи присутни само у траговима, у ткивима риба могу достићи и стотину или хиљаду пута веће концентрације него у њиховом окружењу, па праћење загађења у рибљим ткивима и органима може послужити као значајан индикатор контаминације седимента и воде. Поред тога, праћење контаминације у ткивима риба такође омогућава надлежним службама и јавности да правовремено открију токсичне материје у рибљем месу и рибљим производима које могу изазвати штетне последице при коришћењу и на тај начин предузети одговарајуће мере за заштиту здравља грађана и заштиту животне средине (Hegediš *et al.* 2013). Рибе представљају погодне индикаторе за процену деградације животне средине, с обзиром да су осетљиве на стрес, да имају релативно дугачак животни век, као и да се последице дугорочног извора стреса у животној средини манифестују и на нивоу популације (Karr *et al.* 1986).

Концентрације хемикалија у ткивима представљају одличне индикаторе еколошког оптерећења загађивачима, мада обично не одражавају директно физиолошке и еколошке последице. Већина техника биомониторинга је усмерена на, у мањој или већој мери, опште одговоре на стрес, који се не могу приписати специфичном загађивачу (Chovanec *et al.* 2003). Рибе спадају у најчешће коришћене групе биоиндикатора у екотоксиколошким теренским акватичним истраживањима. Ни један други водени организам није погодан за примену толиког броја различитих метода за процену озбиљности токсичног утицаја, које се крећу од одговора на молекуларном нивоу, до сублеталних и патолошких промена у организму (Chovanec *et al.* 2003).

Према Noël *et al.* (2009), индикатори би требало да имају следеће одлике:

- да буду специфични и да одражавају искључиво промене које су се догодиле у праћеном параметру;
- да буду довољно осетљиви да могу да укажу на све промене које се односе на испитиване параметре;
- да буду поуздани, односно да не дају лажно позитивне или лажно негативне сигнале;
- да буду доступни за редовну употребу и лако ажурирање;
- да буду разумљиви, односно јасно дефинисани и довољно једноставни за употребу.

Узимајући у обзир да у Србији рибарење представља традиционалну делатност и да је већ вековима присутно претежно на већим рекама, попут Дунава и Саве, намеће се потреба дефинисања индикатора (биоиндикатора) ради редовног праћења стања и процеса у риболовном ресурсу и рибљем фонду, као и у циљу праћења квалитета рибљег меса у риболовним уловима. Индикаторске врсте би указивале на промене у систему који се прати и омогућиле правовремено реаговање у случају озбиљних поремећаја у ресурсима и квалитету воде и рибљег меса. Србија формално поседује Националну листу индикатора заштите животне средине, дефинисану Правилником о националној листи индикатора заштите животне средине (Сл. гласник РС, бр. 37/2011). Индикатори везани за риболовни ресурс, рибљи фонд и риболов обрађују се у тематској целини „Шумарство, ловство и риболов”. Наведени индикатори са својим подиндикаторима у већој или мањој мери не задовољавају већину поменутих одлика које би требало да

карактеришу добро одабране индикаторе. Приликом одређивања индикатора треба избегавати прешироко дефинисане, нејасне и непрецизне индикаторе.

## 1.7. БИОЛОГИЈА И ЕКОЛОГИЈА ИСТРАЖИВАНИХ ВРСТА

### Сом – *Silurus glanis* (Linnaeus, 1758)

Насељава средње и велике низијске реке, рукавце и језера са богатом вегетацијом. Углавном насељава веће дубине река, језера и акумулација. Представља највећу европску слатководну врсту рибе (Copp *et al.* 2009). Насељава Европу и Азију, а сада је широко интродукован и присутан као инвазивна врста широм Европе. У Србији насељава реке Дунав, Саву, Тису, Дрину, Колубару, Велику Мораву, већину вода у Војводини и значајан број акумулација широм земље (Simonović 2001) (Слика 2).



Слика 2. Сом (<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=8755863>)

Одликује га широка дорзо-вентрално спљоштена глава са два дуга брка на горњој вилици која су повијена уназад и премашују почетак основе леђног пераја (Simonović 2001). Леђно пераје је мало, а анално изузетно дугачке основе. Адипозно пераје одсуствује. Одликују га два пара бркова на доњој вилици, глава је широка и дорзо-вентрално спљоштена док је тело без крљушти. Ноћни је предатор који храну тражи близу дна и у воденом стубу. Храни се раковима, рибом, водоземцима, воденим птицама и сисарима, највише непосредно после сумрака и пред зору (Simonović 2001).

### Смуђ – *Sander lucioperca* (Linnaeus, 1758)

Одрасле јединке насељавају велике, мутне реке и еутрофна језера, приобална бракична језера и естуаре, претежно на тврђем дну. Аутохтона је риба Дунавског слива и сливова Балтичког и Северног мора, али је успешно интродукован широм Европе (Simonović 2001). У неколико земаља забележен је негативан еколошки утицај након интродукције. У Србији насељава воде Војводине, Дунав, Саву, Тису, Дрину, Колубару, Велику Мораву и већи број акумулација (Hegediš *et al.* 2013).

Тело је издужено, жуто-зелене боје, са неправилним тамнијим вертикалним пругама. Глава је релативно велика и чини 27–35% дужине тела. Задњи угао вилица досеже или премашује ниво задње ивице ока. У устима има по два велика очњака (ређе један) на предњем делу обе вилице ([www.fishbase.org](http://www.fishbase.org)) (Слика 3).



Слика 3. Смуђ

([http://www.ittiofauna.org/webmuseum/pesciossei/percifomes/percidae/sander/sander\\_lucioperca/index.htm](http://www.ittiofauna.org/webmuseum/pesciossei/percifomes/percidae/sander/sander_lucioperca/index.htm))

Храни се пелагичним јатним врстама риба (укљева), као и бентосним рибама (главочи). Предузима кратке миграције ради мреста. Постоје подаци да јединке мигрирају из бракичних у слатководне системе у потрази за храном (Simonović 2001). Привредно значајна врста за комерцијални и рекреативни риболов (Hegediš *et al.* 2013).

### Штука – *Esox lucius* (Linnaeus, 1758)

Насељава чиста језера са богатом акватичном вегетацијом, мирне баре и мртваје, мале и велике реке, у приобаљу обраслом густом вегетацијом, међу којом чека свој плен, рибу, којом се, почев од старости од свега неколико месеци, готово

искључиво храни; повремено лови и жабе, ракове и ситније водене птице. Углавном је солитарна и изузетно територијална врста. Насељава стајаће и споротекуће слатке воде Евроазије и Северне Америке, а залази и у бракичне воде Балтика (Simonović 2001) (Слика 4).



Слика 4. Штука (<http://tierdoku.com/images/Esox-lucius-2039.jpg>)

Тело одраслих јединки је тамно-зелене до смеђе боје, са сјајним златним мрљама и неправилним пругама по телу. Одликује се дугачком вилицом у облику пачијег кљуна, великим устима са бројним великим, оштрим зубима постављеним у неколико низова (Simonović 2001). Има изузетан значај за рекреативни риболов, а такође је значајна врста и за привредни риболов (Hegediš *et al.* 2013).

#### **Деверика – *Abramis brama* (Linnaeus, 1758)**

Настањује велике и средње реке, језера, баре и канале. Живи у јатима, обично при песковитом или муљевитом дну (Simonović 2001). Најбројнија је у рукавцима, доњим деловима споротекућих река и топлим плитким језерима. Распрострањења је у Европи и Азији. У Србији настањује Војводину, Дунав, Саву, Тису и слив Велике Мораве. Унета је у велики број акумулација широм Србије (Hegediš *et al.* 2013) (Слика 5).





Слика 5. Деверика

(<http://www.fishbase.us/Photos/ThumbnailsSummary.php?ID=268#>)

Тело је високо и бочно спљоштено. Сва пераја су сивкаста, код одраслих јединки тамнија. Уста су терминално постављена (Simonović 2001). Јувенилне јединке се хране зоопланктоном, док се одрасле јединке хране црвима, мекушцима, ларвама инсеката (посебно ларвама из породице *Chironomidae*) и рачићима (Simonović 2001). Деверика спада у квалитетнију белу рибу. Има релативно велики значај у привредном и рекреативном риболову (Hegediš *et al.* 2013).

### **Крупатица – *Blicca bjoerkna* (Linnaeus, 1758)**

Живи у споротекућим и стајаћим низијским водама, у јатима над муљевитим дном. Распрострањена је у Европи и Азији. У Србији насељава Војводину, Дунав, Саву и слив Велике Мораве (Simonović 2001) (Слика 6).



**Слика 6.** Крупатица

(<https://www.fishbase.de/photos/UploadedBy.php?autoctr=12748&win=uploaded>)

Тело је врло високо, док су крљушти релативно крупне и добро причвршћене за тело. Леђа су сиво-плавичаста, а бокови и трбух сребрни. Храни се фауном дна (црвима, ларвама инсеката, рачићима, ситним мекушцима) и биљном храном (Simonović 2001). Крупатица има привредно-риболовни значај (Hegediš *et al.* 2013).

## 2. ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА

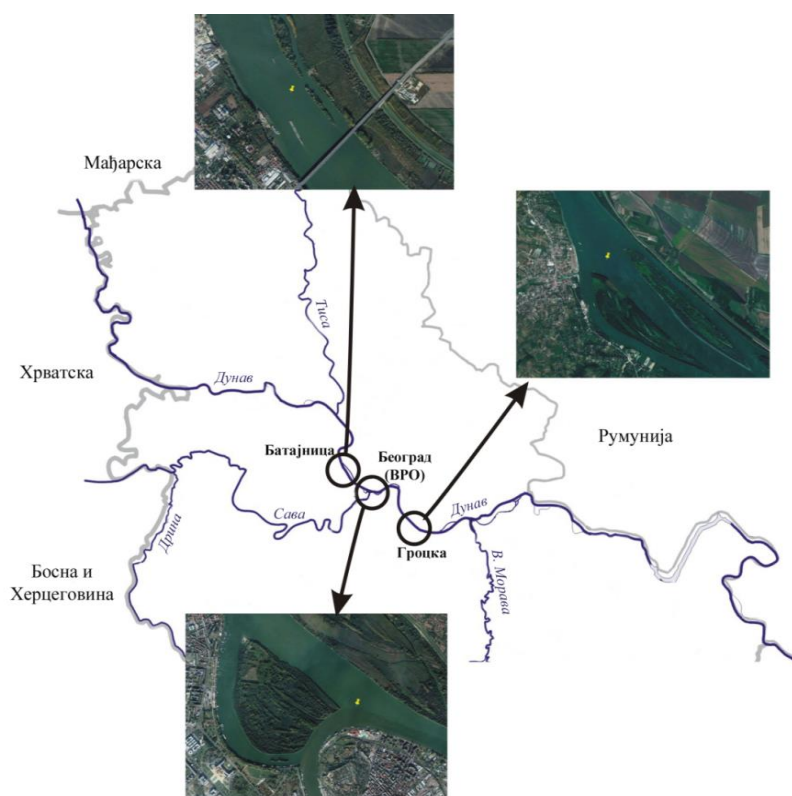
Процена контаминације ткива риба, како металима и елементима у траговима, тако и органским загађивачима, од изузетног је значаја услед њихове потенцијалне претње по здравље људи. Циљеви овог истраживања су:

- Процена дистрибуције полутаната (токсичних метала, елемената у траговима, полихлорованих бифенила и пестицида) у телу риба и идентификација образаца њихове акумулације у различитим ткивима и органима;
- Одређивање концентрације полутаната у ткивима која нису довољно проучавана до сада, како би се идентификовали додатни центри акумулације код риба, а самим тим и идентификовала додатна ткива која могу да се користе као индикатори здравственог стања и квалитета рибљег меса у програмима мониторинга популација риба;
- Одређивање концентрације полутаната у различитим сегментима мишића, шкрга, јетре и црева риба како би се утврдио њихов потенцијал коришћења у мониторингу популација риба;
- Утврђивање потенцијалне везе између концентрације полутаната у крљуштима и аналном перају са концентрацијама у мишићу у циљу развоја неинвазивних метода мониторинга квалитета рибљег меса;
- Однос хистопатолошких промена и загађења у ткивима риба, у циљу утврђивања потенцијала коришћења хистолошких анализа у развоју метода мониторинга популација риба

## 3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

### 3.1. КАРАКТЕРИСТИКЕ ПОДРУЧЈА ИСТРАЖИВАЊА

Подручје истраживања у овој студији обухватило је реку Дунав на територији Београда. Узорци су узимани на три локације на Дунаву: Батајница, Велико ратно острво и Гроцка (Слика 7).



Слика 7. Мапа локалитета на којима су узорковане јединке истраживаних врста

#### 3.1.1. Карактеристике истраживане реке

Дунав представља другу најдужу реку у Европи са укупном дужином од 2800 km (Literathy & Laszlo 1995). Укупна дужина тока Дунава кроз Србију износи 588 km, што је отприлике 20% његове укупне дужине (Milenkovic *et al.* 2005). Површина слива износи 801 500 km<sup>2</sup> а тече кроз територије девет земаља (Babić-Mladenović *et al.* 2010). Дунавски басен је подељен на три субрегиона: горњи, средњи и доњи Дунав (Gasparotti 2014). Средњи басен је највећи и простире се од

Братиславе до Ђердапа, на граници између Србије и Румуније. На току Дунава кроз Србију издвајају се три посебна сектора:

- „Средњи или панонски Дунав” (од мађарске границе на km 1433 до Голупца на km 1042), укупне дужине 391 km,
- „Ђердапски Дунав” (од Голупца на km 1042 до Кладова на km 931), укупне дужине 111 km и
- „Доњи Дунав” (од Кладова на km 931 до ушћа Тимока на km 845), укупне дужине 86 km (Babić-Mladenović *et al.* 2010).

Дужина тока Дунава кроз Србију обухвата средњи и део доњег тока, а 220 km дуг пловни пут представља природну границу између Србије и Румуније. Најдужа притока Дунава је Тиса која дотиче из Мађарске и у Србији се улива у Дунав, близу Сланкамена (1215 gkm).

Најзначајнији фактори који утичу на квалитет воде дунавског слива јесу: органско загађење, загађење нутријентима, загађење опасним материјама, микробиолошко загађење, као и хидроморфолошке промене (Gasparotti *et al.* 2013). Загађење дуж Дунава условљено је углавном следећим факторима (ICPDR 2005):

- тачкасти извори (градски, индустријски и пољопривредни),
- дифузни извори (пољопривредни),
- последице регулације речног тока,
- геоморфолошке промене.

Главни проблем који се тиче загађења јесте испуштање отпадних индустријских вода без претходних третмана у реке и језера (Milanović *et al.* 2010). Комуналне отпадне воде углавном су мешовитог типа и укључују домаће и индустријске отпадне воде (Kaštelan-Macan *et al.* 2007). Већи део отпадних вода се испушта у животну средину без икаквог претходног третмана или након само механичког третмана (Terzić *et al.* 2008). Последица овакве праксе управљања отпадним водама је висок степен органског оптерећења пријемне воде сложеног хемијског састава (Terzić *et al.* 2008). Органско загађење може довести до значајних промена у билансу кисеоника у рекама, што може утицати на састав акватичних врста. Опасне супстанце које се испуштају у Дунав укључују пестициде, амонијак, и остале органске микро-загађиваче као што су РСВ и РАН, метали и елементи у траговима, нафтни деривати и пестициди (Gasparotti 2014).

Највећа индустријска постројења, која уједно представљају и највеће загађиваче, сконцентрисана су великим делом на обали Дунава (Petrović 2015; Milanović *et al.* 2010), док Београд представља најразвијенију индустријску зону у Србији (Petrović 2015). Већина постројења испушта нетретиране отпадне воде у Дунав (Stanković 2006; Teodorović *et al.* 2000). Индустријски комплекси близу Панчева смештени су скоро на самим обалама Дунава и представљају фабрике са израженим негативним утицајем на животну средину (Milanović *et al.* 2010). Метали и елементи у траговима спадају у главне загађиваче у Дунаву, посебно на подручју Београда и Новог Сада (Teodorović 2009). Поред тешких метала, у неким деловима тока Дунава повишен је и садржај органских загађивача, а нарочито полихлорованих бифенила, органохлорних пестицида и полиароматичних угљоводоника (Teodorović 2009).

### **3.2. ПАРАМЕТРИ КВАЛИТЕТА ВОДЕ**

Подаци о квалитету воде Дунава преузети су од Агенције за заштиту животне средине Републике Србије. Узорковање воде обављено је на две мерне станице на Дунаву, Земун и Смедерево (Табела 1), током 2012, 2013. и 2014. године. Вредности органохлорних пестицида (p,p-DDT, o,p-DDT, p,p-DDD, p,p-DDE) на мерној станици Земун биле су испод граница детекције током месеци када је мерење вршено, као и на мерној станици Смедерево, осим за септембар 2012. и целу 2013. годину када мерења на тој станици нису обављена.

**Табела 1.** Параметри квалитета воде на Дунаву на две мерне станице (Земун и Смедерево) за период од 2012. до 2014. године. Вредности су приказане као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација.

Мерна станица	Јединица	Дунав (Земун)			Дунав (Смедерево)		
		Година			Година		
		2012.	2013.	2014.	2012.	2013.	2014.
Растворени кисеоник (O <sub>2</sub> )	mg/l	9,47 $\pm 1,78$	9,28 $\pm 2,24$	8,96 $\pm 1,83$	9,45 $\pm 1,55$	8,97 $\pm 1,85$	8,79 $\pm 1,58$
Растворени угљен-диоксид	mg/l	0,72 $\pm 1,14$	3,76 $\pm 3,31$	3,04 $\pm 2,62$	0,42 $\pm 0,97$	4,10 $\pm 2,99$	3,45 $\pm 1,08$
Карбонати	mg/l	5,23 $\pm 6,84$	0,42 $\pm 1,44$	2,67 $\pm 4,94$	4,95 $\pm 3,43$	0,00 $\pm 0,00$	0,00 $\pm 0,00$
Бикарбонати	mg/l	187,17 $\pm 24,17$	193,42 $\pm 17,58$	193,25 $\pm 18,13$	187,58 $\pm 22,13$	190,92 $\pm 16,53$	199,75 $\pm 21,78$
Укупни алкалитет	mg/l	161,50 $\pm 19,5$	160,67 $\pm 20,99$	163,08 $\pm 19,54$	162,17 $\pm 19,34$	154,75 $\pm 14,72$	163,92 $\pm 17,84$
pH	-	8,32 $\pm 0,17$	8,06 $\pm 0,14$	8,08 $\pm 0,17$	8,34 $\pm 0,16$	7,99 $\pm 0,10$	7,97 $\pm 0,14$
Електро-проводљивост	mS/cm	378,3 $\pm 56,18$	393,92 $\pm 50,09$	399,17 $\pm 57,25$	375,83 $\pm 44,78$	376,00 $\pm 25,92$	385,42 $\pm 33,91$
Укупне растворене соли	mg/l	227,50 $\pm 44,88$	232,67 $\pm 31,20$	237,50 $\pm 38,82$	232,42 $\pm 38,71$	228,67 $\pm 17,57$	231,00 $\pm 21,38$
Амонијум јон	mg/l	0,09 $\pm 0,04$	0,13 $\pm 0,09$	0,17 $\pm 0,04$	0,11 $\pm 0,05$	0,15 $\pm 0,11$	0,13 $\pm 0,06$
Нитрити	mg/l	0,01 $\pm 0,01$	0,02 $\pm 0,02$	0,02 $\pm 0,02$	0,02 $\pm 0,01$	0,02 $\pm 0,01$	0,02 $\pm 0,02$
Нитрати	mg/l	0,90 $\pm 0,70$	0,79 $\pm 0,83$	1,19 $\pm 0,56$	0,90 $\pm 0,52$	0,74 $\pm 0,68$	0,92 $\pm 0,40$
Органски азот	mg/l	1,06 $\pm 0,90$	1,23 $\pm 0,94$	0,53 $\pm 0,59$	0,73 $\pm 0,52$	0,82 $\pm 0,60$	0,54 $\pm 0,51$
Укупни азот	mg/l	2,08 $\pm 1,25$	1,95 $\pm 0,87$	1,77 $\pm 0,78$	1,79 $\pm 0,80$	1,58 $\pm 0,80$	1,50 $\pm 0,52$
Укупни фосфор	mg/l	0,17 $\pm 0,18$	0,08 $\pm 0,04$	0,10 $\pm 0,02$	0,13 $\pm 0,11$	0,07 $\pm 0,03$	0,10 $\pm 0,03$
БПК*	mg/l	2,05 $\pm 0,85$	1,88 $\pm 0,86$	1,54 $\pm 0,45$	1,78 $\pm 0,47$	1,78 $\pm 0,87$	1,31 $\pm 0,45$
Укупни органски угљеник	mg/l	4,30 $\pm 1,19$	4,23 $\pm 1,87$	5,14 $\pm 2,23$	4,18 $\pm 1,17$	3,30 $\pm 1,74$	5,37 $\pm 3,12$

\*Биолошка потрошња кисеоника

На основу параметара квалитета воде на Дунаву на две мерне станице, вода Дунава је 2012. године спадала у I класу квалитета воде. У односу на растворени кисеоник и укупни азот на мерној станици Смедерево, вода је током неколико месеци спадала у II класу квалитета воде. На основу параметара нитрата и

биолошке потрошње кисеоника (ВРК) у истој години, вода Дунава је спадала у I класу квалитета воде.

У 2013. години, вода Дунава је према већини анализираних параметара спадала у I класу 1. квалитета воде. На основу раствореног кисеоника, вода је током неколико месеци спадала у II класу 2. квалитета воде.

У 2014. години, вода Дунава је такође спадала у I класу квалитета воде. У односу на растворени кисеоник, вода Дунава је током неколико месеци спадала у II класу квалитета воде. Такође, на основу укупног азота вода Дунава се током неколико месеци сврставала у II класу квалитета воде.

### 3.3. ПРЕГЛЕД ФАУНЕ РИБА НА ИСПИТИВАНОМ ЛОКАЛИТЕТУ

Риболовне воде око Београда насељава око 53 врсте риба, од којих око 25 има мањи или већи риболовни значај. Међу њима алохтоне врсте играју важну улогу (Lenhardt *et al.* 2011). У фауни риба на подручју Србије интродуковане врсте чине од 12% до 20% укупног броја врста.

У Табели 2. дат је преглед врста риба чије се присуство очекује на испитиваним локалитетима на Дунаву на територији Београда (комбиновано на основу истраживања и према литературним подацима) (Hegediš *et al.* 2013).

**Табела 2.** Преглед врста на испитиваним локалитетима на Дунаву, Београд

Фамилија	Врста
Acipenseridae	<i>Acipenser ruthenus</i> (кечига)
Esocidae	<i>Esox lucius</i> (штука)
Cyprinidae	<i>Chondrostoma nasus</i> (скобаљ)
	<i>Rutilus rutilus</i> (бодорка)
	<i>Barbus balcanicus</i> (речна мрена)
	<i>Ballerus sapa</i> (црноока деверика)
	<i>Blicca bjoerkna</i> (крупатица)
	<i>Ballerus ballerus</i> (кесега)
	<i>Carassius gibelio</i> (бабушка)



	<i>Vimba vimba</i> (шљивар)
	<i>Leuciscus idus</i> (јаз)
	<i>Abramis brama</i> (деверика)
	<i>Aspius aspius</i> (буцов)
	<i>Cyprinus carpio</i> (шаран)
Siluridae	<i>Silurus glanis</i> (сом)
Percidae	<i>Perca fluviatilis</i> (греч)
	<i>Sander lucioperca</i> (смућ)
	<i>Sander volgensis</i> (смућ камењар)
	<i>Gymnocephalus schraetser</i> (шрац)
Lotidae	<i>Lota lota</i> (манић)

### 3.4. УЗОРКОВАЊЕ

Теренска истраживања на испитиваним локалитетима обављена су у периоду од новембра 2012. године до марта 2014. године. У периоду од новембра 2012. до априла 2013. године, узорци риба сакупљени су на сва три истраживана локалитета на Дунаву на територији града Београда – Батајница, Београд (Велико ратно острво) и Гроцка (Табела 3). Узорци су прикупљени уз помоћ професионалних рибара, стајаћим и вученим мрежама. Свим јединкама измерене су тотална дужина тела (TL) у cm и тежина тела (W) у g.

Током марта 2013. године на локалитету Београд (Велико ратно острво) (1169 km, 44° 49' 54,48" N, 20° 27' 23,68" E) узорковано је 13 јединки сома (*Silurus glanis*). Узорци су сакупљени коришћењем сенкера, влака и вучених мрежа уз помоћ професионалних рибара. Након узорковања, свим јединкама измерене су тотална дужина тела (TL) у cm и тежина тела (W) у g, затим су рибе дисековане лабораторијским прибором за дисекцију. Узорци 14 ткива узети су од сваке јединке сома: мишић, шкржне ламеле, јетра, слезина, бубрег, црево, желудац, срце, мозак, жучна кеса (са жучи), рибљи мехур, кичмени пршљен, оперкулум и гонаде. Кожа је одвојена од узорка са мишићем, као и шкржни лук и филаменти. Сваки узорак јетре је одвојен у два дела, проксимални и дистални. С обзиром да је

прево сома јасно подељено на три региона — проксимални, медијални и дистални, узети су узорци из сваког од њих. За сваку јединку израчунат је и Фултонов кондициони фактор (FCF) (Ricker 1975):

$$FCF = (W \times TL^{-3}) \times 100$$

где је: W – тежина рибе, а TL – тотална дужина рибе.

На истом локалитету, у периоду од новембра 2013. године до марта 2014. године прикупљено је по 10 јединки штуке (*Esox lucius*), деверике (*Abramis brama*), крупатице (*Blicca bjoerkna*) и смуђа (*Sander lucioperca*). Узорци су сакупљени коришћењем сенкера, влака и вучених мрежа уз помоћ професионалних рибара. Након узорковања, свим јединкама измерене су тотална дужина тела (TL) у cm и тежина тела (W) у g и рибе су дисековане лабораторијским прибором за дисекцију. Од јединки деверике и смуђа узети су узорци мишића, јетре, шкрга, крљушти и аналног пераја као и филети рибе, док су од јединки штуке и крупатице узети узорци крљушти, аналног пераја и мишића. Сви узорци ткива су испрани дестилованом водом и складиштени на  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  до даље анализе.

**Табела 3.** Узорковане врсте и број јединки на свим испитиваним локалитетима у периоду од новембра 2012. до априла 2013. године

Врста	Локалитет			
	Батајница		Велико ратно острво	Гроцка
	Пролеће	Зима	Зима	Зима
<b>ACIPENSERIDAE</b>				
<i>Acipenser ruthenus</i> (кечига)	1	-	3	2
<b>CYPRINIDAE</b>				
<i>Abramis brama</i> (деверика)	7	20	26	6
<i>Abramis sapa</i> (црноока деверика)	-	5	5	-
<i>Abramis ballerus</i> (кесега)	6	4	-	-
<i>Aspius aspius</i> (буцов)	-	3	-	2
<i>Barbus barbus</i> (мрена)	3	3	-	3
<i>Blicca bjoerkna</i> (крупатица)	10	55	17	-
<i>Carassius gibelio</i> (бабушка)	9	3	1	-

<i>Chondrostoma nasus</i> (скобаль)	11	1	1	-
<i>Cyprinus carpio</i> (шаран)	5	-	-	-
<i>Leuciscus idus</i> (јаз)	-	1	-	-
<i>Rutilus rutilus</i> (бодорка)	-	-	12	
<i>Vimba vimba</i> (шљивар)	-	3	-	1
<b>ESOCIDAE</b>				
<i>Esox lucius</i> (штука)	6	4	-	-
<b>GADIDAE</b>				
<i>Lota lota</i> (манић)		23		
<b>ICHTALURIDAE</b>				
<i>Ictalurus nebulosus</i> (цверглан)	-	-	1	-
<b>PERCIDAE</b>				
<i>Gymnocephalus cernuus</i> (балавац)	-	-	1	-
<i>Gymnocephalus schraetzer</i> (шрац)	-	3	4	-
<i>Perca fluviatilis</i> (греч)	4	2	2	-
<i>Sander lucioperca</i> (смуђ)	6	21	5	3
<i>Sander volgensis</i> (смуђ камењар)	-	-	1	-
<i>Zingel zingel</i> (велики вретенар)	-	9	-	-
<b>SILURIDAE</b>				
<i>Silurus glanis</i> (сом)	2	-	4	2

### 3.4.1. Припрема узорака и анализа садржаја метала и елемената у ткиву риба методом масене спектрометрије са индуктивно спрегнутом плазмом (ICP-MS)

Узорци ткива су лиофилизирани употребом ротационог вакуум концентратора (GAMMA 1-16LSC, Germany). Након лиофилизације, измерени су узорци ткива од око 0,3 g (суве масе), који су даље припремани у микроталасном систему за дигестију (Speedwave™ MWS3+; Berghof GmbH, Eningen, Germany) уз додавање 6 ml 65% HNO<sub>3</sub> и 4 ml 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Merck, Darmstadt, Germany). Коришћен је следећи температурни програм: 5 min на 160 °C; 15 min на 190 °C; и 20 min на 100 °C.

Након хлађења до собне температуре, дигестовани узорци су пренесени у полипропиленске боце запремине 100 ml и разблажени до одговарајуће запремине са ултрачистом водом. Како би се проценило потенцијално присуство елемената у траговима у реагенсима или онечишћење претходним узорком (односно "carry-over") урађена је и серија од пет узорака следеће пробе по истој процедури. Анализа

је урађена методом масене спектрометрије са индуктивно спрегнутом плазмом на инструменту iCap Q (Thermo Scientific, Bremen, Germany).

Мерени су следећи изотопи: хром ( $^{52}\text{Cr}$ ), манган ( $^{55}\text{Mn}$ ), гвожђе ( $^{57}\text{Fe}$ ), кобалт ( $^{59}\text{Co}$ ), никл ( $^{60}\text{Ni}$ ), бакар ( $^{63}\text{Cu}$ ), цинк ( $^{66}\text{Zn}$ ), арсен ( $^{75}\text{As}$ ), селен ( $^{77}\text{Se}$ ), кадмијум ( $^{111}\text{Cd}$ ), и олово ( $^{208}\text{Pb}$ ). Основни инструментални параметри приказани су у Табели 4.

**Табела 4.** Услови рада *ICP-MS* апарата

Радиофреквентна снага	1550 W
Проток гаса за хлађење	14 l/min
Проток гаса распршивача	1 l/min
Проток носећег гаса	1 ml/min
Операциони мод	KED ( <i>kinetic energy discrimination</i> )
Време задржавања	10 ms (Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Se) 100 ms (As, Cd, Pb)
Конус за узорковање	Платински, дијаметар отвора 1 mm
Излазни конус	Платински, дијаметар отвора 0,75 mm

У циљу оптимизације мерења и смањења могуће сметње, радни параметри апарата (позиција горионика, оптика јона и подешавања за детектор) подешавани су пре сваке анализе. За квантитативну анализу узорака направљена је калибрациона крива са 5 тачака (укључујући и нулу) за сваки изотоп у опсегу концентрације од 0,1–2,0  $\mu\text{g/l}$  за  $^{75}\text{As}$ ,  $^{111}\text{Cd}$  и  $^{208}\text{Pb}$ , и 0,1–2,0  $\text{mg/l}$  за  $^{52}\text{Cr}$ ,  $^{55}\text{Mn}$ ,  $^{57}\text{Fe}$ ,  $^{59}\text{Co}$ ,  $^{60}\text{Ni}$ ,  $^{63}\text{Cu}$ ,  $^{66}\text{Zn}$  и  $^{77}\text{Se}$ . Додатна линија перисталтичке пумпе коришћена је за увођење смеше интерних стандарда ( $^6\text{Li}$ ,  $^{45}\text{Sc}$  – 10  $\text{ng/ml}$ ;  $^{71}\text{Ga}$ ,  $^{89}\text{Y}$ ,  $^{209}\text{Bi}$  – 2  $\text{ng/ml}$ ) која покрива широк опсег масе, истовремено са узорцима. Метод интерполације коришћен је за корекцију фактора одговора за интерне стандарде више и ниже масе. Контрола квалитета је вршена анализом стандардног референтног материјала SRM 1577c (NIST, Gaithersburg, MD, USA). Референтни материјал је припреман методом случајног избора током микроталасне дигестије у свакој серији узорака и

пуштан на почетку, на средини и на крају сваке серије узорака. Измерене концентрације су биле у оквиру опсега сертифицираних вредности за све изотопе.

Жива је измерена употребом атомске апсорпционе спектрометрије помоћу технике хладне паре на апарату *SpectrAA 220 (Varian, Palo Alto, USA)* са *VGA 77* хидридним системом и  $\text{SnCl}_2$  (раствореним) у хлороводоничној киселини као редуктантом.

Стандардни опсег концентрација калибрације био је 0,5–15,0 ng/ml (пет тачака). Апсорпција је измерена на 257,3 nm. Квалитет аналитичког процеса је контролисан употребом *BCR-186* сертифициваног референтног материјала (*IRMM, Geel Belgium*). Припрема и анализа референтног материјала спроведена је на исти начин као што је претходно описано. Добијене концентрације живе одговарају сертифицираним вредностима (Табела 5).

**Табела 5.** Задате и измерене концентрације за стандардним референтним материјалом – SRM 1577c и BCR-186. Интервал поузданости (*U*) од 95%

Елементи	Препоручене вредности (NIST 1577c) $\pm U$	Измерене вредности $\pm U$
$^{75}\text{As}$ , $\mu\text{g/kg}$	19,6 $\pm$ 1,4	20,5 $\pm$ 1,1
$^{111}\text{Cd}$ , $\mu\text{g/kg}$	97 $\pm$ 1,4	97,9 $\pm$ 2,6
$^{208}\text{Pb}$ , $\mu\text{g/kg}$	62,8 $\pm$ 1,0	63,3 $\pm$ 2,6
$^{63}\text{Cu}$ , mg/kg	275,2 $\pm$ 4,6	271,9 $\pm$ 5,7
$^{57}\text{Fe}$ , mg/kg	197,94 $\pm$ 0,65	197,43 $\pm$ 5,21
$^{66}\text{Zn}$ , mg/kg	181,1 $\pm$ 1,0	180,9 $\pm$ 1,8
$^{55}\text{Mn}$ , mg/kg	10,46 $\pm$ 0,47	10,55 $\pm$ 0,25
$^{52}\text{Cr}$ , $\mu\text{g/kg}$	53 $\pm$ 14	51 $\pm$ 2,8
$^{59}\text{Co}$ , mg/kg	0,3 $\pm$ 0,018	0,31 $\pm$ 0,016
$^{60}\text{Ni}$ , $\mu\text{g/kg}$	44,5 $\pm$ 9,2	52,7 $\pm$ 4,3
$^{77}\text{Se}$ , mg/kg	2,031 $\pm$ 0,045	2,055 $\pm$ 0,066
Елемент	Препоручене вредности (BCR-186) $\pm U$	Измерене вредности $\pm U$
Hg, $\mu\text{g/g}$	1,97 $\pm$ 0,04	2,02 $\pm$ 0,07

### 3.4.2. Припрема узорака за анализу полихлорованих бифенила и пестицида

Око 2,5 g меса (филет) рибе је хомогенизовано са истом количином полиакрилне смоле (*Sigma Aldrich, Munich, Germany*). Добијени материјал је сипан у ћелије запремине 33 ml затворене стакленим микрофибер филтерима (18 mm унутрашњег дијаметра, *Dionex, Idstein, Germany*) на крајњем излазу из екстракционе ћелије. Екстракција масти је извршена убрзаном екстракцијом *n*-хексаном на 100 °C и притиску од 10 МПа током 10 min у два статичка циклуса применом апарата ASE 200 Dionex (*Sunnyvale, USA*).

Након упаравања, 0,1 g масти из ASE-екстракта растворен је у *n*-хексану. Раствор са органохлорним пестицидима и полихлорованим бифенилима је пречишћаван стакленим колонама напуњеним делимично деактивираним алуминијум оксидом.

Елуат је упарен до сува и растворен у 1 ml *n*-хексана. Детекција органохлорних пестицида и полихлорованих бифенила извршена је применом *GC-ECD* (гасна хроматографија са детектором електронског захвата) (*GC Varian Model 3800*) са <sup>63</sup>Ni као радиоактивним емитером. Инјектован је 1 µl припремљеног узорка. За раздвајање и анализу органохлорних пестицида и полихлорованих бифенила коришћена је колона *ZEBRON ZB-1* (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm).

Оперативни услови рада: температура инјектора 250 °C, температура детектора 300 °C; програм рада колоне: од 50 °C до 200 °C брзином од 60 °C/min са задржавањем од једног минута; крајња температура колоне 230 °C (брзина 3 °C/min са задржавањем од 10,5 min). Проток високо пречишћеног азота као носећег гаса био је 1 ml/min.

Границе детекције за свако једињење су одређене као средње вредност три пута увећаног шума десет узорака слепих проба. Границе детекције методе у опсегу су од 0,27–2,59 µg/kg за органохлорне пестициде и 0,19–2,45 µg/kg за полихлороване бифениле.

Контрола аналитичког процеса постигнута је коришћењем сертификованог референтног материјала *ERM-BB430 (IRMM, Belgium)*. Обрада података је вршена *Varian Star* софтвером.

### 3.4.3. Припрема хистолошких препарата

На локалитету Београд (Велико ратно острво), за хистолошку анализу узети су узорци шкрга и јетра деверике и смуђа. Узорковање је обављено у периоду од новембра 2013. године до марта 2014. године и прикупљено је по десет јединки од обе врсте. Узорци ткива узимани су одмах након жртвовања животиње. Узорци јетре узети су након прављења реза на вентралној страни рибе, док је са десне стране тела одстрањен оперкулум и за хистолошку анализу узет је други шкржни лук. Узорци ткива фиксирани су у 4% формалину, у коме су чувани до почетка процесуирања ткива, које је започето смештањем у аутоматски процесор ткива Leica TP 1020 (Leica, Аустрија). У овом процесору, вршена је дехидратација ткива тако што је ткиво спроведено кроз растући градијент етанола (70% – 2 x 30 минута, 85% – 30 минута, 95% –30 минута, 100% –2 x 30 минута), и ксилола (2 x 30 минута). На овај начин ткива су дехидрирана чиме се омогућава потпуна инфилтрација парафина, што представља следећи корак у припреми узорака: правилно оријентисање и калупљење у парафину који је претходно растопљен на 60 °C. Непосредно пре сечења, калупи су смештани на хладну плочу, како би се очврснула површина за сечење, па су калупи постављани на пластичне држаче и сечени на микротому RM2265 (Leica, Аустрија) на минималну дебљину од 5 µm. Сваки пресек ткива смештан је прво у претходно загрејано водено купатило на температури од 40 °C а затим на микроскопске плочице и у аутоматизовани центар за бојење препарата ST 4040 (Leica, Аустрија), где се најпре врши рехидратација ткива, а затим хематоксилин-еозин бојење (Bancroft & Stevens 1977). Микрографије узорака су прављене на два микроскопа: Leica DM LB (Leica, Немачка) са DFC 295 камером (Leica, немачка) и Leica DM LS (Leica, Аустрија) са DC 300 камером (Leica, Аустрија).

Хистолошки пресеци јетре и шкрга оцењивани су полуквантитативном анализом по методи Bernet *et al.* (1999). Према овој методи, свакој промени је одређен хистопатолошки значај, и додељена вредност од 1 до 3 (1 – минимална; 2 – умерена; 3 – велика значајност) (*w* – фактор значајности, *енгл.* importance factor). Патолошке промене се могу сврстати у пет основних група:

1. циркулаторне промене: хеморагије, хиперемије или анеуризме и интер-целуларни едем;

2. регресивне промене: структурне промене на ћелијама, промене у цитоплазми, депозити у ћелијама, промене на једру, атрофија ћелије, некроза ћелије;
3. прогресивне промене: хипертрофије и хиперплазије;
4. инфламаторне промене: појава ексудата, активација ретикулоендотелног система и инфилтрација леукоцита у ткиво;
5. неоплазије: присуство бенигнух и малигнух тумора у организму.

Поред фактора значајности одређиван је и интензитет захваћености сваког ткива (*енгл.* score value), а он се кретао од 0 (нормална морфологија), преко 2 (блага промена ткива) и 4 (умерена промена ткива) до 6 (озбиљна алтерација ткива). Множењем ова два фактора добијала се вредност која је означавала хистопатолошки скор за сваку категорију промена:

$$I_{org} = \sum_{alt} (a_{org\ alt} \times W_{org\ alt})$$

док је укупни хистопатолошки индекс два испитивана органа одређиван коришћењем следеће формуле:

$$I_{org} = \sum_{org} \sum_{alt} (a_{org\ alt} \times W_{org\ alt})$$

где су: org – орган (јетра, шкрге), alt – врста хистопатолошке промене, а – интензитет промене, w – фактор значајности.

### 3.5. АНАЛИЗА ПОДАТАКА

На основу ухваћених врста на три истраживана локалитета на Дунаву на територији града Београда, анализирани су релативна заступљеност (абунданција) и масени удео појединачних врста у укупном улову.

Масени удео појединачних врста у укупном улову израчунат је по следећој формули:

$$MU_i = B_i / B_{tot} \times 100$$

где је:  $MU_i$  – масени удео  $i$ -те врсте,  $B_i$  – биомаса  $i$ -те врсте,  $B_{tot}$  – укупна биомаса свих јединки.



Релативна заступљеност (абунданција) се рачуна као:

$$P_i = n_i / N_t \times 100$$

где је:  $P_i$  – абунданција,  $n_i$  – број јединки  $i$ -те врсте,  $N_t$  – укупан број јединки.

Једначине се множе са 100 како би се добио процентуални удео.

Нормалност дистрибуције измерених вредности тестирана је Kolmogorov-Smirnov тестом. С обзиром да је нормална дистрибуција изостала, примењени су непараметарски тестови.

Поређење концентрације метала и микроелемената међу 14 различитих ткива јединки сома извршено је применом Крускал-Валис Н теста (Kruskal-Wallis), након чега су појединачни парови поређени Ман-Витни (Mann-Whitney) U тестом (Sokal & Rohlf 1987). Као праг значајности примењена је вредност  $p < 0,01$ . За тестирање присуства повећане акумулације метала и микроелемената код већих јединки, коришћена је Спирманова непараметријска корелација ( $p < 0,01$ ), како би се проценила веза између концентрације елемената и дужине и тежине риба (Sokal & Rohlf 1987). С обзиром да постоје индикације да контаминација металима може довести до значајно нижих вредности Фултоновог кондиционог фактора (FCF) (Couture and Rajotte 2003; Pyle *et al.* 2005; Lenhardt *et al.* 2009), процењена је такође и веза између концентрације метала у сваком ткиву и FCF).

Анализа основних компоненти (Principal Component Analysis – PCA) је примењена како би се проценила диференцијација међу рибљим ткивима на основу концентрације елемената. Као улазне варијабле коришћене су вредности концентрација елемената у сваком ткиву.

У циљу поређења са максимално дозвољеним концентрацијама у месу риба за употребу у људској исхрани, успостављеним од стране Европске уније и Националног законодавства, концентрације у месу риба (узорци мишића) прерачунате су и изражене у односу на влажну масу узорка. Према законодавству ЕУ (1881/2006/ЕС), МДК за Cd, Hg, и Pb су 0,05; 0,50, и 0,30  $\mu\text{g/g ww}$ . Национално законодавство прописује МДК за As, Cd, Hg, Pb, Cu, Fe, и Zn у рибљем месу од 2,0; 0,1; 0,5; 1,0; 30,0; 30,0; и 100,0  $\mu\text{g/g ww}$  (Службени гласник РС 2011).

Укупни ниво концентрација метала у ткивима поређен је коришћењем индекса загађења металима (*енгл.* metal pollution index – MPI), израчунатог према Usero *et al.* (1996, 1997):

$$\text{MPI} = (\text{Cf}_1 \times \text{Cf}_2 \dots \text{Cf}_n)^{1/n}$$

где је:  $\text{Cf}_n$  – концентрација метала  $n$  изражена као  $\mu\text{g/g}$  влажне масе.

Поређење концентрација метала и елемената у кожи и мишићима, шкржном луку и шкржним филаментима, проксималном и дисталном делу јетре, и три сегмента црева (проксимални, средњи и дистални) код 13 јединки сома обављено је употребом Mann-Whitney U теста ( $p < 0,05$ ).

Потенцијална веза између концентрације метала и елемената у траговима у мишићу са концентрацијама у крљуштима и аналном перају код пет одабраних врста (штука, деверика, крупатица, сом и смуђ) испитана је методом Спирманове непараметријске корелације ( $p < 0,01$ ) (Sokal and Rohlf 1987).

Потенцијалне разлике у нивоу хистопатолошких промена концентрација метала и елемената у траговима, као и концентрација полихлорованих бифенила и пестицида у ткивима деверике и смуђа, испитане су применом Mann-Whitney U теста ( $p < 0,05$ ). Концентрације полихлорованих бифенила и пестицида су такође поређене са максимално дозвољеним концентрацијама у месу риба за употребу у људској исхрани, прописаним од стране Европске уније и Националног законодавства. Према Националном законодавству, МДК за суму РСВ (PCB28, PCB52, PCB101, PCB138, PCB153 и PCB180) износи 125 ng/g суве масе (Службени гласник РС, бр. 22/2018). За пестициде, Национално законодавство не прописује МДК у ткиву риба, већ се концентрације пореде са концентрацијама у производима животињског порекла (копнене животиње) и вредност за суму DDT-а износи 1 mg/kg. Према законодавству ЕУ (1259/2011/ЕС) МДК за суму РСВ има исту граничну вредност прописану Националним законодавством, док за пестициде вредност износи 0,05 mg/kg (396/2005/ ЕС).

Све нумеричке анализе урађене су у програму STATISTICA Software Package, Version 6.0, StatSoft Inc (Sokal & Rohlf 1987).

### 3.6. АНАЛИЗА ЕКОТОКСИКОЛОШКЕ ЛИТЕРАТУРЕ

Како би се утврдио степен истражености акумулационог потенцијала органа и ткива риба, урађена је студија доступне литературе везане за акумулацију елемената у проучаваним ткивима. Добијене концентрације елемената поређене су са литературним подацима за различите врсте риба. Радови су преузети са ISI Web of Knowledge базе података, а за упит при тражењу публикација коришћени су термини „риба”, „метал” и „акумулација”. Анализирани су радови који су укључивали како слатководне тако и морске врсте риба. Почетни узорак чинио је 100 најновијих радова из ове области, од чега су за даље анализе одабрана 23 рада. Такође, на основу истог узорка проучавана је и проблематика стандардизованог приступа узорковања појединих ткива риба. Радови су анализирани како би се одредило да ли аутори обезбеђују довољан ниво информација о процедури узорковања ткива.

## **4. РЕЗУЛТАТИ**

### **4.1. РЕЛАТИВНА ЗАСТУПЉЕНОСТ (АБУНДАНЦИЈА) И МАСЕНИ УДЕО ВРСТА**

У Табели 6 дат је приказ релативне заступљености и масеног удела појединих врста риба у зимским и пролећним уловима на свим истраживаним локалитетима, у периоду од новембра 2012. до априла 2013. године.

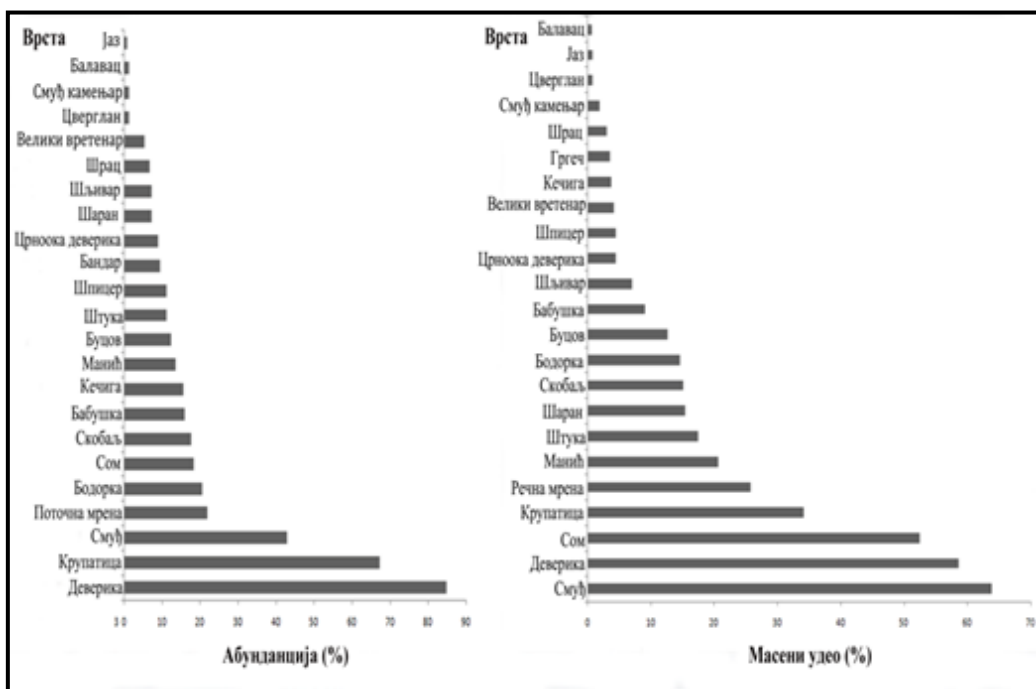
На локалитету Батајница, у зимској сезони по абунданцији у улову је доминирала крупатица. Поред ове врсте, високом абунданцијом су се одликовали и манић и смуђ, који представљају типичну зимску рибу. Највећи масени удео је имао смуђ, док су нешто мањи имали манић и деверика. У пролећној сезони, најбројнији је био скобаљ, а нешто мање крупатица и бабушка, док је највећи масени удео имао шаран, као и деверика и штука.

На локалитетима Велико ратно острво и Гроцка, јединке су узорковане само у зимској сезони. По абунданцији, на оба локалитета издвајала се деверика. Поред ње, крупатица и бодорка су се по абунданцији издвојиле на локалитету Велико ратно острво, док су се на локалитету Гроцка издвојили још смуђ и речна мрена. Највећи масени удео, на локалитету Велико ратно острво, поседовала је деверика, затим сом и смуђ. На локалитету Гроцка, највећи масени удео је имао сом, затим деверика и смуђ.

**Табела 6.** Релативна заступљеност и масени удео врста у зимским и пролећним уловима на свим истраживаним локалитетима, у периоду од новембра 2012. до априла 2013. године.

Локалитет	Батајница				Велико ратно острво		Гроцка	
	Абунданција (%)		Масени удео (%)		Абунданција (%)	Масени удео (%)	Абунданција (%)	Масени удео (%)
	Зима	Пролеће	Зима	Пролеће	Зима		Зима	
<b>ACIPENSERIDAE</b>								
<i>Acipenser ruthenus</i>	0	1,4	0	0,4	3,6	1,3	10,5	2,1
<b>CYPRINIDAE</b>								
<i>Abramis brama</i>	11,8	10	15,5	14,4	31,3	28,7	31,6	24,7
<i>Abramis sapa</i>	2,9	0	1,6	0	6	2,9	0	0
<i>Abramis ballerus</i>	2,4	8,6	1,1	3,4	0	0	0	0
<i>Aspius aspius</i>	1,8	0	2,1	0	0	0	10,5	10,6
<i>Barbus barbus</i>	1,8	4,3	3,9	8,0	0	0	15,8	13,9
<i>Blicca bjoerkna</i>	32,4	14,3	15,3	4,8	20,5	14,1	0	0
<i>Carassius gibelio</i>	1,8	12,9	1,5	6,5	1,2	1,1	0	0
<i>Chondrostoma nasus</i>	0,6	15,7	0,6	13,0	1,2	1,5	0	0
<i>Cyprinus carpio</i>	0	7,1	0	13,0	0	0	0	0
<i>Leuciscus idus</i>	0,6	0	0,8	13,0	0	0	0	0
<i>Rutilus rutilus</i>	5,9	0	3,4	13,0	14,5	11,2	0	0
<i>Vimba vimba</i>	1,8	0	1,58	13,0	0	0	5,3	5,5
<b>ESOCIDAE</b>								
<i>Esox lucius</i>	2,4	8,6	3,5	14,0	0	0	0	0
<b>GADIDAE</b>								
<i>Lota lota</i>	13,5	0	20,7	0	0	0	0	0
<b>ICHTALURIDAE</b>								
<i>Ictalurus nebulosus</i>	0	0	0	0	1,2	0,8	0	0
<b>PERCIDAE</b>								
<i>Gymnocephalus cernuus</i>	0	0	0	0	1,2	0,7	0	0
<i>Gymnocephalus schraetzer</i>	1,8	0	0,5	0	4,8	2,6	0	0
<i>Perca fluviatilis</i>	1,2	5,7	0,6	1,7	2,4	1,3	0	0
<i>Sander lucioperca</i>	12,4	8,6	23,1	10,1	6,0	14,5	15,8	16,2
<i>Sander volgensis</i>	0	0	0	0	1,2	2,0	0	0
<i>Zingel zingel</i>	5,3	0	4,22	0	0	0	0	0
<b>SILURIDAE</b>								
<i>Silurus glanis</i>	0	2,9	0	8,2	4,8	17,3	10,5	27

На основу просечне биомасе и бројности у улову одређен је релативни допринос сваке врсте.



Слика 8. Абунданција и масени удео врста на сва три испитивана локалитета у периоду од новембра 2012. до априла 2013. године

На основу резултата истраживања, издвојиле су се деверика, смуђ и крупатица као главни индикатори са аспекта квалитета меса, а и као врсте које је одликовала висока абунданција и значајан масени удео у улову (Слика 8). Од осталих узоркованих врста, сом и мрена су такође чинили значајан проценат у улову.

#### 4.2. АНАЛИЗА КОНЦЕНТРАЦИЈЕ МЕТАЛА И ЕЛЕМЕНАТА У ТРАГОВИМА У ТКВИМА ЈЕДИНКИ СОМА

Просечна дужина и тежина јединки сома уловљених у марту 2013. године на локалитету Велико ратно острво износиле су  $64,2 \pm 4,5$  cm и  $1773 \pm 32$  g. Прегледом гонада утврђено је да су све јединке биле незреле, као и да су мужјаци чинили већину јединки (85%).

**Табела 7.** Тотална дужина (cm) и тежина (g) јединки сома узоркованих у марту 2013. године на локалитету Велико ратно острво.

Тотална дужина (cm)	Тежина (g)	Пол
55,5	1390	мушки
58,0	1430	мушки
59,9	1190	мушки
61,9	1830	мушки
63,0	1980	мушки
63,5	1560	женски
64,0	1800	мушки
66,0	1830	мушки
68,0	1800	женски
68,0	1690	мушки
68,9	2390	мушки
69,0	2120	мушки
69,0	2040	мушки

Концентрације метала и микроелемената у сваком од 14 анализираних ткива приказане су у Табелама 8–10. Све вредности изражене су као  $\mu\text{g/g}$  суве масе (dw).

**Табела 8.** Концентрације тешких метала и елемената у траговима у мишићу, шкргама, јетри, бубрегу и мозгу сома (средња вредност ± стандардна девијација). Концентрације су изражене као  $\mu\text{g/g dw}$ .

Елемент	Ткиво				
	Мишић	Шкрге	Јетра	Бубрег	Мозак
As	0,131±0,967	0,008±0,024	0,096±0,046	0,094±0,040	0,085±0,036
Cd	0,004±0,007	0,036±0,014	0,177±0,104	0,893±0,502	0,001±0,003
Co	0,020±0,023	0,140±0,058	0,350±0,151	1,310±0,646	0,070±0,031
Cr	0,140±0,325	0,270±0,116	0,010±0,018	0,080±0,103	0,090±0,178
Cu	0,950±0,656	4,460±1,784	17,77±5,095	4,330±0,621	3,020±1,175
Fe	19,460 ±15,080	163,000 ±38,310	745,700 ±468,100	297,200 ±76,930	57,030 ±23,430
Hg	1,598±0,535	0,328±0,082	0,639±0,301	0,525±0,193	0,189±0,053
Mn	0,670±0,401	14,980 ±10,360	4,570±1,275	3,080±1,044	2,690±1,632
Ni	0,120±0,211	0,170±0,161	0,060±0,086	0,150±0,134	0,310±0,385
Pb	0,006 ±0,012	0,236 ±0,188	0,067 ±0,032	0,027 ±0,023	0,040 ±0,137
Se	0,900 ±0,333	2,120 ±0,528	7,930 ±2,203	4,880 ±1,304	1,650 ±0,775
Zn	19,620 ±10,200	80,420 ±20,830	93,140 ±22,190	120,400 ±92,290	33,730 ±7,577



**Табела 9.** Концентрације тешких метала и елемената у траговима у гонадама, кичменом пршљену, слезини, срцу и желуцу (средња вредност  $\pm$  стандардна девијација). Концентрације су изражене као  $\mu\text{g/g dw}$ .

Елемент	Ткиво				
	Гонаде	Кичмени пршљен	Слезина	Срце	Желудац
As	0,960 $\pm$ 1,073	0,102 $\pm$ 0,040	0,121 $\pm$ 0,09	0,122 $\pm$ 0,056	0,063 $\pm$ 0,044
Cd	0,008 $\pm$ 0,006	0,005 $\pm$ 0,007	0,042 $\pm$ 0,01	0,006 $\pm$ 0,006	0,011 $\pm$ 0,008
Co	0,100 $\pm$ 0,040	0,030 $\pm$ 0,016	0,190 $\pm$ 0,02	0,150 $\pm$ 0,043	0,150 $\pm$ 0,049
Cr	0,100 $\pm$ 0,144	0,100 $\pm$ 0,185	0,040 $\pm$ 0,07	0,050 $\pm$ 0,068	0,110 $\pm$ 0,078
Cu	2,200 $\pm$ 2,063	5,990 $\pm$ 20,440	2,050 $\pm$ 0,51	8,660 $\pm$ 0,959	4,030 $\pm$ 1,094
Fe	99,290 $\pm$ 49,020	67,150 $\pm$ 39,970	265,800 $\pm$ 64,600	224,600 $\pm$ 55,880	53,550 $\pm$ 10,960
Hg	0,114 $\pm$ 0,080	0,073 $\pm$ 0,056	0,393 $\pm$ 0,159	0,845 $\pm$ 0,226	0,492 $\pm$ 0,159
Mn	1,300 $\pm$ 1,111	38,630 $\pm$ 19,830	1,230 $\pm$ 0,333	1,530 $\pm$ 0,301	2,310 $\pm$ 1,131
Ni	0,220 $\pm$ 0,259	0,210 $\pm$ 0,289	0,110 $\pm$ 0,161	0,080 $\pm$ 0,121	0,090 $\pm$ 0,123
Pb	0,018 $\pm$ 0,029	0,518 $\pm$ 0,653	0,030 $\pm$ 0,039	0,033 $\pm$ 0,098	0,017 $\pm$ 0,019
Se	2,130 $\pm$ 0,961	0,330 $\pm$ 0,144	2,950 $\pm$ 1,018	1,580 $\pm$ 0,545	1,650 $\pm$ 0,460
Zn	134,300 $\pm$ 185,000	67,340 $\pm$ 8,970	74,830 $\pm$ 18,550	106,600 $\pm$ 11,040	84,300 $\pm$ 13,370

**Табела 10.** Концентрације тешких метала и елемената у траговима у жучи, рибљем мехуру, оперкулуму и цреву (средња вредност  $\pm$  стандардна девијација). Концентрације су изражене као  $\mu\text{g/g dw}$ .

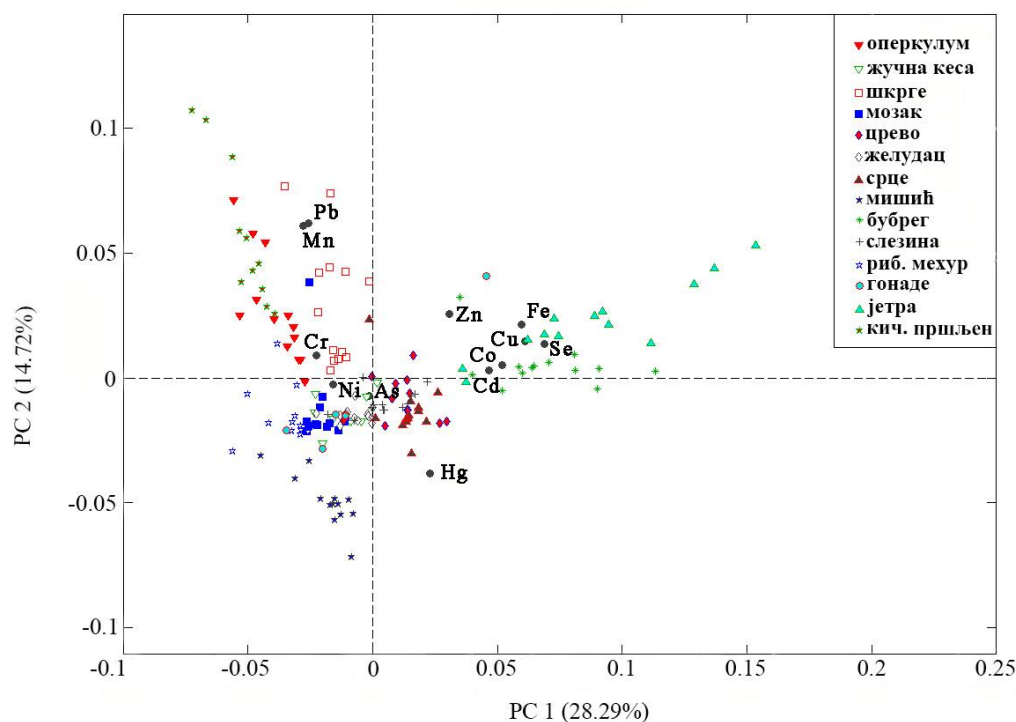
Елемент	Ткиво			
	Жучна кеса	Рибљи мехур	Оперкулум	Црево
As	0,151 $\pm$ 0,111	0,031 $\pm$ 0,017	0,068 $\pm$ 0,053	0,157 $\pm$ 0,136
Cd	0,012 $\pm$ 0,015	0,013 $\pm$ 0,015	0,006 $\pm$ 0,006	0,315 $\pm$ 0,310
Co	0,090 $\pm$ 0,037	0,040 $\pm$ 0,015	0,070 $\pm$ 0,021	0,350 $\pm$ 0,192
Cr	0,040 $\pm$ 0,101	0,200 $\pm$ 0,326	0,260 $\pm$ 0,378	0,080 $\pm$ 0,070
Cu	2,860 $\pm$ 1,494	0,800 $\pm$ 0,400	0,570 $\pm$ 0,233	5,160 $\pm$ 0,970
Fe	41,77 $\pm$ 19,56	19,29 $\pm$ 6,592	36,73 $\pm$ 27,25	86,56 $\pm$ 53,36
Hg	0,372 $\pm$ 0,172	0,067 $\pm$ 0,018	0,232 $\pm$ 0,085	0,642 $\pm$ 0,171
Mn	2,430 $\pm$ 0,710	0,340 $\pm$ 0,289	21,72 $\pm$ 14,15	3,200 $\pm$ 2,659
Ni	0,140 $\pm$ 0,115	0,480 $\pm$ 1,226	0,150 $\pm$ 0,196	0,070 $\pm$ 0,058
Pb	0,051 $\pm$ 0,059	0,056 $\pm$ 0,104	0,183 $\pm$ 0,113	0,054 $\pm$ 0,045
Se	2,320 $\pm$ 0,808	0,810 $\pm$ 0,199	0,840 $\pm$ 0,259	2,130 $\pm$ 0,530
Zn	53,600 $\pm$ 24,060	21,560 $\pm$ 4,047	80,340 $\pm$ 10,290	94,360 $\pm$ 10,880

Резултати су указали на висок ниво диференцијалне акумулације елемената међу анализираним ткивима у сому из Дунава. Максимална акумулација забележена је у кичменом пршљену, а релативно висок ниво акумулације уочен је такође и у јетри и бубрезима.

Статистичка анализа је указала на значајне разлике у концентрацијама метала (Kruskal-Wallis H тест;  $p < 0,01$ ) међу анализираним ткивима, осим концентрација Ni које се нису значајно разликовале међу ткивима. У кичменом пршљену детектоване су највише концентрације Pb и Mn. У бубрезима и цреву уочене су највише концентрације кадмијума, док су бубрезима нађене и највише концентрације Co. У јетри су нађене највише концентрације Cu, Fe, и Se. Концентрације Cu у јетри ( $17,770 \pm 5,095 \mu\text{g/g dw}$ ) биле су испод максимално дозвољених концентрација. Концентрације Se у јетри ( $7,930 \pm 2,203 \mu\text{g/g dw}$ ), мада испод граничног нивоа токсичности, премашиле су вредности изнад којих се препоручују мере предострожности (4 и  $10 \mu\text{g/g dw}$ ; Pyle *et al.* 2005). Поред јетре, највише концентрације Fe уочене су у бубрезима, слезини и срцу. У гонадама су детектоване највише концентрације As и Zn. У шкргама су уочене највише концентрације Cr, док су се по акумулацији Pb шкрге налазиле на другом месту. Оперкулум је био на другом месту по највишим концентрацијама Cr и најнижим концентрацијама Cu. У слезини, концентрације Fe и Se су биле изнад просека, у поређењу са другим ткивима. У жучној кеси уочена је најнижа свеукупна концентрација метала. Рибљи мехур је такође био међу ткивима са најнижим нивоима акумулације метала, и у овом органу су измерене најниже концентрације Hg као и најниже концентрације As, Fe и Mn. Мишић се налазио на другом месту по свеукупном изражено ниском нивоу акумулације, а детектоване су и најниже концентрације Pb, Fe и Zn. Са друге стране, у мишићу су уочене највише концентрације Hg. Мозак је био међу ткивима са најнижим акумулационим нивоима, иако су концентрације Ni биле изнад просека.

Постојало је само неколико значајних корелација ( $p < 0,01$ ) између концентрације елемената у ткивима риба и дужине и тежине тела риба. Концентрације Cd и Hg у кичменом пршљену су биле изражено негативно корелисане са дужином и тежином рибе, док су концентрације Cr имале изражене негативне корелације само са дужином тела (коэффициент корелације  $> 0,7$ ). Дужина рибе је била негативно корелисана са концентрацијом Cu у цреву, док је тежина рибе

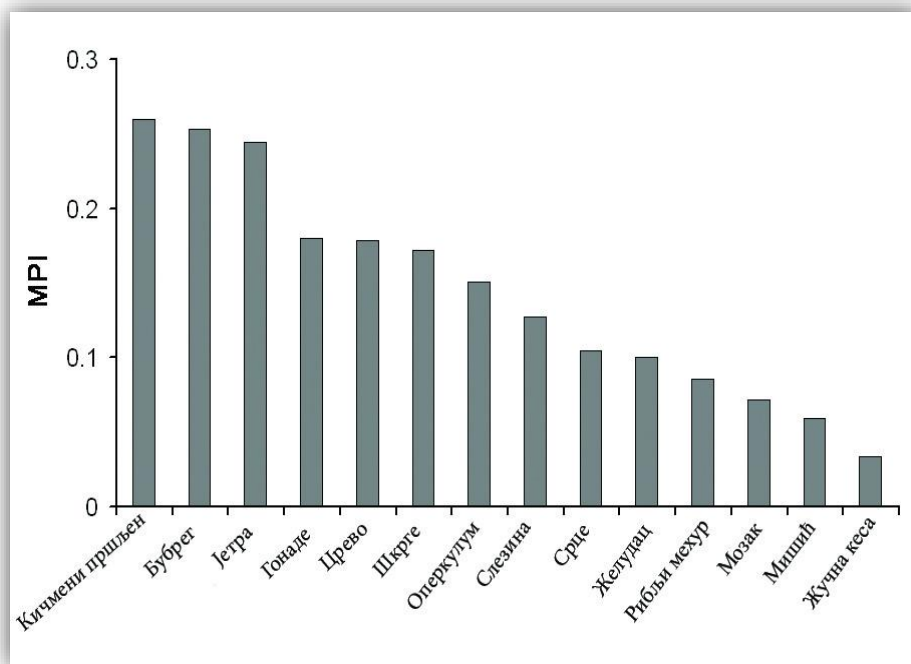
била позитивно корелисана са концентрацијом Fe у јетри (коэффициент корелације >0,7). Није било значајних корелација акумулације метала и FCF.



Слика 9. PCA примењена на концентрације елемената у различитим ткивима сома

PCA је указала на добру диференцијацију узорака бубрега, јетре, кичменог пршљена, оперкулума, шкрга и мишића. Међутим, за осталих осам анализираних ткива није забележена значајна диференцијација (Слика 9). Узорци јетре и бубрега били су груписани на основу повећаних концентрација Mn и Pb, док су се узорци мишића диференцирали на основу високих концентрација Hg.

Максималне MPI вредности уочене су у кичменом пршљену, затим бубрегу и јетри, док су минималне вредности уочене у жучној кеси, мишићу, мозгу и рибљем мехуру (Слика 10).



Слика 10. Индекс загађења металима (MPI) у ткивима сома

Концентрације As, Cd, Pb, Cu, Fe и Zn у мишићу сома биле су испод вредности МДК прописаних законима ЕУ и Републике Србије. Концентрације живе превазишле су МДК у само једном узорку мишића (0,622  $\mu\text{g/g ww}$ ). Међутим, према новом правилнику (Службени гласник РС, 22/2018), прописане су МДК вредности само за As, Cd, Pb и Hg у месу риба (2,0, 0,05, 0,3, 0,5). Концентрације поменутих елемената у мишићу сома биле су испод вредности МДК прописаних новим правилником, осим за олово где су вредности превазишле МДК у већини узорака.

#### 4.3. ОДРЕЂИВАЊЕ КОНЦЕНТРАЦИЈЕ МЕТАЛА И ЕЛЕМЕНАТА У ТРАГОВИМА У РАЗЛИЧИТИМ СЕГМЕНТИМА МИШИЋА, ШКРГА, ЈЕТРЕ И ЦРЕВА ЈЕДИНКИ СОМА

Средње вредности и стандардне девијације анализираних елемената у различитим сегментима ткивима сома представљене су у Табелама 11–14.

**Табела 11.** Концентрације тешких метала и елемената у траговима у мишићу и кожи (средња вредност  $\pm$  стандардна девијација, минимум и максимум). Концентрације су изражене као  $\mu\text{g/g}$  суве масе.

Елемент	Ткиво	
	Мишић	Кожа
As	0,131 $\pm$ 0,097 <sup>a</sup> (0,040–0,394)	0,360 $\pm$ 0,322 <sup>b</sup> (0,055–1,062)
Cd	0,004 $\pm$ 0,007 (0,000–0,024)	0,005 $\pm$ 0,006 (0,000–0,019)
Co	0,018 $\pm$ 0,024 <sup>a</sup> (0,000–0,090)	0,038 $\pm$ 0,010 <sup>b</sup> (0,020–0,060)
Cr	0,138 $\pm$ 0,325 (0,000–1,190)	0,154 $\pm$ 0,206 (0,000–0,580)
Cu	0,949 $\pm$ 0,656 <sup>a</sup> (0,210–1,980)	1,902 $\pm$ 0,736 <sup>b</sup> (0,990–3,010)
Fe	19,464 $\pm$ 15,075 <sup>a</sup> (7,290–63,620)	25,855 $\pm$ 8,806 <sup>b</sup> (17,090–44,360)
Hg	1,598 $\pm$ 0,536 <sup>a</sup> (0,656–2,841)	0,657 $\pm$ 0,185 <sup>b</sup> (0,274–0,949)
Mn	0,674 $\pm$ 0,401 <sup>a</sup> (0,400–1,910)	0,872 $\pm$ 0,233 <sup>b</sup> (0,470–1,240)
Ni	0,120 $\pm$ 0,211 (0,000–0,680)	0,244 $\pm$ 0,286 (0,000–1,020)
Pb	0,006 $\pm$ 0,012 (0,000–0,035)	0,009 $\pm$ 0,012 (0,000–0,040)
Se	0,905 $\pm$ 0,333 (0,340–1,420)	0,866 $\pm$ 0,405 (0,370–1,620)
Zn	19,621 $\pm$ 10,201 <sup>a</sup> (10,280–40,030)	58,953 $\pm$ 11,716 <sup>b</sup> (42,690–79,190)

<sup>a, b</sup> Статистички значајне разлике међу ткивима (Mann-Whitney U test,  $p < 0,05$ )

**Табела 12.** Концентрације тешких метала и елемената у траговима у шкржним ламелама и шкржном луку (средња вредност  $\pm$  стандардна девијација, минимум и максимум). Концентрације су изражене као  $\mu\text{g/g dw}$ .

Елемент	Ткиво	
	Шкржне ламеле	Шкржни лук
As	0,088 $\pm$ 0,024 (0,045–0,129)	0,117 $\pm$ 0,097 (0,036–0,386)
Cd	0,036 $\pm$ 0,014 <sup>a</sup> (0,021–0,074)	0,005 $\pm$ 0,004 <sup>b</sup> (0,000–0,013)
Co	0,135 $\pm$ 0,059 <sup>a</sup> (0,060–0,240)	0,054 $\pm$ 0,019 <sup>b</sup> (0,030–0,100)
Cr	0,271 $\pm$ 0,116 <sup>a</sup> (0,110–0,510)	0,090 $\pm$ 0,117 <sup>b</sup> (0,002–0,450)
Cu	4,462 $\pm$ 1,784 <sup>a</sup> (2,580–8,640)	0,412 $\pm$ 0,194 <sup>b</sup> (0,150–0,760)
Fe	162,977 $\pm$ 38,308 <sup>a</sup> (125,600–258,270)	43,983 $\pm$ 19,699 <sup>b</sup> (23,160–77,820)
Hg	0,328 $\pm$ 0,082 <sup>a</sup> (0,221–0,490)	0,071 $\pm$ 0,054 <sup>b</sup> (0,034–0,216)
Mn	14,982 $\pm$ 10,357 <sup>a</sup> (5,990–44,060)	34,666 $\pm$ 20,245 <sup>b</sup> (15,920–84,230)
Ni	0,166 $\pm$ 0,161 (0,000–0,450)	0,211 $\pm$ 0,312 (0,000–0,860)
Pb	0,236 $\pm$ 0,188 (0,100–0,788)	0,387 $\pm$ 0,407 (0,192–1,718)
Se	2,122 $\pm$ 0,528 <sup>a</sup> (1,250–3,120)	0,715 $\pm$ 0,275 <sup>b</sup> (0,280–1,240)
Zn	80,417 $\pm$ 20,839 (63,150–138,710)	69,807 $\pm$ 5,333 (60,720–79,180)

<sup>a, b</sup> Статистички значајне разлике међу ткивима (Mann-Whitney U test,  $p < 0,05$ )

**Табела 13.** Концентрације тешких метала и елемената у траговима у проксималном и дисталном делу јетре (средња вредност  $\pm$  стандардна девијација, минимум и максимум). Концентрације су изражене као  $\mu\text{g/g dw}$ .

Елемент	Ткиво	
	Проксимални део јетре	Дистални део јетре
As	0,106 $\pm$ 0,049 (0,043–0,199)	0,096 $\pm$ 0,046 (0,042–0,195)
Cd	0,217 $\pm$ 0,113 (0,043–0,361)	0,177 $\pm$ 0,104 (0,033–0,347)
Co	0,363 $\pm$ 0,154 (0,080–0,650)	0,355 $\pm$ 0,151 (0,100–0,600)
Cr	0,090 $\pm$ 0,186 (0,000–0,670)	0,012 $\pm$ 0,018 (0,000–0,040)
Cu	18,905 $\pm$ 5,539 (7,810–28,230)	17,770 $\pm$ 5,095 (7,600–24,340)
Fe	577,044 $\pm$ 431,159 (132,220–1542,840)	745,675 $\pm$ 468,087 (151,620–1852,700)
Hg	0,598 $\pm$ 0,290 (0,173–1,458)	0,639 $\pm$ 0,301 (0,264–1,562)
Mn	4,722 $\pm$ 1,390 (2,250–7,820)	4,568 $\pm$ 1,275 (2,400–7,070)
Ni	0,088 $\pm$ 0,115 (0,000–0,370)	0,059 $\pm$ 0,086 (0,000–0,290)
Pb	0,067 $\pm$ 0,034 (0,008–0,122)	0,067 $\pm$ 0,032 (0,013–0,112)
Se	7,518 $\pm$ 2,090 (3,890–12,060)	7,935 $\pm$ 2,203 (4,650–12,940)
Zn	91,200 $\pm$ 22,245 (45,040–125,280)	93,139 $\pm$ 22,191 (48,590–124,840)



**Табела 14.** Концентрације тешких метала и елемената у траговима у предњем, средњем и задњем делу црева (средња вредност  $\pm$  стандардна девијација, минимум и максимум). Концентрације су изражене као  $\mu\text{g/g}$  суве масе.

Елемент	Ткиво		
	Предњи део црева	Средњи део црева	Задњи део црева
As	0,216 $\pm$ 0,336 (0,047–1,321)	0,174 $\pm$ 0,223 (0,035–0,876)	0,157 $\pm$ 0,136 (0,044–0,480)
Cd	0,364 $\pm$ 0,284 (0,000–0,986)	0,495 $\pm$ 0,383 (0,146–1,472)	0,315 $\pm$ 0,310 (0,059–1,197)
Co	0,118 $\pm$ 0,040 <sup>a</sup> (0,070–0,200)	0,116 $\pm$ 0,039 <sup>a</sup> (0,060–0,180)	0,351 $\pm$ 0,192 <sup>b</sup> (0,130–0,760)
Cr	0,097 $\pm$ 0,162 (0,000–0,580)	0,060 $\pm$ 0,054 (0,000–0,180)	0,084 $\pm$ 0,070 (0,000–0,260)
Cu	5,588 $\pm$ 2,114 (0,790–8,930)	5,123 $\pm$ 1,086 (3,210–7,720)	5,156 $\pm$ 0,970 (2,740–6,340)
Fe	117,051 $\pm$ 74,073 (28,420–278,050)	98,072 $\pm$ 81,234 (40,290–351,620)	86,563 $\pm$ 53,356 (41,800–224,270)
Hg	0,721 $\pm$ 0,264 (0,324–1,256)	0,557 $\pm$ 0,118 (0,317–0,770)	0,642 $\pm$ 0,172 (0,433–0,893)
Mn	4,538 $\pm$ 3,011 <sup>a</sup> (0,190–12,670)	4,320 $\pm$ 2,494 <sup>a</sup> (2,240–12,200)	3,198 $\pm$ 2,659 <sup>b</sup> (1,500–11,270)
Ni	0,114 $\pm$ 0,139 (0,000–0,420)	0,134 $\pm$ 0,165 (0,000–0,580)	0,074 $\pm$ 0,058 (0,000–0,190)
Pb	0,121 $\pm$ 0,199 (0,000–0,769)	0,064 $\pm$ 0,051 (0,000–0,171)	0,054 $\pm$ 0,045 (0,000–0,149)
Se	2,877 $\pm$ 1,091 (0,880–4,360)	2,497 $\pm$ 0,613 (1,400–3,470)	2,128 $\pm$ 0,531 (1,100–2,860)
Zn	72,452 $\pm$ 18,415 <sup>a</sup> (33,470–94,190)	70,008 $\pm$ 11,265 <sup>a</sup> (41,030–85,090)	94,360 $\pm$ 10,882 <sup>b</sup> (75,260–112,640)

<sup>a, b</sup> Статистички значајне разлике међу ткивима (Mann-Whitney U test,  $p < 0,05$ )

Поређење концентрација метала и елемената у траговима у кожи и мишићима, у шкржном луку и филаменатима, у проксималном и дисталном делу

јетре, и у три сегмента црева (проксималном, средњем и дисталном) у јединкама сома извршено је применом Mann-Whitney U теста ( $p < 0,05$ ). Концентрације у мишићу и кожи су се значајно разликовале ( $p < 0,05$ ) за As, Co, Cu, Fe, Hg, Mn и Zn. Шкржни лук и шкржни филаменти разликовали су се у односу на концентрације Cd, Co, Cu, Cr, Fe, Hg, Mn и Se док се концентрације у два испитивана дела јетре нису статистички разликовале. Дистални сегмент црева разликовао се у концентрацијама елемената од проксималног и медијалног сегмента црева по концентрацијама Co, Mn и Zn.

Акумулација елемената у мишићу и кожи значајно се разликовала ( $p < 0,05$ ) за већину елемената. Значајно више концентрације As, Co, Cu, Fe, Mn и Zn уочене су у кожи, док је мишић имао значајно више концентрације Hg. Са друге стране, нису забележене значајне разлике у концентрацијама Cr, Cd, Ni, Pb и Se.

Шкржни филаменти и лук такође су се значајно разликовали ( $p < 0,05$ ) у погледу концентрација већине испитиваних елемената. Резултати указују на више концентрације Mn у шкржном луку, док су за већину осталих анализираних елемената детектоване ниже концентрације од оних у шкржним филаментима. У шкржним филаментима уочене су значајно више концентрације Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Se и Hg. Нису забележене значајне разлике у концентрацијама As, Ni, Pb и Zn између ова два шкржна сегмента.

Између два испитивана дела јетре, проксималног и дисталног, није било значајних разлика ( $p > 0,05$ ) у концентрацијама анализираних елемената.

У проксималном и медијалном сегменту црева акумулациони нивои се нису значајно разликовали, док су у оба сегмента измерене значајно више концентрације Co и Zn и ниже концентрације Mn у односу на дистални сегмент.

#### **4.4. КОНЦЕНТРАЦИЈЕ ПОЛУТАНАТА У МИШИЋУ, КРЉУШТИМА И АНАЛНОМ ПЕРАЈУ ШТУКЕ, ДЕВЕРИКЕ, КРУПАТИЦЕ, СОМА И СМУЋА**

Концентрације метала и елемената у траговима у мишићу, крљуштима и аналном перају штуче, деверике, крупатице, сома и смуђа са локалитета Београд

(Велико ратно острво), узоркованих у периоду од новембра 2013. године до марта 2014. године, приказане су у Табели 15.

**Табела 15.** Концентрације тешких метала и елемената у траговима у мишићу, крљуштима и перају (средња вредност  $\pm$  стандардна девијација). Концентрације су изражене као  $\mu\text{g/g dw}$ .

Елемент	Ткиво	Деверика	Крупатица	Смуђ	Штука	Сом
As	Мишић	0,227 $\pm$ 0,095	0,416 $\pm$ 0,132	0,459 $\pm$ 0,280	0,685 $\pm$ 0,807	0,131 $\pm$ 0,097
	Крљушт	0,083 $\pm$ 0,020	0,058 $\pm$ 0,018	0,201 $\pm$ 0,144	0,381 $\pm$ 0,502	-
	Пераје	0,336 $\pm$ 0,140	0,294 $\pm$ 0,084	0,491 $\pm$ 0,429	0,425 $\pm$ 0,665	0,767 $\pm$ 0,391
Cd	Мишић	0,003 $\pm$ 0,001	0,005 $\pm$ 0,003	0,004 $\pm$ 0,004	0,006 $\pm$ 0,003	0,004 $\pm$ 0,007
	Крљушт	0,004 $\pm$ 0,003	0,008 $\pm$ 0,009	0,007 $\pm$ 0,005	0,059 $\pm$ 0,096	-
	Пераје	0,004 $\pm$ 0,003	0,206 $\pm$ 0,628	0,013 $\pm$ 0,013	0,020 $\pm$ 0,024	0,009 $\pm$ 0,008
Co	Мишић	0,219 $\pm$ 0,103	0,150 $\pm$ 0,024	0,221 $\pm$ 0,127	0,151 $\pm$ 0,049	0,018 $\pm$ 0,023
	Крљушт	0,208 $\pm$ 0,072	0,192 $\pm$ 0,028	0,179 $\pm$ 0,130	0,253 $\pm$ 0,130	-
	Пераје	0,297 $\pm$ 0,076	0,193 $\pm$ 0,099	0,178 $\pm$ 0,042	0,258 $\pm$ 0,185	0,051 $\pm$ 0,024
Cr	Мишић	0,132 $\pm$ 0,109	1,138 $\pm$ 1,751	0,164 $\pm$ 0,128	0,074 $\pm$ 0,067	0,138 $\pm$ 0,325
	Крљушт	0,172 $\pm$ 0,136	0,113 $\pm$ 0,047	0,379 $\pm$ 0,317	0,752 $\pm$ 0,949	-
	Пераје	0,239 $\pm$ 0,261	0,158 $\pm$ 0,087	0,620 $\pm$ 0,630	0,161 $\pm$ 0,137	0,083 $\pm$ 0,084
Cu	Мишић	1,523 $\pm$ 0,787	2,049 $\pm$ 1,616	0,914 $\pm$ 0,797	1,690 $\pm$ 1,136	0,950 $\pm$ 0,656
	Крљушт	0,691 $\pm$ 0,292	0,596 $\pm$ 0,271	0,855 $\pm$ 0,419	1,475 $\pm$ 1,369	-
	Пераје	1,410 $\pm$ 0,488	1,728 $\pm$ 1,122	1,308 $\pm$ 0,483	1,604 $\pm$ 0,570	0,668 $\pm$ 0,589
Fe	Мишић	27,726 $\pm$ 14,143	40,373 $\pm$ 16,494	13,162 $\pm$ 5,976	46,444 $\pm$ 25,355	19,464 $\pm$ 15,075
	Крљушт	83,279 $\pm$ 33,045	131,145 $\pm$ 163,057	121,293 $\pm$ 94,258	324,051 $\pm$ 446,000	-

	Пераје	75,696 ±63,152	99,552 ±61,922	53,117 ±15,285	94,401 ±64,179	34,014 ±16,097
Hg	Мишић	0,286±0,176	0,471±0,203	1,427±0,842	0,886±0,341	1,599±0,535
	Крљушт	0,002± 0e-7	0,002± 0e-7	0,015±0,018	0,009±0,008	-
	Пераје	0,004±0,002	0,006±0,005	0,066±0,078	0,016±0,007	0,095±0,041
Mn	Мишић	5,066±4,155	2,345±0,442	1,319±0,754	3,446±1,326	0,674±0,401
	Крљушт	67,934 ±23,250	29,219 ±6,975	35,119 ±6,155	80,293 ±28,446	-
	Пераје	87,438 ±28,827	43,615 ±10,330	31,199 ±6,595	68,523 ±21,533	14,475 ±7,592
Se	Мишић	1,450±0,316	0,921±0,267	1,590±0,233	1,136±0,373	0,905±0,333
	Крљушт	0,890±0,321	0,674±0,193	0,647±0,177	1,168±0,236	-
	Пераје	1,086±0,531	0,818±0,344	1,192±0,501	1,363±0,503	0,824±0,303
Zn	Мишић	17,056 ±3,942	14,715 ±3,409	16,173 ±5,873	21,319 ±6,956	19,621 ±10,201
	Крљушт	79,554 ±11,848	55,348 ±2,683	82,130 ±11,899	118,742 ±26,260	-
	Пераје	329,128 ±59,971	222,900 ±71,651	100,799 ±27,967	175,889 ±53,617	104,246 ±39,346

Како би се испитала потенцијална веза концентрације метала и елемената у траговима између мишића узоркованих јединки са једне стране, и крљушти и пераја са друге стране, употребљена је Спирманова непараметријска метода корелације.

Резултати указују да не постоје значајне корелације између мишића и крљушти у концентрацијама метала и елемената у траговима код свих испитиваних врста. Значајне корелације су забележене само код једне испитиване врсте, код смуђа за Hg ( $p < 0,01$ ). Што се тиче корелација између мишића и аналног пераја, резултати су показали да постоји неколико значајних корелација ( $p < 0,001$ ), код јединки штуке постојале за As и код крупатице за Hg.

**4.5. ОДРЕЂИВАЊЕ КОНЦЕНТРАЦИЈЕ МЕТАЛА И ЕЛЕМЕНАТА У ТРАГОВИМА, РСВ-А И ПЕСТИЦИДА И АНАЛИЗА ХИСТОПАТОЛОШКИХ ПРОМЕНА КОД ДВЕ ВРСТЕ РИБА РАЗЛИЧИТОГ ТРОФИЧКОГ НИВОА**

**4.5.1. Анализа концентрације метала и елемената у траговима**

Средње вредности концентрација тешких метала и елемената у траговима у шкргама и јетри деверике и смуђа са локалитета Београд – Велико ратно острво приказане су у Табели 16.

**Табела 16.** Концентрације метала и елемената у траговима у шкргама и јетри деверике и смуђа (средња вредност ± стандардна девијација). Концентрације су изражене као µg/g dw. P – вредност указује на значајност разлика у концентрацијама метала и елемената између деверике и смуђа (Mann-Whitney U test, \* P<0,05).

Ткиво	Елемент	Деверика	Смуђ	P-вредност
Шкрге	As	0,212±0,045*	0,852±0,595*	<0,001
	Cd	0,036±0,009*	0,067±0,022*	<0,001
	Cr	0,318±0,190*	0,515±0,206*	0,022
	Co	0,409±0,104*	0,193±0,129*	0,001
	Cu	3,910±0,865	3,480±0,581	0,315
	Fe	429,087±94,386*	256,222±91,923*	<0,001
	Hg	0,012±0,024*	0,368±0,252*	<0,001
	Mn	54,036±21,354*	11,707±4,759*	<0,001
	Ni	НД	НД	
	Se	3,406±1,139	3,603±0,616	0,968
Јетра	Zn	81,835±9,628*	68,094±6,577*	0,003
	As	0,221±0,077*	2,430±2,285*	<0,001
	Cd	0,134±0,151*	0,296±0,125*	0,009
	Cr	0,081±0,104	0,142±0,218	0,579
	Co	0,351±0,058	0,464±0,155	0,063
	Cu	53,568±39,756	34,451±45,798	0,063
	Fe	308,522±138,852	425,993±201,970	0,165
	Hg	0,104±0,122*	0,744±0,425*	<0,001
	Mn	14,376±4,154	11,841±4,068	0,315
	Ni	НД	НД	
Se	6,945±1,868	6,685±2,287	0,684	

	Zn	123,821±31,823*	76,070±22,943*	0,001
--	----	-----------------	----------------	-------

Између шкрга деверике и смуђа уочене су значајне разлике у концентрацијама метала и елемената у траговима (Табела 16). Шкрге две испитиване врсте су се значајно разликовале у концентрацијама As, Cd, Cr, Co, Fe, Hg, Mn и Zn, а јетре у концентрацијама As, Cd, Hg и Zn.

#### 4.5.2. Хистопатолошке промене

Хистолошке промене у шкргама и јетри код деверике и смуђа на анализираним локалитетима (Београд – Велико ратно острво) приказане су у Табели 17.

**Табела 17.** Хистопатолошки индекси (средња вредност ± стандардна девијација) шкрга и јетри деверике и смуђа на испитиваном локалитету (Београд–Велико ратно острво) (за појединачну промену: минимална вредност = 0, максимална вредност = 6). P – вредност указује значајност разлика НР индекса (Mann-Whitney U test, \* P<0,05).

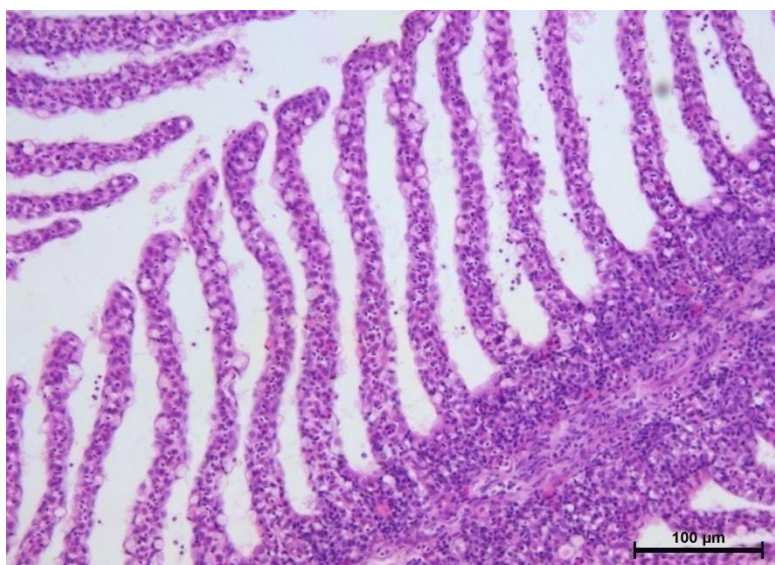
Хистопатолошке промене	Деверика	Смуђ	P - вредност
<b>Шкрге</b>			
Хиперимија	5,1±0,9*	1,4±0,7*	<0,001
Анеуризма	0,2±0,4	0,1±0,3	0,542
Ламеларне телангиектазије	0,1±0,3	0,0±0,0	0,317
Стазе	4,0±1,4*	0,3±0,7*	<0,001
Интерцелуларни едем	1,8±1,6	1,8±1,5	1,000
Структуралне промене	0,4±1,0	1,0±0,8	0,054
Хипертрофија респираторног епитела	1,7±1,5*	4,5±1,4*	0,002
Хиперплазија епитела	1,4±1,8	1,1±1,1	0,938
Хиперплазија пехарстих ћелија	4,8±1,5*	0,5±0,7*	<0,001
Пехарасте ћелије у секундарним	0,0±0,0*	1,5±1,3*	0,002
Издизање епитела	3,3±1,9	2,1±1,8	0,205
Потпуне фузије ламела	0,2±0,7	0,1±0,2	0,942
Присуство ММС-а <sup>а</sup>	0,4±1,0	0,2±0,6	0,543
Присуство ЕГС-а <sup>б</sup>	1,5±1,9*	0,0±0,0*	0,005
Некроза	0,5±0,8	0,0±0,0	0,068
Индекс шкрга (I <sub>G</sub> )	32,7±7,7*	16,3±4,3*	<0,001

<b>Јетра</b>			
Пикноза једра	0,4±0,8	0,0±0,0	0,146
Конгестија синусоида	2,0±2,1	1,6±1,6	0,748
Хиперемија	0,6±1,0	0,0±0,0	0,067
Стаза	1,4±1,3	2,4±1,3	0,102
Присуство ММС-а	1,2±2,1	1,2±1,0	0,445
Присуство ЕГС-а	0,2±0,6	0,0±0,0	0,317
Фиброза крвних судова	0,2±0,6*	2,8±2,9*	0,016
Инфилтрација леукоцита	1,4±1,0*	0,2±0,6*	0,007
Инфилтрација липида	0,4±1,3	0,6±1,3	0,584
Вакуолизација хепатоцита	1,6±1,8	3,6±2,6	0,091
Индекс јетре (I <sub>L</sub> )	10,2±2,4	14,2±8,4	0,381
<b>Укупни индекс (I<sub>T</sub>)</b>	<b>42,9±8,8*</b>	<b>30,5±9,9*</b>	<b>0,014</b>

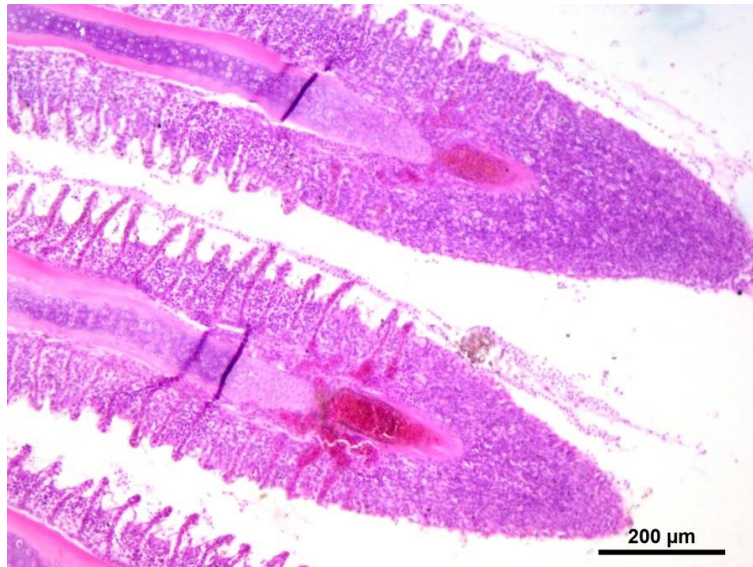
<sup>a</sup> ММС – мелано-макрофагни центри

<sup>b</sup> ЕГС – еозинофилни гранулоцити

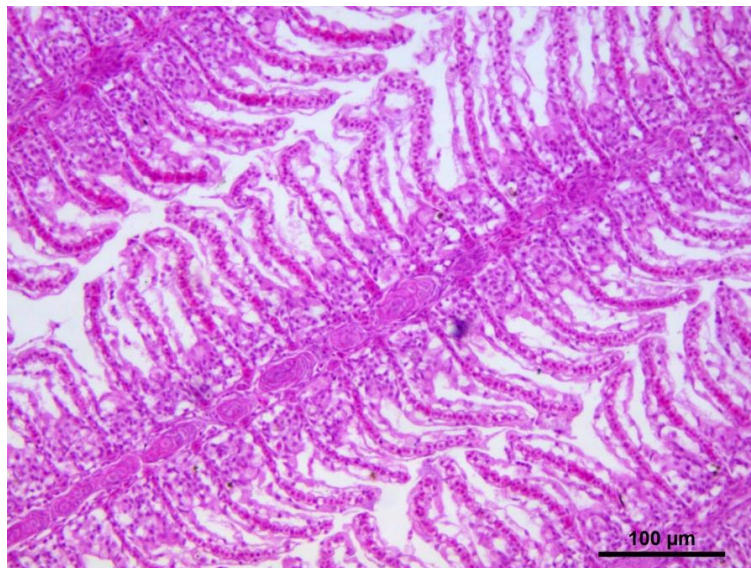
Резултати хистолошке анализе шкрга указују да су код деверике уочене више просечне вредности хистопатолошких скорова. Вредности хиперемије, стаза и хиперплазије пехарстих ћелија биле су са вишим просечним вредностима код деверике. Код смуђа је констатовано значајно више присуство две промене хипертрофија респираторног епитела и присуство пехарстих ћелија у секундарним ламелама, у односу на деверику. Такође, присуство еозинофилних гранулоцита (ЕГС) било је статистички значајно и израженије код деверике. Још једна промена код које нису уочене значајне разлике, али се јављала са високим просечним скором, било је издизање епитела.



Слика 11. Пехарсте ћелије у секундарним ламелама и хиперемија у препаратима шкрга деверике са локалитета Београд – Велико ратно острво (HE x 100)



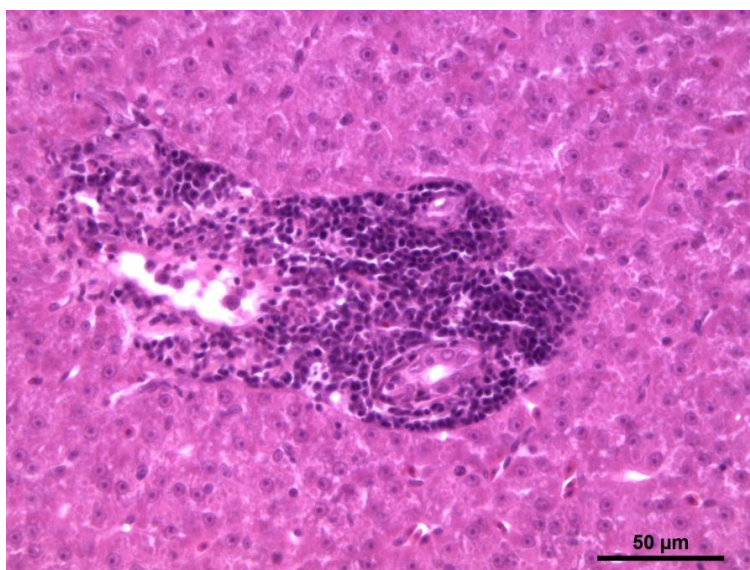
**Слика 12.** Хиперплазија врхова примарних ламела у препаратима шкрга деверике са локалитета Београд – Велико ратно острво (HE x 200)



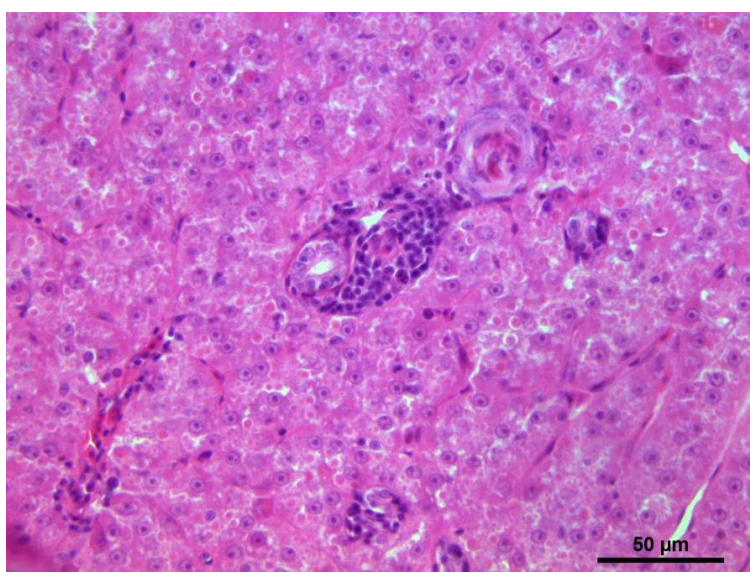
**Слика 13.** Издизање епитела и присуство ЕГС-а у препаратима шкрга деверике са локалитета Београд – Велико ратно острво (HE x 100)

Што се тиче разлика у променама на јетри између две истраживане врсте, констатовано је да су се две промене значајно разликовале. Фиброза крвних судова била је већег интензитета код смуђа ( $p < 0,05$ ), док је инфилтрација леукоцита била израженија код деверике ( $p < 0,005$ ). Промена код које нису уочене значајне разлике, али се јављала са високим просечним скором код смуђа, била је вакуолизација хепатоцита.





**Слика 14.** Инфилтрација леукоцита у препаратима јетре деверике са локалитета Београд – Велико ратно острво (HE x 50)



**Слика 15.** Присуство ММС-а у препаратима јетре деверике са локалитета Београд – Велико ратно острво (HE x 50)



**Слика 16.** Вакуолизација хепатоцита и конгестија синусоида у препаратима јетре смуђа са локалитета Београд – Велико ратно острво (HE x 200)

Индекс шкрга ( $I_G$ ) се значајно разликовао између деверике и смуђа, док за индекс јетре ( $I_L$ ) нису забележене значајне разлике.

#### **4.5.3. Концентрације РСВ и пестициди**

Концентрације РСВ и пестицида код анализираних јединки деверике и смуђа приказане су у Табели 18. Одређене су концентрације појединачних конгенера (28, 52, 101, 138, 153, 180) и сума РСВ као и метаболички деградациони производи DDT (DDE и DDD) и њихова сума.

Концентрације РСВ и пестицида код анализираних врста биле су испод вредности МДК прописаних законима ЕУ и Републике Србије.

Табела 18. Концентрације РСВ и пестицида DDD код деверике и смоуђа. Концентрације су изражене као mg/kg масе узорка.

	28	52	101	153	138	180	ΣPCB	DDE	DDD	DDT	Σ пестицида
Смоуђ	0,001	0,001	0,003	0,007	0,007	0,004	0,028	0,008	0,003	0,004	0,014
	0,001	0,001	0,004	0,012	0,012	0,008	0,047	0,011	0,004	0,004	0,019
	0,000	0,001	0,002	0,006	0,006	0,004	0,024	0,007	0,003	0,003	0,012
	0,000	0,001	0,003	0,006	0,008	0,003	0,028	0,007	0,003	0,000	0,011
	0,001	0,001	0,003	0,009	0,007	0,004	0,033	0,008	0,004	0,002	0,013
	0,003	0,002	0,004	0,009	0,007	0,005	0,037	0,008	0,003	0,004	0,015
	0,001	0,001	0,002	0,006	0,004	0,003	0,020	0,007	0,003	0,001	0,011
	0,001	0,001	0,004	0,018	0,014	0,006	0,053	0,014	0,004	0,007	0,024
	0,001	0,001	0,002	0,007	0,005	0,003	0,023	0,005	0,002	0,002	0,009
	0,002	0,002	0,004	0,012	0,010	0,005	0,043	0,009	0,003	0,000	0,012
	Деверика	0,001	0,001	0,002	0,008	0,006	0,004	0,029	0,060	0,003	0,000
0,002		0,003	0,005	0,008	0,009	0,003	0,042	0,008	0,005	0,002	0,014
0,001		0,001	0,002	0,005	0,005	0,002	0,020	0,005	0,003	0,001	0,009
0,002		0,006	0,011	0,008	0,014	0,005	0,064	0,006	0,004	0,001	0,011
0,000		0,002	0,004	0,009	0,006	0,003	0,032	0,011	0,003	0,000	0,014
0,001		0,002	0,004	0,006	0,005	0,003	0,027	0,007	0,003	0,001	0,011
0,004		0,003	0,004	0,005	0,005	0,002	0,032	0,008	0,004	0,002	0,013
0,006		0,003	0,004	0,003	0,003	0,001	0,026	0,004	0,002	0,001	0,007
0,004		0,003	0,004	0,005	0,005	0,002	0,031	0,007	0,004	0,001	0,013
0,001		0,002	0,004	0,008	0,006	0,003	0,032	0,008	0,004	0,001	0,013

Статистичке анализе су указале на одсуство значајних разлика у концентрацијама РСВ и пестицида између деверике и смуђа.

**Табела 19.** Средња вредност  $\pm$  стандардна девијација концентрација РСВ и пестицида у шкргама и јетри деверике и смуђа на локалитету Београд (Велико ратно острво). Р – вредност указује на значајне разлике (Mann-Whitney). Вредности у загради приказују медијану.

	Деверика	Смуђ	Р - вредност
РСВ	0,03 $\pm$ 0,01 (0,03)	0,03 $\pm$ 0,01 (0,03)	0,912
Пестициди	0,01 $\pm$ 0,00 (0,01)	0,01 $\pm$ 0,00 (0,01)	0,280

#### 4.6. АНАЛИЗА ЕКОТОКСИКОЛОШКЕ ЛИТЕРАТУРЕ

Претраживање екотоксиколошке литературе указало је на то да су многа ткива и органи риба слабо проучавани, посебно оперкулум, рибљи мехур, жучна кеса, кичмени пршљен, мозак, желудац и срце (Прилог 1 и 2). Такође, показало се да постоји недостатак истраживања акумулације елемената у жучи, као и да су у слабо проучаваним ткивима ретко одређиване концентрације As и Se.

Анализа доступне литературе указала је на очигледан недостатак стандардизованог приступа узорковању ткива риба као и да аутори ретко обезбеђују информације о процедури узорковања ткива риба (Jovičić *et al.* 2016). У 77% радова није наведено да ли је кожа одвојена од мишићног ткива или су оба ткива анализирана заједно. Само мањи број аутора је навео да су кожу одвојили од мишића, или да су анализирали свако ткиво засебно, док је само један аутор навео да су мишић и кожа анализирани заједно. Према Crafford & Avenant-Oldewage (2010), аутори или укључе или издвоје кожу од мишића, али често не наведу који метод су користили. Само 5% аутора је навело да су шкржни лук одвојили од шкржних филамената, док је само један аутор навео да су у узорку узети и филаменти и лук. Ниједан аутор није навео који део јетре је коришћен у анализама. Само један аутор је обезбедио детаље о делу црева који је узоркован.

## **5. ДИСКУСИЈА**

### **5.1 ИНДИКАТОРИ СТАЊА РИБЉЕГ ФОНДА И КВАЛИТЕТА РИБЉЕГ МЕСА**

За програме праћења загађења акватичне животне средине неопходно је одабрати одговарајуће индикаторске врсте. Избор индикаторских врста заснива се на неколико основних критеријума: да се циљни загађивачи могу акумулирати у ткивима дате врсте, да је врста у довољној мери присутна у испитиваним екосистемима, да се често може наћи у уловима рибара, да није миграторна, нити толерантна на загађење, као и да су присутне јединке задовољавајуће величине, што омогућава узимање довољне количине ткива за анализу (Manning *et al.* 1992).

На основу дефинисаних критеријума, у овим истраживањима одређене су оптималне индикаторске врсте риба. Одабране врсте обухватају све основне трофичке нивое у акватичној заједници: писциворне врсте (штука, сом, смуђ), омниворне врсте (деверика) и бентофагне врсте са меких подлога (крупатица – муљ). Наведене врсте карактерише висока абундантност, доступност у свим сезонама, значај за комерцијални и рекреативни риболов и лака идентификација. Од изабраних врста, деверика и смуђ су имали најбољи потенцијал за коришћење као индикаторске врсте за мониторинг квалитета рибљег меса, у првом реду услед сталног присуства на проучаваним локалитетима. Обе врсте су биле лако доступне на свим испитиваним локалитетима, а одликовала их је и висока абунданција и значајан масени удео у улову. Међутим, приликом примене програма мониторинга потребно је укључити управо и економски значајне врсте (осим анализираних врста такође нпр. и шарана, мрену, итд.), као и неке алохтоне врсте, као што је бабушка (Hegediš *et al.* 2013).

### **5.2 ДИСТРИБУЦИЈА МЕТАЛА И ЕЛЕМЕНАТА У ТРАГОВИМА У РАЗЛИЧИТИМ ТКИВИМА СОМА**

У оквиру истраживања уочен је висок ниво диференцијалне акумулације елемената међу анализираним ткивима у сому из Дунава. Забележене разлике у

нивоима акумулације метала и елемената у траговима у различитим органима риба вероватно се могу приписати разликама у физиолошким функцијама сваког органа у телу рибе (Karuprasamy 2004).

Ткиво са највећим просечним степеном акумулације био је кичмени пршљен, у коме су детектоване и највише концентрације Pb и Mn. Манган представља елемент који се нормално налази у скелетном ткиву и сматра се есенцијалним за процес минерализације (Guggenheim & Gaster 1973; Love 1980). Олово, са друге стране, не представља елемент који је есенцијалан за формирање костију, али се у коштаном ткиву акумулира услед сличности са калцијумом (Ca) (Seymore *et al.* 1995). Коштана ткива представљају највеће центре акумулације Pb и Mn, што их чини добрим индикаторима за ове елементе (Seymore *et al.* 1995; Castro-González and Méndez-Armenta 2008). Ови резултати су у складу са истраживањима Rashed *et al.* (2001) који су пронашли више концентрације Pb у кичменом пршљену и крљуштима врсте *Oreochromis niloticus* (Египат) у односу на друга ткива (мишић, шкрге, желудац, црево и јетра).

У оквиру приказаних истраживања, бубрези и црево су имали највише концентрације Cd. Бубрези представљају центре акумулације за Cd, који се прво преноси до јетре путем крви, где се везује у комплексе са протеинима и преноси даље до бубрега (Squadrone *et al.* 2013; Mashroofeh *et al.* 2013). Squadrone *et al.* (2013) су анализирали концентрације метала и елемената у траговима у мишићима, шкргама, јетри и бубрегу сома и утврдили да су највише концентрације овог елемента биле у бубрегу, што је у складу са резултатима ове дисертације. Has-Schön *et al.* (2015) су такође утврдили више концентрације Pb и Cd у бубрегу на узорцима шарана и сома из акумулације Бушко блато (Босна и Херцеговина) у односу на концентрације у мишићима, јетри и гонадама.

Сличне резултате добили су и Atobatele *et al.* (2015) приликом анализе метала и елемената у траговима код 11 различитих врста из акумулације Аиба (Нигерија). Високе концентрације Cd у цреву могу бити резултат апсорпције Cd из хране и његовог спорог транспорта у друге унутрашње органе (Le *et al.* 2010). Atobatele *et al.* (2015) наводе такође да су у цреву и мишићу нађене најниже концентрације Cd, па према овим ауторима ниске концентрације Cd у цревима могу указивати на мању улогу хране у акумулацији кадмијума код риба са овог локалитета.

У бубрезима сома у приказаним истраживањима такође су детектоване и највише концентрације Со. Ово се може објаснити чињеницом да се овај елемент акумулира у већој мери у бентофагним рибама услед њиховог контакта са седиментом, што је такође у складу са резултатима добијеним у истраживању Murtala *et al.* (2012).

Јетра представља ткиво са највишом способношћу акумулације метала и елемената у траговима, пошто се у јетри налазе протеини као што је металотионеин који везују метале (нпр. Си, Сd и Zn) и тиме омогућавају акумулацију виших концентрација у односу на друге органе, чиме истовремено и редукују њихову токсичност (Ploetz *et al.* 2007; Uysal *et al.* 2009; Wu *et al.* 2006). Највише концентрације Си, Fe и Se забележене су у јетри сома. Слични резултати добијени су у истраживању Sunjog *et al.* (2012), који су проучавали акумулацију тешких метала у ткивима мрене у Дунаву. У оквиру приказаних истраживања, у јетри су измерене највише концентрације Си, док су највише концентрације Fe биле у шкргама. Lenhardt *et al.* (2012) су анализом концентрација метала и елемената у траговима економски значајних врста у Дунаву (шаран, деверика, црноока деверика, бели толстолобик и сом) утврдили да су у јетри биле највише концентрације Си као и концентрације As и молибдена (Mo).

Поред јетре, највише концентрације Fe у овим истраживањима забележене су у бубрегу, слезини и срцу, што је у складу са резултатима Yamazaki *et al.* (1996). Слезина и бубрег код риба представљају хематопоетске органе, код којих је концентрација Fe повезана са количином крви и процесом њене синтезе.

У гонадама сома измерене су највише концентрације As и Zn. Високе концентрације Zn у јајницима забележене су и од стране Le *et al.* (2010) код женки јегуље из Вијетнама. Повећане концентрације Zn могу водити порекло од хепатичног Zn, јер јајник зреле јединке може усвајати Zn из јетре полним хормоном, 17 $\beta$ -естрадиолом (Hogstrand & Wood 1996). Међутим, у истраживањима у оквиру ове тезе, већину узоркованих јединки чинили су мужјаци. Арсен се често јавља заједно са фосфором, с обзиром на сличне хемијске карактеристике, тако да више концентрације As могу бити узроковане ослобађањем фосфата из детерџената и ђубрива у животну средину (Harkabusová *et al.* 2012).

Шкрге се сматрају центром апсорпције метала и елемената у траговима из воде, па високе концентрације метала у шкргама могу указивати на воду као

главни извор контаминације (Bervoets & Blust 2003; Storelli *et al.* 2006). У овом истраживању, Cr је имао највише концентрације у шкргама, са степеном акумулације који је био виши од свих других елемената, изузев Pb. Олово се највише акумулира у шкргама, пошто у тело рибе улази директно из спољашње средине, док се Cr у шкргама акумулира у вишим концентрацијама услед његове споре стопе екскреције (Qadir & Malik 2011). Високе концентрације олова у шкргама могу представљати и последицу адсорпције олова на шкргама у честичном или органском облику. Нижа рН вредност површине шкрга (због респирације CO<sub>2</sub>) може растворити Pb, који затим може дифузијом продрети у ткиво шкрга (Squadrone *et al.* 2013). Рибе на вишим трофичким нивоима акумулирају веће концентрације Cr (Bakshi & Panigrahi 2018). У истраживању Squadrone *et al.* (2013) су код јединки сома забележене највише концентрације Cr у шкргама, у поређењу са другим анализираним ткивима.

Оперкулум сома је био на другом месту по висини концентрација Cr, као и са најнижим концентрацијама Cu. Према Culioli *et al.* (2009), шкрге и оперкулум спадају у најзначајнија ткива у погледу складиштења As, као и у најосетљивије индикаторе за процену биолошке доступности овог елемента у води. Међутим, у овом истраживању, оба ткива су имала знатно ниже концентрације As у односу на остала ткива.

Акумулација метала и елемената у траговима у слезини је била слабо заступљена у досадашњим истраживањима (Yancheva *et al.* 2014). Према Yancheva *et al.* (2014) слезина је подједнако важно ткиво за складиштење метала и елемената у траговима као и бубрези и јетра. Међутим, у овом истраживању, акумулација метала и елемената у траговима у слезини није манифестована у значајнијем обиму, иако су концентрације Fe и Se биле изнад просека. Yamazaki *et al.* (1996) су такође утврдили повишене концентрације Fe и Se у слезини приликом истраживања акумулације метала и елемената у траговима у 13 различитих ткива врсте *Carassius auratus langsdorfii*. Le *et al.* (2010) и Beltcheva *et al.* (2011) су приликом истраживања акумулације метала и елемената у траговима утврдили присуство високих концентрација Pb у слезини, што се може објаснити акумулацијом овог елемента у еритроцитима (Sorenson 1991), док су у оквиру приказаних истраживања концентрације овог елемента биле ниске.



Акумулација метала и елемената у траговима у жучној кеси је до сада ретко била предмет истраживања. Жучна кеса са жучи има значајну улогу у екскрецији Pb у црево, као и других метала, који се везују за жуч (Sures & Siddall 1999). Међутим, жучна кеса је у овим истраживањима имала најниже концентрације метала и елемената у траговима.

Рибљи мехур је такође представљао ткиво са ниским степеном акумулације метала и елемената у траговима. У рибљем мехуру су забележене најниже концентрације Fe, Mn, Hg и As, што је у складу са резултатима Fu *et al.* (2010) и указује да ово ткиво није активно у акумулацији датих елемената.

Мишић поседује слаб акумулациони потенцијал (Bervoets & Blust 2003; Erdoğrul & Erbilir 2007; Uysal *et al.* 2009). У овом истраживању је генерално забележен низак степен акумулације метала и елемената у траговима у мишићном ткиву, као и најниже концентрације Pb, Fe и Zn. Концентрације Zn, као есенцијалног елемента, у мишићу су контролисане хомеостатском регулацијом (Bervoets & Blust 2003). Са друге стране, у мишићу су уочене највише концентрације Hg. У истраживању Havelková *et al.* (2008) добијено је да се у веома загађеним стаништима Hg највише акумулирала у јетри, што се може објаснити њеном способношћу акумулације великих количина полутаната из спољашње средине, док се у слабије загађеним стаништима већином акумулирала у мишићу. Такође, више концентрације Hg се очекују у мишићном ткиву предаторских врста, услед акумулације дуж ланца исхране (Havelková *et al.* 2008).

Мозак је добро заштићен од контаминације крвно/можданом баријером, иако одређени метали и елементи у траговима могу да прођу кроз њу, као што су Ni и Cd (Sloman *et al.* 2003; Jiang *et al.* 2012). У овом истраживању, мозак је био међу ткивима са најнижим степеном акумулације, мада су концентрације Ni биле изнад просека.

РСА је указала на јасну диференцијацију одређеног броја анализираних ткива, што је већ уочено од стране других аутора (Yamazaki *et al.* 1996; Rashed 2001; Storelli *et al.* 2006; Squadrone *et al.* 2013). Разлике међу ткивима у обрасцима акумулације метала углавном су узроковане њиховом способношћу апсорпције, регулације, складиштења и механизмима екскреције (Storelli *et al.* 2006). Ткива која су се највише издвајала по карактеристикама акумулације су јетра и бубрег, који су се диференцирали од других ткива на основу високих концентрација Cd,

Co, Cu, Fe, Se и Zn. Јетра и бубрег представљају главне органе за акумулацију метала и елемената у траговима, услед њихове високе метаболичке активности (Ebrahimpour *et al.* 2011; Mashroofeh *et al.* 2013). Резултати PCA су такође указали да су шкрге, кичмени пршљен и оперкулум груписани заједно и диференцирани од других ткива на основу високе концентрације Pb и Mn. Мишић се такође издвајао од других ткива на основу високе концентрације Hg, док није уочена значајнија диференцијација слезине, црева, желуца, срца, мозга, жучне кесе, рибљег мехура и гонада. Већина ових ткива је имала нижи општи ниво акумулације.

Утврђене вредности MPI за мишић и јетру биле су ниже у овом истраживању од вредности забележених за исту врсту од стране Subotić *et al.* (2013), одређених на основу анализе шест елемената (As, Cu, Fe, Hg, Mn и Zn). Дате разлике у вредности MPI последица су различитих група елемената коришћених за рачунање овог индекса.

Концентрације елемената добијене у приказаним истраживањима поређене су са доступним подацима у литератури. Резултати указују на то да су концентрације добијене у овом истраживању у опсегу вредности објављених у литератури, мада су биле нешто ниже од просечних вредности. Литературни подаци су такође показали да су многа ткива и органи риба били до сада слабо проучавани, а нарочито оперкулум, рибљи мехур и жучна кеса, као и кичмени пршљен, мозак, желудац и срце. У наведеним ткивима нарочито су ретко праћене концентрације арсена и селена (Hauser-Davis *et al.* 2012).

Ово истраживање указује на присуство значајног нивоа диференцијалне акумулације међу органима и ткивима риба. Највиши свеукупни ниво акумулације уочен је у кичменом пршљену, бубрезима и јетри, док су минималне вредности уочене у жучној кеси, мишићу, мозгу и рибљем мехуру. Ниво акумулације у мишићу указује да се, према националним и европским стандардима, месо сома уловљеног у реци Дунав на територији Београда може користити у људској исхрани.

### 5.3. ОДРЕЂИВАЊЕ КОНЦЕНТРАЦИЈЕ МЕТАЛА И ЕЛЕМЕНАТА У ТРАГОВИМА У РАЗЛИЧИТИМ СЕГМЕНТИМА МИШИЋА, ШКРГА, ЈЕТРЕ И ЦРЕВА ЈЕДИНКИ СОМА

У оквиру приказаних истраживања такође су испитане концентрације елемената у различитим сегментима мишића, шкрга, јетре и црева код сома из Дунава како би се одредиле потенцијалне разлике, с обзиром да је присутан очигледан недостатак стандардизованог приступа узорковању ткива риба (Jovičić *et al.* 2015).

Приликом анализе акумулације метала и елемената у траговима у мишићу и кожи уочене су веће концентрације As, Co, Cu, Fe, Mn и Zn у кожи у односу на мишић. Ови резултати су у складу са резултатима других аутора (Al-Yousuf *et al.* 2000; Al-Weher 2008; Storelli *et al.* 2006). Више концентрације у кожи могу бити резултат формирања комплекса метала и мукуса (Al-Weher 2008). Метални јони из воде имају способност везивања за мукусни слој на површини коже, што може довести до већег уноса и апсорпције у кожи (Тао *et al.* 2000). То је посебно случај код риба које немају крљушти, као што је сом, где мукусни слој има значајну улогу у спречавању продирања хемикалија и патогена из животне средине (Ferreira *et al.* 1984; Rose *et al.* 1999; Peatman *et al.* 2015). Епидермална секреција мукуса представља заштиту од полутаната и неорганских честица (Coello & Khan 1996). Са друге стране, мишић поседује слаб акумулациони потенцијал и најчешће представља ткиво са најнижим концентрацијама елемената код риба (Bervoets & Blust 2003; Erdoğrul & Erbilir 2007; Lenhardt *et al.* 2012). Storelli *et al.* (2006) су анализом концентрација метала и елемената у траговима у мишићу, шкргама, јетри и кожи риба из фамилије *Mugilidae* из Средоземног мора утврдили највише концентрације Zn у кожи, што се такође објашњава стварањем комплекса са мукусом на површини тела (Yilmaz 2003).

Uysal *et al.* (2009) су уочили недостатак јасних образаца акумулације у мишићу и кожи, с обзиром да су максималне концентрације код различитих врста риба биле у различитим ткивима. У овој студији, више концентрације Hg уочене су у мишићу, док Storelli *et al.* (2006) нису уочили присуство разлика међу ткивима. Према Fu *et al.* (2010) кожа није активно ткиво за биоакумулацију Hg. Укључивање коже у узорак може утицати на забележене концентрације у мишићу

(Environmental Protection Agency – EPA 2000) и не пружа праву слику нивоа метала у риблијем ткиву. Други аутори су такође пронашли разлике између ова два ткива у односу на акумулацију Cd, Cr, Ni, Pb и Se (Al-Yousuf *et al.* 2000; Al-Weher 2008; Bosi *et al.* 2006; Crafford & Avenant-Oldewage 2010; Storelli *et al.* 2006; Schenone *et al.* 2014; Uysal *et al.* 2009), што није уочено у овој студији. У протоколима за узорковање риба за анализу метала често се препоручује уклањање коже из узорка са мишићем (EPA 2000; Sharma *et al.* 2009; UNEP 1984).

Присуство разлика између шкржног лука и филамената у погледу акумулације елемената било је релативно често испитивано. Crafford and Avenant-Oldewage (2010) су утврдили вишу акумулацију Ni и Pb у шкржном луку, што није уочено у овој студији. Међутим, коштана ткива се сматрају главним акумулационим центрима за Pb, где се он акумулира услед своје јонске сличности са калцијумом (Castro-González & Méndez-Armenta 2008; Seymore *et al.* 1995). Резултати овде приказаних истраживања указују на више концентрације Mn у шкржном луку, док је већина осталих анализираних елемената имала ниже концентрације у шкржном луку од оних у шкржним филаментима. Манган се акумулира у највећем нивоу у коштаном ткиву и такође представља нормални чинилац скелетног ткива кичмењака (Castro-González & Méndez-Armenta 2008; Seymore *et al.* 1995). Већи степен акумулације Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg и Se у шкржним филаментима претежно је последица директног усвајања из воде, с обзиром да шкрге представљају основни пут контаминације путем воде (Golovanova 2008; Storelli *et al.* 2006). Поједини метали такође имају тенденцију повећане акумулације у шкргама услед њихове споре стопе екскреције (Qadir & Malik 2010).

Резултати указују на одсуство разлика у акумулацији елемената између два проучавана региона јетре. На основу доступних литературних података може се закључити да ово питање није било до сада проучавано у претходним студијама.

Анализа акумулације метала и елемената у траговима у цреву указала је на разлике у концентрацијама Co, Mn и Zn између дисталног дела црева и оних у два друга сегмента црева, који се у том погледу нису међусобно разликовали. Оваква диференцијална акумулација међу анализираним сегментима црева може се објаснити разликама у њиховој активности. Према доступној литератури, ово је прва студија која се бави овим питањем.

Имајући све наведено у виду, као и доступне литературне податке, од изузетног је значаја обезбедити детаљне податке о процедури узорковања рибљих ткива. Нарочито је важно нагласити да ли је кожа укључена у узорак заједно са мишићем, као и да ли су шкржни лук и филаменти анализирани заједно. Такође, од значаја је обезбедити информације о тачном сегменту црева који је узоркован, посебно ако су у предмет студије укључени елементи код којих су уочене разлике у степену акумулације. Са друге стране, резултати указују да није неопходно да се нагласи који је сегмент јетре коришћен у анализи. Приказани резултати могу бити од значаја широј научној заједници, нарочито за развој метода праћења нивоа метала у храни и животној средини.

#### **5.4. ИСПИТИВАЊЕ МОГУЋНОСТИ КОРИШЋЕЊА КРЉУШТИ И АНАЛНОГ ПЕРАЈА КАО МАЊЕ ИНВАЗИВНЕ МЕТОДЕ ПРАЋЕЊА АКУМУЛАЦИЈЕ МЕТАЛА И ЕЛЕМЕНАТА У ТРАГОВИМА**

Потреба за смањењем леталног узорковања и негативног утицаја мониторинг програма на животну средину, допринели су континуираном развоју нелеталних метода праћења контаминаната у животној средини. Предности оваквих метода укључују могућност добијања већег узорка и поновног узорковања истих јединки, како би се добили подаци о временским трендовима, као и испитивање заштићених врста (Anderson *et al.* 2017).

Детаљном анализом доступних литературних података уочено је да су досадашње студије претежно биле фокусиране на живу, за коју је за рибље месо прописана МДК услед негативног ефекта по људско здравље. Резултати овде приказаних истраживања указују на постојање малог броја корелација концентрација метала у мишићу са концентрацијама у крљушти и аналном перају.

Мишић и крљушти су били позитивно корелисани у односу на концентрације Hg код јединки смуђа ( $p < 0,01$ ). Жива улази у тело риба у форми метил-живе, где се везује за еритроците и транспортује у органе (Wiener & Spry 1996). Метил-жива доспева у ткива и органе риба из спољашње средине и путем исхране и њене концентрације се, након престанка излагања овом једињењу, смањују у крви, слезини, бубрегу, јетри и мозгу, док мишић

представља примарно место складиштења редистрибуиране метил-живе, где се везује за сулфхидрилне групе у протеинима. Највише концентрације Hg у ткивима најчешће се налазе код писциворних врста риба (Wiener & Spry 1996). Крљушти представљају тврде и калцификоване структуре, које се налазе на читавом телу као заштита коже риба, услед чега су изложене различитим спољашњим условима (Khanna *et al.* 2017). Предаторске врсте акумулирају највеће количине Hg у ткивима, али и у крљуштима (Červenka *et al.* 2011). Červenka *et al.* (2011) су испитивали везу између концентрације Hg у мишићу са крљуштима и перајем код јединки бодорке, деверике и греча на реци Хрудимки (Чешка). Иако нису утврдили присуство значајних корелација међу испитиваним ткивима у погледу концентрација Hg, закључили су да коришћење измерених концентрација живе у крљуштима може бити корисно за одређивање контаминације мишића, као методе раног упозорења на спољашње загађење. Farrell *et al.* (2000) су утврдили одсуство везе између концентрације Se, Pb и Hg у мишићу и крљуштима код јединки арктичког липљена (*Thymallus arcticus*), што су аутори објаснили уским опсегом концентрација испитиваних елемената.

У сличном истраживању од стране Valova *et al.* (2013) о вези између концентрација Hg и Pb у мишићу и крљушти клена (*Squalius cephalus*), нису забележене значајне корелације ова два ткива. Мишић поседује високи биоакумулациони потенцијал и слабу способност метаболизма Hg, као и слабу способност акумулације Pb. Аутори су закључили да крљушти не могу да се користе за предвиђање концентрација ових елемената у мишићу.

Lake *et al.* (2006) су испитивањем концентрација Hg у крљуштима и мишићу јединки баса (*Micropterus salmoides*), у циљу процене могућности употребе крљушти као нелеталне методе праћења концентрација овог елемента у мишићу, закључили да крљушт има добар потенцијал за процену општих трендова у концентрацијама у односу на друга ткива, као и за процену контаминације ткива као методе раног упозорења.

У овом истраживању забележене су значајне корелације концентрације As између мишића и аналног пераја код штуке и смуђа, Hg код крупатице и Cu код сома ( $p < 0,01$ ). С обзиром да је рибама потребно више времена да се опораве након узорковања аналног пераја, Červenka *et al.* (2011) препоручују анализу крљушти за предвиђање концентрација укупне живе у мишићу код крупатице.

Gremillion *et al.* (2005) су испитивањем употребе аналног пераја за предвиђање концентрација Hg у мишићу код јединки северноамеричког смуђа (*Sander vitreus*) и штуче утврдили присуство позитивних корелација између наведених ткива. Ови аутори наводе да позиција у трофичком ланцу исхране и физиологија утичу на однос акумулације Hg у мишићу и аналном перају. Иако мишић представља акумулациони центар за Hg, при високим концентрацијама овог једињења у телу риба његове концентрације се повећавају и у осталим органима.

Концентрација As у ткивима риба повезана је са његовим концентрацијама присутним у ланцима исхране риба (Edmonds & Francesconi 1981). Поред тога, корелације концентрације As указују на то да се As транспортује путем крви у сва ткива у облику погодном за акумулацију (Maher *et al.* 1999). Williams *et al.* (2006) су анализом већег броја истраживања о акумулацији As уочили да су највише концентрације у ткивима измерене код бентосних врста које се хране биљним материјалом, док су најниже вредности детектоване код врста које се хране зообентосом.

## **5.5. ХИСТОПАТОЛОШКЕ ПРОМЕНЕ, МЕТАЛИ И ЕЛЕМЕНТИ У ТРАГОВИМА, РСВ И ПЕСТИЦИДИ КОД ВРСТА РАЗЛИЧИТИХ ТРОФИЧКИХ НИВОА**

Анализа акумулације метала и елемената у траговима у шкргама и јетри деверике и смуђа указала је на постојање већег броја значајних разлика у концентрацији ових елемената у шкргама и јетри између две врсте. Шкрге смуђа и деверике разликовале су се по концентрацијама већине елемената (разлика је изостала само код Cu и Se), док су се узорци јетре испитиваних врста значајно разликовале у погледу As, Cd, Hg и Zn. Више концентрације As и Hg детектоване су у шкргама смуђа, док су код деверике уочене више концентрације Co и Mn. Шкрге риба су у сталном контакту са супстанцама које се налазе у води која их окружује и стога представљају релевантне индикаторе изложености риба загађивачима у води (Perry & Laurent 1993). У јетри смуђа детектоване су више концентрације скоро свих елемената за које је постојала статистичка значајност (As, Cd и Hg), док је код деверике била повишена концентрација Zn. Високе

концентрације ових елемената могу проистећи из активности металотионенина, протеина који има способност да везује одређене метале (као што су Cd, Cu и Zn), што смањује њихову токсичност и на тај начин их јетра акумулира у високим концентрацијама (Uysal *et al.* 2009; Wu *et al.* 2006). На разлике у акумулацији метала и елемената у траговима у ткивима риба утичу како биотички, тако и абиотички фактори, као што су станиште, хемијски облик метала у води, температура воде и рН, концентрација раствореног кисеоника, као и старост рибе, пол, телесна маса и физиолошки услови (Has-Schönet *et al.* 2006). Такође, акумулација метала варира међу врстама, што зависи од њиховог положаја у трофичким ланцима исхране (Agah *et al.* 2009). Карниворне врсте риба акумулирају виши ниво метала и елемената у траговима од хербиворних, омниворних или планктиворних врста (Phillips *et al.* 1980), што може објаснити виши ниво акумулације појединих елемената код смуђа. Са друге стране, бентосне врсте, где спада и деверика, могу понекад акумулирати виши ниво елемената од карниворних (Tayel & Shriadah 1996) усвајањем из седимента.

Положај рибе у ланцу исхране и садржај липида представљају важан фактор у акумулацији органохлорних једињења (Roche *et al.* 2000; Zhou & Wong, 2004). Рибе су изложене органохлорним загађивачима директно из воде као и преко хране, међутим услед слабе растворљивости ових једињења у води сматра се да већина једињења потиче из хране пре него из животне средине (Brázová *et al.* 2012). С обзиром на способност биомагнификације кроз ланце исхране, сматра се да предаторске врсте акумулирају више концентрације органохлорних загађивача од врста на другим позицијама у ланцу исхране (Brázová *et al.* 2012). Brázová *et al.* (2012) су истраживали акумулацију РСВ у предаторским и непредаторским врстама риба у односу на положај у трофичком ланцу исхране. Аутори су утврдили присуство највиших концентрација ових једињења у предаторским врстама, као што су греч, штука и смуђ али су концентрације такође биле високе и код деверике, која је бентосна врста (Brázová *et al.* 2012). У нашем истраживању, концентрације овог једињења биле су сличне код обе врсте. С обзиром на то да је деверика као бентосна врста у директном контакту са седиментом и не предузима велике миграције, сматра се добрим индикатором за мониторинг загађења слатководних екосистема, имајући у виду да немиграторне



врсте на најбољи начин одражавају ниво загађења у животној средини (Marth *et al.* 1997).

Садржај липида, као што је већ споменуто, значајно утиче на акумулацију ових липосолубилних једињења (Roche *et al.* 2000; Zhou & Wong, 2004). Covaci *et al.* (2006) су истраживали везу између садржаја липида, биолошких параметара и самих карактеристика врсте. Резултати овог истраживања указали су да је на средњу вредност садржаја липида утицала исхрана, па су писциворне врсте имале мањи проценат липида од бентиворних и хербиворних врста које су имале нижи садржај липида од омниворних. Садржај липида у месу различитих врста риба варира између 0,5% и 22% и према том садржају рибе се у погледу људске исхране могу поделити на посне (са мање од 5% масти), где спада смуђ, полу-масне (са 5–10% масти), где спада деверика, и масне (са више од 10% масти) (Baltić & Teodorović 1997; Pavličević *et al.* 2014). У нашем истраживању, обе врсте су имале сличне средње вредности укупне концентрације РСВ (деверика – ср.вр.  $\Sigma$  РСВ 33,46 ng/g; смуђ – ср.вр.  $\Sigma$  РСВ 33,66 ng/g), па се на основу резултата не може издвојити ниједна од ове две врсте као бољи индикатор загађења.

Janković *et al.* (2011) су током 2001. и 2006. године проучавали концентрације РСВ у Дунаву у Србији на две локације, узводно и низводно од Панчева. Анализа је обухватала 64 јединке, које су представљале 10 врста риба. На локалитету узводно од Панчева, средње вредности суме РСВ нису се значајно разликовале у две анализиране године (2001: ср.вр.  $\Sigma$  РСВ 22,8 ng/g; 2006: ср.вр.  $\Sigma$  РСВ 24,5 ng/g) док су се средње вредности на локалитету низводно од Панчева значајно разликовале (2001: ср.вр.  $\Sigma$  РСВ 22,7 ng/g; 2006: ср.вр.  $\Sigma$  РСВ 42,9 ng/g). Повишене концентрације током 2006. године на низводном локалитету аутори су објаснили потенцијалним утицајем великих индустријских центара смештених у Панчеву. У нашем истраживању,  $\Sigma$  РСВ (деверика: ср.вр.  $\Sigma$  РСВ 33,5 ng/g и смуђ: ср.вр.  $\Sigma$  РСВ 33,7 ng/g) је била блиска аритметичкој средини 2001. и 2006. године у поменутом истраживању, те сматрамо да су добијене вредности у складу са већ објављеним резултатима. Ниске концентрације могу се објаснити глобалним трендом смањења употребе ових једињења у индустрији (Janković *et al.* 2011).

Đinović-Stojanović *et al.* (2013) су анализирали концентрације органских загађивача (органохлорних пестицида и полихлорованих бифенила) код крупатице и мрене из Дунава код Батајнице. Утврђено је да је садржај испитаних

органохлорних једињења у крупатици већи него у мрени. Средња вредност суме DDT са стандардном девијацијом износила је  $13,80 \pm 2,59$  ng/g за крупатицу, а  $2,57 \pm 0,52$  ng/g за мрену. Средња вредност суме PCB са стандардном девијацијом износила је код крупатице  $40,91 \pm 4,44$  ng/g а код мрене  $7,16 \pm 0,98$  ng/g. Вредности добијене за крупатицу могу се упоредити са вредностима добијеним за деверуку у приказаним истраживањима, с обзиром да ове две врсте заузимају исти положај у ланцима исхране (Kottelat & Freyhof 2007). Средње вредности суме DDT за деверуку у приказаним истраживањима износиле су  $11,584$  ng/g, док је за PCB та вредност износила  $33,460$  ng/g што је у оба случаја ниже од вредности које су забележили Đinović-Stojanović *et al.* (2013).

Концентрације органохлорних загађивача у овом истраживању биле су ниске и испод максимално дозвољених концентрација. Међутим, акватични организми су изложени комплексној мешавини хемијских загађивача која може понекад проузроковати кумулативне токсичне ефекте, упркос томе што се сваки појединачни загађивач јавља у концентрацијама нижим од прага који меже произвести негативне ефекте (*енгл.* No Observable Effect Concentration – NOEC; Каран 2010). С обзиром да се процена хемијске токсичности обично врши појединачно за сваку супстанцу занемарује се потенцијално кумулативно дејство загађивача. Загађивачи међусобно могу утицати на токсичност и могу имати адитивно, синергистичко или антагонистичко дејство. Нехемијски фактори као што су физички фактори (јонизујуће зрачење, температурни стрес, UV зрачење), биотички стрес (паразити, бактерије), као и фактори везани за промене станишта (губитак станишта, несташица хране), могу такође деловати као извори стреса и утицати на комбиновано дејство загађивача (Beyer *et al.* 2014). Врсте које се налазе на врху ланца исхране изложене су повећаном ризику од комбинованог дејства загађивача услед биомагнификације загађивача кроз ланац исхране. Високо хлоровани конгенери се најчешће биоакумулирају и достижу високе концентрације на вишим трофичким нивоима (нпр. писциворне врсте риба; Niimi, 1996).

Хистопатолошким анализама шкрга и јетре утврђен је већи степен промена код деверике у односу на смуђа у Дунаву. У узорцима шкрга детектован је већи број значајних промена у односу на јетру код обе врсте, док је укупни хистопатолошки индекс шкрга био већи код деверике него код смуђа.

Загађујуће материје и ксенобиотици узрокују различите промене на шкргама (Au 2004). Иако видљиве, промене на шкргама су неспецифичне и могу бити проузроковане широким опсегом полутаната, док ниво промена зависи од концентрације и периода излагања загађивачима (Reddy and Rawat 2013; Jönsson *et al.* 2004). С обзиром да су у сталном контакту са водом, метали продиру кроз епител шкрга и доводе до појаве оксидативног стреса и генотоксичности у ћелијама (Vinodhini & Narayanan 2009; Javed *et al.* 2016). Способност усвајања ксенобиотика из воде одређује се преносним капацитетом шкрга и физичко-хемијским особинама једињења (Randall *et al.* 1996). Промене попут секреције мукозних ћелија и хипертрофија респираторног епитела представљају промене које се повезују са присуством метала (Mallat 1985). Поред метала, шкрге такође значајно апсорбују пестициде растворљиве у води и липосолубилна једињења (Randall *et al.* 1996). Велики број органских ксенобиотика утиче на морфологију шкрга. Пестициди, као што је DDT, токсични су услед тога што инхибирају  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$  АТФ-азу (Evans, 1987). Међутим, у овом истраживању, концентрације органских полутаната биле су у ниским концентрацијама и испод максимално дозвољених концентрација, те је претпоставка да је већина насталих ткивних промена узрокована присуством метала у води.

Најзначајнија циркулаторна промена на шкргама код деверике била је хиперемија. Хиперемија указује на повећање снабдевања крвљу како би се јединке избориле са нарушеном респирацијом (Rašković *et al.* 2010). Дифузија гасова преко ламеларног епитела обрнуто је пропорционална растојању између воде и крви, па хиперемија фаворизује размену гасова еритроцита који се налазе близу епитела (Fernandes *et al.* 2007). Други механизам који може довести до појаве хиперемије јесте застој у циркулацији крви, који је узрокован горе поменутих повећањем баријере између крви и воде, када се респирација спорије обавља.

У приказаним истраживањима, хиперплазија мукозних ћелија била је у већој мери заступљена код деверике у односу на смуђа. Ова промена представља додатни одбрамбени механизам, када се излучује мукозни слој са гликопротеинима и гликолипидима и ствара заштитни слој око шкржног епитела (Bresghelo *et al.* 2004; Pereira *et al.* 2012). Ова прогресивна промена се јавља услед хроничне изложености загађивачима (Benli *et al.* 2008; Miron *et al.* 2008; Spencer *et al.* 2008).

Код деверике су се учесталије јављале и стазе, које представљају успоравање тока крви у већим крвним судовима (Rašković 2013). Присуство еозинофилних гранулоцита (EGC) било је израженије код деверике у односу на смуђа. Ова промена се често јавља на местима где се леукоцити инфилтрирају у паренхим јетре (Rašković *et al.* 2013), што је случај и у овом истраживању.

Код смуђа је била заступљенија хипертрофија респираторног епитела, која представља једну од промена која се јавља као одговор на присуство загађивача у води, као што су органофосфати, хербициди и метали (Giari *et al.* 2007). Ова промена представља одбрамбени механизам организма и доводи до повећања растојања између воде и крви, стварајући баријеру за улазак загађивача (Poleksić & Mitrović-Tutundžić 1994).

Присуство мукозних ћелија у секундарним ламелама је било учесталије код смуђа. Мукозни слој представља заштиту од загађујућих материја присутних у води па њихов повећан број указује на повећано присуство загађујућих материја у води (Paulino *et al.* 2012; Shephard 1994).

Промена која се такође јављала код деверике и смуђа, али без значајних разлика међу врстама, јесте издизање респираторног епитела. Издизање епитела доводи до повећања дифузионог растојања, што резултује у смањењу размене гасова (Dane *et al.* 2015). Ова промена може бити компензациони механизам како би се повећала дебљина епитела и спречио улазак токсичних јона метала у крвоток, или као компензација за недостатак осмотске равнотеже (Arnaudova *et al.* 2008).

Укупни хистопатолошки индекс јетре се није значајно разликовао међу врстама. Јетра риба је посебно подложна оштећењима која потичу од различитих врста токсиканата (Hinton *et al.* 2001). У исто време, уколико се посматрају појединачне промене, само две су се значајно разликовале између ове две врсте: присуство фиброзе крвних судова код смуђа и инфилтрација леукоцита код деверике. Инфилтрација леукоцита представља промену изазвану присуством загађивача и представља прву линију имунолошког одговора услед смрти ћелије (Liebel *et al.* 2013), али може да буде изазвана и присуством патогена (Raine *et al.* 2017), те не служи као добар индикатор загађења. Овај тип хистопатолошких промена често се јавља услед загађења металима и елементима у траговима, док фиброза представља замену високо диференцираног ткива везивним ткивом, које

је много мање осетљиво, и представља поуздан доказ да је јединка била изложена полутантима (Poleksić *et al.* 2010).

Специфичне разлике у патолошком одговору појединих врста на полутанте могу се објаснити разликама у метаболизму, животној историји, станишту, као и положају у ланцу исхране (Stehr *et al.* 1998). У екотоксиколошким истраживањима показано је да чак и две врсте које припадају истом роду, живећи на истом станишту имају различит хистопатолошки одговор на присуство загађујућих материја (Danget *al.* 2017). У наведеној студији, код две врсте из рода *Myoxocephalus* (*M. quadricornis* и *M. scorpius*) узорковане у близини рудника олова и цинка на Гренланду уочене су разлике у фреквенцији и интензитету хондроплазије у шкргама и фиброзе крвних судова у јетри (Danget *al.* 2017). Ове промене се објашњавају различитим еколошким нишама у оквиру истог станишта које рибе насељавају, што се у нашој студији показало кроз присуство разлика у исхрани, односно кроз припадност различитим трофичким нивоима. Различит ткивни одговор је био карактеристичан и за афричког сома (*Clarias gariepinus*) и мозамбичку тилапију (*Oreochromis mossambicus*) које су живеле у хипереутрофном језеру у Јужној Африци, поготову за јетру и бубрег (Marchand *et al.* 2012), а слични резултати су показани и када су студије јетре и шкрга две бентофагне врсте у питању (Rašković *et al.* 2015; Louizet *al.* 2018). Интересантно је да се у студији Rašković *et al.* (2015) хистопатолошки индекси јетре и шкрга кечиге (*Acipenser ruthenus*) и мрене (*Barbus barbus*) нису разликовали, али је ткивни одговор у потпуности био различит и у свакој врсти је доминирао други тип хистопатолошких промена. Хистопатолошки индекс шкрга смуђа, сома и пастрмке уловљених у реци Тамиш показао је разлику само између сома и штуке, док су вредности за смуђа биле интермедијерне (Lujić *et al.* 2015). И у другим истраживањима напоменуто је да бентосне врсте поседују велики број патолошких промена, што говори у прилог томе да станиште, а не висок положај у ланцу исхране, може утицати на контаминацију ткива појединих врста (Skinner & Kandrashoff 1988; Mondon *et al.* 2001). Податак да бентосне врсте имају већу фреквенцију и интензитет хистопатолошких промена потврђен је и у овом истраживању, иако се арсен, кадмијум, жива и гвожђе налазе у вишој концентрацији у јетри и шкргама смуђа. Овај податак значи да хистопатолошке промене и концентрација метала и елемената у траговима у ткивима нису у

корелацији, те претпостављамо да су у случају смуђа и висок положај у ланцу исхране и другачије станиште показали ефекат на микроскопску анатомију ткива. Исхрана риба може да има ефекат на јетру, а поготово на структурне промене на хепатоцитима (Wolf & Wolfe 2005), иако се у овој студији оне статистички не разликују између врста.

## 6. ЗАКЉУЧЦИ

- На основу процене абунданције и масеног удела врста на истраживаним локалитетима, као и биолошких и еколошких карактеристика врста, као оптималне индикаторске врсте квалитета воде и рибљег меса у Дунаву на подручју Београда издвојиле су се деверика, крупатица и смуђ, а у нешто мањој мери и сом и мрена. Наведене врсте карактерисала је доступност у свим сезонама, лакоћа идентификације, као и значај за комерцијални и рекреативни риболов. Поред наведеног, одабране врсте обухватају основне трофичке нивое у заједници риба.
- У оквиру истраживања уочен је висок ниво диференцијалне акумулације елемената међу анализираним ткивима у сому из Дунава. Највиши свеукупни ниво акумулације уочен је у кичменом пршљену, бубрезима и јетри, док су минималне вредности уочене у жучној кеси, мишићу, мозгу и рибљем мехуру.
- Концентрације As, Cd, Pb, Cu, Fe, и Zn у мишићу биле су испод МДК прописаних законодавством Европске Уније и Републике Србије. Ниво акумулације у мишићу указује да се, према националним и европским стандардима, месо сома може користити у људској исхрани.
- Од изузетног је значаја обезбедити детаљне податке о процедури узорковања рибљих ткива. Наиме, концентрације метала и елемената у мишићу варирају у зависности од тога да ли је у узорак при анализи укључена и кожа. Слично је и са шкргама и шкржним луком и различитим деловима дигестивног система, али не и са ткивом јетре. Стога је препорука да се кожа и шкржни лук не користе при анализи мишића и шкрга као и да је неопходно нагласити који се део дигестивног тракта користи при анализи.
- Анализа акумулације елемената у крљуштима и аналном перају не представља задовољавајућу методу за процену контаминације мишића

овим елементима, али се може користити као метода раног упозорења за процену контаминације ткива појединим елементима.

- Већи степен патолошких промена на шкргама је узрокован сталним контактом са супстанцама које се налазе у води која их окружује, па шкрге стога представљају релевантне индикаторе изложености риба загађивачима у води.
- Деверика, као бентосна врста, је у директном контакту са седиментима не предузима велике миграције због чега представља добар индикатор за мониторинг загађења слатководних екосистема.
- Промене на ткивима су неспецифичне и не могу указати на полутант који изазива одређену промену, па је приликом праћења стања у животној средини неопходно поред ове методе применити и друге методе мониторинга.
- Концентрације органохлорних загађивача биле су ниске и испод максимално дозвољених концентрација, али треба имати у виду да су акватични организми изложени комплексној мешавини хемијских загађивача која може проузроковати кумулативне токсичне ефекте.



## 7. ЛИТЕРАТУРА

- Abalaka SE. 2015. Heavy metals bioaccumulation and histopathological changes in *Auchenoglanis occidentalis* fish from Tiga dam, Nigeria. *J. Environ. Health Sci. Eng.* 13, 67.
- Abdel-Tawwab M, Mousa MAA, Abbass FE. 2007. Growth performance and physiological response of African catfish, *Clarias gariepinus* (B.) fed organic selenium prior to the exposure to environmental copper toxicity. *Aquaculture* 272, 335–345.
- Adams SM. 1990. Status and use of biological indicators for evaluating the effects of stress on fish. In: Adams, SM (Ed.), *Am. Fish. Soc. Symp.* 1–8.
- Adams SM, Brown AM, Goede RW. 1993. A quantitative health assessment index for rapid evaluation of fish condition in the field. *Trans. Am. Fish. Soc.* 122, 63–73.
- Adams SM, Bevelhimer MS, Greeley MS, Levine DA, Teh SJ. 1999. Ecological risk assessment in a large river-reservoir: 6: Bioindicators of fish population health. *Environ. Toxicol. Chem.* 18, 628–640.
- Adams SM. 2000. Assessing sources of stress to aquatic ecosystems using integrated biomarkers. *Biological resource management connecting science and policy* 17–29.
- Addison RF. 2002. Whither "biological effects monitoring". In *ICES Marine Science Symposia.* 215, 184–194.
- Afshan S, Ali S, Ameen US, Farid M, Bharwana SA, Hannan F, Ahmad R. 2014. Effect of different heavy metal pollution on fish. *Res. J. Chem. Environ. Sci.* 2, 74–79.
- Agah H, Leermakers M, Elskens M, Fatemi SMR, Baeyens W. 2009. Accumulation of trace metals in the muscle and liver tissues of five fish species from the Persian Gulf. *Environ. Monit. Assess.* 157, 499.
- Al-Weher SM. 2008. Levels of heavy metal Cd, Cu and Zn in three fish species collected from the Northern Jordan Valley, Jordan. *Jordan J. Biol. Sci.* 1, 41–6.

- Al-Yousuf MH, El-Shahawi MS, Al-Ghais SM. 2000. Trace metals in liver, skin and muscle of *Lethrinus lentjan* fish species in relation to body length and sex. *Sci. Tot. Environ.* 256, 87–94.
- Ambasht RS, Ambasht NK. 2003. Modern trends in applied aquatic ecology. Springer Science & Business Media, New York, 1–371.
- Ameur WB, de Lapuente J, El Megdiche Y, Barhoumi B, Trabelsi S, Camps L, Serret J, Ramos-López D, Gonzalez-Linares J, Ridha Driss M, Borràs M. 2012. Oxidative stress, genotoxicity and histopathology biomarker responses in mullet (*Mugil cephalus*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) liver from Bizerte Lagoon (Tunisia). *Mar. Pollut Bull.* 64, 241–251.
- Anderson J, Scrimgeour G, Palace V, Sutor M, Wilcockson J. 2017. Quantifying Elements in Arctic Grayling and Bull Trout in the South Nahanni River Watershed, Northwest Territories, Using Nonlethal Tissue Samples. *N. Am. J. of Fish. Manag.* 37, 50–63.
- Antonijević MD, Arsović M, Časlavsky J, Cvetković V, Dabić P, Franko M, Ilić G, Ivanović M, Ivanović N, Kosovac M, Medić D, Najdanović S, Nikolić M, Novaković J, Radovanović T, Ranić Đ, Šajatović B, Špijunović G, Stanko I, Tošović J, Trebše P, Vasiljević O, Schwarzbauer J. 2014. Actual contamination of the Danube and Sava rivers at Belgrade. *J. Serb Chem. Soc.* 79, 1169–1184.
- Arnaudova D, Arnaudov A, Tomova E. 2008. Selected hematological indices of freshwater fish from Studen Kladenetsh Reservoir. *Bulgar. J. Agric. Sci.* 14, 244–250.
- Atobatele OE, Olutona GO. 2015. Distribution of three non-essential trace metals (Cadmium, Mercury and Lead) in the organs of fish from Aiba Reservoir, Iwo, Nigeria. *Toxicol. Rep.* 2, 896–903.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 1994. Toxicological profile for 4,4'-DDT, 4,4'-DDE, 4,4'-DDD (Update). TP-93/05. Prepared by Clement International Corporation. Prepared for U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, ATSDR.
- Au DWT. 2004. The application of histo-cytopathological biomarkers in marine pollution monitoring: a review, *Mar. Pollut. Bull.* 48, 817–834.

- Authman MM, Zaki MS, Khallaf EA, Abbas HH. 2015. Use of fish as bio-indicator of the effects of heavy metals pollution. *J. Aquac. Res. Dev.* 6, 1–13.
- Babić Mladenović M, Bartoš Divac V, Kolarov V. 2010. Natural characteristics of the Danube River in Serbia. In: *Danube in Serbia – Joint Danube Survey 2 U: Danube in Serbia – Joint Danube Survey 2* (Eds. Paunović M, Simonović P, Simić S, Simić V.). Directorate for Water Management, Belgrade, 59–79.
- Bakshi A, Panigrahi AK. 2018. A comprehensive review on chromium induced alterations in fresh water fishes. *Toxicol. Rep.* 5, 440–447.
- Baltić ŽM, Teodorović V. 1997. Higijena mesa, riba, rakova i školjki, udžbenik, Veterinarski fakultet, Beograd.
- Bancroft JD, Stevens A. 1977. *Theory and practice of histological techniques.* Churchill Livingstone, Edinburgh; New York, 436.
- Barišić J, Dragun Z, Ramani S, Marijić VF, Krasnići N, Čož-Rakovac R, Kostov V, Rebok K, Jordanova M. 2015. Evaluation of histopathological alterations in the gills of Vardar chub (*Squalius vardarensis* Karaman) as an indicator of river pollution. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 118, 158–166.
- Begum A, Mustafa AI, Amin MN, Chowdhury TR, Quraishi SB, Banu N. 2013. Levels of heavy metals in tissues of shingi fish (*Heteropneustes fossilis*) from Buriganga River, Bangladesh. *Environ. Monit. Assess.* 185, 5461–5469.
- Beltcheva M, Metcheva R, Peneva V, Marinova M, Yankov Y, Chikova V. 2011. Heavy metals in Antarctic notothenioid fish from South Bay, Livingston Island, South Shetlands (Antarctica). *Biol. Trace Elem. Res.* 141, 150–158.
- Benli AC, Köksal G, Ozkul A. 2008. Sublethal ammonia exposure of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.): effects on gill, liver and kidney histology. *Chemosphere* 72, 1355–1358.
- Bernet D, Schmidt H, Meier W, Burkhardt-Holm P, Wahli T. 1999. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *J. Fish Dis.* 22, 25–34.
- Bervoets L, Blust R. 2003. Metal concentrations in water, sediment and gudgeon (*Gobio gobio*) from a pollution gradient: relationship with fish condition factor. *Environ. Pollut.* 126, 9–19.
- Beyer A, Biziuk M. 2009. Environmental fate and global distribution of polychlorinated biphenyls. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 201, 137–158. Springer US.

- Beyer J, Petersen K, Song Y, Ruus A, Grung M, Bakke T, Tollefsen KE. 2014. Environmental risk assessment of combined effects in aquatic ecotoxicology: a discussion paper. *Mar. Environ. Res.* 96, 81–91.
- Bhavsar SP, Fletcher R, Hayton A, Reiner EJ, Jackson DA. 2007. Composition of dioxin-like PCBs in fish: an application for risk assessment. *Environ. Sci. Technol.* 41, 3096–3102.
- Bidleman T. F. 1988. Atmospheric processes. *Environ. Sci. Technol.* 22, 361–367.
- Bosi G, Shinn AP, Simoni E, Arrighi S, Domeneghini C. 2006. A comparative immunohistochemical study on a galanin-like peptide in the neuroendocrine system of the alimentary canal of three species of siluriform catfishes. *J. Fish Biol.* 68, 86–100.
- Brázová T, Hanzelová V, Miklisová D, Šalgovičová D, Turčeková E. 2012. Biomonitoring of polychlorinated biphenyls (PCBs) in heavily polluted aquatic environment in different fish species. *Environ. Monit. Assess.* 184, 6553–6561.
- Breseghele L, Cardoso MP, Borges-De-Oliveira R, Costa MF, Barreto JCB, Sa-bóia-Morais SMT, Yamada AT. 2004. Effects of sodium fluoride in gill epithelium of Guppy fish (*Poecilia vivipara*). *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 41, 274–280.
- Bridges CC, Zalups RK 2005. Molecular and ionic mimicry and the transport of toxic metals. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 204, 274–308.
- Burkhardt-Holm P, Bloesch J. 2000. Fish as bioindicators for pollutants in the Danube River: An approach. *Internat. Assoc. Danube Res.* 33, 375–382.
- Castro-González MI, Méndez-Armenta M. 2008. Heavy metals: implications associated to fish consumption. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 26, 263–271.
- Cattani O, Serra R, Isani G, Raggi G, Cortesi P, Carpena E. 1996. Correlation between metallothionein and energy metabolism in sea bass, *Dicentrarchus labrax*, exposed to cadmium. *Comp. Biochem. Physiol. C.* 113, 193–199.
- Červenka R, Bednařík A, Komárek J, Ondračková M, Jurajda P, Vitek T, Spurný P. 2011. The relationship between the mercury concentration in fish muscles and scales/fins and its significance. *Cent. Eur. J. Chem.* 9, 1109.
- Chovanec A, Hofer R, Schiemer F. 2003. Fish as bioindicators. Trace metals and other contaminants in the environment. 6, 639–676.

- Chowdhury MJ, McDonald DG, Wood CM. 2004. Gastrointestinal uptake and fate of cadmium in rainbow trout acclimated to sublethal dietary cadmium. *Aquat. Toxicol.* 69, 149–163.
- Clarkson TW, Magos L, Myers GJ. 2003. The toxicology of mercury – current exposures and clinical manifestations. *New Engl. J. Med.* 349, 1731–1737.
- Coello WF, Khan MAQ. 1996. Protection against heavy metal toxicity by mucus and scales in fish. *Arch Environ. Contam. Toxicol.* 30, 319–326.
- Copp GH, Robert Britton J, Cucherousset J, García-Berthou E, Kirk R, Peeler E, Stakėnas S. 2009. Voracious invader or benign feline? A review of the environmental biology of European catfish *Silurus glanis* in its native and introduced ranges. *Fish and fisheries.* 10, 252–282.
- Couture P, Rajotte JW. 2003. Morphometric and metabolic indicators of metal stress in wild yellow perch (*Perca flavescens*) from Sudbury, Ontario: a review. *J. Environ. Monit.* 5, 216–221.
- Covaci A, Gheorghe A, Hulea O, Schepens P. 2006. Levels and distribution of organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in sediments and biota from the Danube Delta, Romania. *Environ. Pollut.* 140, 136–149.
- Crafford, D, Avenant-Oldewage, A. 2010. Bioaccumulation of non-essential trace metals in tissues and organs of *Clarias gariepinus* (sharp-tooth catfish) from the Vaal River system-strontium, aluminium, lead and nickel. *Water SA.* 36,621–40.
- Culioli JL, Calendini S, Mori C, Orsini A. 2009. Arsenic accumulation in a freshwater fish living in a contaminated river of Corsica, France. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 72, 1440–1445.
- Dalmacija B, Agbaba J. 2008. Zagađujuće materije u vodenom ekosistemu i remedijacioni procesi. Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Novi Sad.
- Dane H, Şişman T. 2015. Histopathological changes in gill and liver of *Capoeta capoeta* living in the Karasu River, Erzurum. *Environ. Toxicol.* 30, 904–917.
- Dang M, Nørregaard R, Bach L, Sonne C, Søndergaard J, Gustavson K, Aastrup P, Nowak B. 2017. Metal residues, histopathology and presence of parasites in the liver and gills of fourhorn sculpin (*Myoxocephalus quadricornis*) and shorthorn

- sculpin (*Myoxocephalus scorpius*) near a former lead-zinc mine in East Greenland. Environ. Res. 153, 171–180.
- de Zwart D. 1995. Monitoring water quality in the future, Vol 3: Biomonitoring, Bilthoven, The Netherlands, 81.
- Deng L, Li Y, Yan X, Xiao J, Ma C, Zheng J, Liu S, Yang R. 2015. Ultrasensitive and highly selective detection of bioaccumulation of methyl-mercury in fish samples via Ag<sub>0</sub>/Hg<sub>0</sub> amalgamation. Anal. Chem. 87, 2452–2458.
- Denić Lj, Čađo S, Đurković A, Novaković B, Dopuđa-Glišić T, Stojanović Z, Veljković N. 2015. Status površinskih voda u 2012. i 2013. godini. Ed: Filip Radović. Ministarstvo poljoprivrede i zaštite životne sredine, Agencija za zaštitu životne sredine, Beograd.
- Denić Lj, Čađo S, Đurković A, Novaković B, Dopuđa-Glišić T, Veljković N, Stojanović Z, Milovanović J, Domanović M. 2015. Status površinskih voda Srbije – analize i elementi za projektovanje monitoring. Ed: Filip Radović. Ministarstvo poljoprivrede i zaštite životne sredine, Agencija za zaštitu životne sredine, Beograd.
- Depledge MH. 1993. In: Fossi, MC, Leonzio, C. Nondestructive Biomarkers in Vertebrates, Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA, 261–285.
- Đinović-Stojanović J, Spasić J, Popović A, Vranić D, Nikčević M, Hegediš A, Nikolić D. 2013. Distribucija organohlornih pesticida i polihlorovanih bifenila u dve vrste riba iz Dunava. Tehnologija Mesa, 54.
- Directive WF. 2000. Water Framework Directive. Common Implementation.
- Dopp E, Hartmann LM, Florea AM, Rettenmier AW, Hirner AV. 2004. Environmental distribution, analysis, and toxicity of organometal (loid) compounds. Crit. Rev. Toxicol. 34, 301–333.
- Duruibe JO, Ogwuegbu MOC, Egwurugwu JN. 2007. Heavy metal pollution and human biotoxic effects. Int. J. Phys. Sci. 2, 112–118.
- Ebrahimpour M, Pourkhabbaz A, Baramaki R, Babaei H, Rezaei M. 2011. Bioaccumulation of heavy metals in freshwater fish species, Anzali, Iran. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 87, 386–392.
- Edmonds JS, Francesconi KA. 1981. The origin and chemical form of arsenic in the school whiting. Mar. Pollut. Bull. 12, 92–96.

- El-Shahawi MS, Hamza A, Bashammakh AS, Al-Saggaf WT. 2010. An overview on the accumulation, distribution, transformations, toxicity and analytical methods for the monitoring of persistent organic pollutants. *Talanta*. 80, 1587–1597.
- EPA. 2000. Guidance for assessing chemical contaminant data for use in fish advisories. Vol. 1, Fish sampling and analysis. 3rd ed. Washington: Environmental Protection Agency.
- Erdoğan Ö, Erbilir F. 2007. Heavy metal and trace elements in various fish samples from Sır Dam Lake, Kahramanmaraş, Turkey. *Environ. Monit. Assess.* 130, 373–379.
- European Commission Regulation. 2005. Commission Regulation (EU) No. 396/2005 of the European parliament and of the council on maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of plant and animal origin and amending Council Directive 91/414/EEC.
- European Commission Regulation. 2006. Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs, Official Journal of the European Union No. 1881/2006.
- European Commission Regulation. 2011. Commission Regulation (EU) No. 1259/2011 of 2 December 2011 amending regulation (EC) no. 1881/2006 as regards maximum levels for dioxins, dioxin-like PCBs and non dioxin-like PCBs in foodstuffs. Official Journal of the European Union, 2011, L 320, 18–23.
- Evans DH. 1987. The fish gill: site of action and model for toxic effects of environmental pollutants. *Environ. Health Perspect.* 71, 47.
- Faroon O, Harris MO. 2002. Toxicological profile for DDT, DDE, and DDD.
- Farrell AP, Hodaly AH, Wang S. 2000. Metal analysis of scales taken from arctic grayling. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 39, 515–522.
- Fernandes MN, Moron SE, Sakuragui MM. 2007. Gill morphological adjustments to environment and the gas exchange function. *Fish respiration and environment*, 93–120.
- Ferreira JT, Schoonbee HJ, Smit, GL. 1984. The uptake of the anaesthetic benzocaine hydrochloride by the gills and the skin of three freshwater fish species. *J. Fish Biol.* 25, 35–41.

- Fiedler H. (Ed.). 2002. Persistent organic pollutants (Vol. 3). Springer Science & Business Media, 432.
- Fisher A, Walker M, Powell P. 2003. DDT and DDE: Sources of exposure and how to avoid them. Nevada Cooperative Extension.
- Fonseca AR, Fernandes LS, Fontainhas-Fernandes A, Monteiro SM, Pacheco FAL. 2016. From catchment to fish: Impact of anthropogenic pressures on gill histopathology. *Sci. Tot. Environ.* 550, 972–986.
- Forstner U, Wittmann GTW. 1981. Metal Pollution in the Aquatic Environment, Second edition, Springer, Berlin, 486.
- Fu Z, Wu F, Amarasiriwardena D, Mo C, Liu B, Zhu J, Deng Q, Liao H. 2010. Antimony, arsenic and mercury in the aquatic environment and fish in a large antimony mining area in Hunan, China. *Sci. Tot. Environ.* 408, 3403–3410.
- Gan DR, Berthouex PM. 1994. Disappearance and crop uptake of PCBs from sludge-amended farmland. *Water Environ. Res.* 66, 54–69.
- Gasparotti C, Eugen R, Stefan D. 2013. The impact of anthropogenic activities on the water quality in the Danube River Basin. International Multidisciplinary Scientific GeoConference: SGEM: Surveying Geology & mining Ecology Management. 1, 987–994.
- Gasparotti C. 2014. The main factors of water pollution in Danube River basin. *EuroEconomica.* 33, 91–106.
- Gavrančić S, Skala D. 2000. Polihlorovani bifenili – osobine, primena i tehnologije razgradnje. *Hemijska industrija. Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd.* 54, 53–63.
- Giari L, Manera M, Simoni E, Dezfuli BS. 2007. Cellular alterations in different organs of European sea bass *Dicentrarchus labrax* L. exposed to cadmium, *Chemosphere* 67, 1171–1181.
- Gochfeld M. 2003. Cases of mercury exposure, bioavailability, and absorption. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 56, 174–179.
- Goede R W. 1990. Organismic indices and an autopsy-based assessment as indicator of health and condition of fish. *Am. Fish. Soc. Symp.* 8, 93–108.
- Golovanova IL. 2008. Effects of heavy metals on the physiological and biochemical status of fishes and aquatic invertebrates. *Inland Water Biol.* 1, 93–101.



- Gremillion PT, Cizdziel JV, Cody NR. 2005. Caudal fin mercury as a non-lethal predictor of fish-muscle mercury. *Environ. Chem.* 2, 96–99.
- Guggenheim K, Gaster D. 1973. The role of manganese, copper and zinc in the physiology of bone and teeth. In: Zipkin, I (Ed.) *Biological Mineralization*. John Wiley and Sons, Inc., New York. 443–462.
- Hodson PV, Whittle DM, Wong PT, Borgmann U, Thomas RL. 1984. Lead contamination of the Great Lakes and its potential effects on aquatic biota [Fish, toxicity]. *Adv. Environ. Sci. Technol.*
- Ham KD, Adams SM, Peterson MJ. 1997. Application of multiple bioindicators to differentiate spatial and temporal variability from the effects of contaminant exposure on fish. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 37, 53–61.
- Harkabusová V, Čelechovská O, Lavičková A, Svobodová Z. 2012. Monitoring of risk metals in chub (*Leuciscus cephalus* L.) from the Svitava and Svatka rivers in the urban area of Brno, Czech Republic. *Acta Vet. Brno*, 81, 69–73.
- Has-Schön E, Bogut I, Strelec I. 2006. Heavy metal profile in five fish species included in human diet, domiciled in the end flow of River Neretva (Croatia). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 50, 545–551.
- Has-Schön E, Bogut I, Vuković R, Galović D, Bogut A, Horvatić J. 2015. Distribution and age-related bioaccumulation of lead (Pb), mercury (Hg), cadmium (Cd), and arsenic (As) in tissues of common carp (*Cyprinus carpio*) and European catfish (*Sylurus glanis*) from the Buško Blato reservoir (Bosnia and Herzegovina). *Chemosphere*, 135, 289–296.
- Hauser-Davis RA, Bastos FF, de Oliveira TF, Ziolli RL, de Campos RC. 2012. Fish bile as a biomarker for metal exposure. *Mar. Pollut. Bull.* 64, 1589–1595.
- Havelková M, Dušek L, Némethová D, Poleszczuk G, Svobodová Z. 2008. Comparison of mercury distribution between liver and muscle – a biomonitoring of fish from lightly and heavily contaminated localities. *Sensors*, 8, 4095–4109.
- Hegediš A, Lenhardt M, Gačić Z, Jarić I, Višnjić-Jeftić Ž, Đikanović V, Smederevac-Lalić M, Cvijanović G, Pucar M, Skorić S, Jovičić K. 2013. Ispitivanje stanja i valorizacija ribolovnog resursa u Dunavu i Savi na teritoriji Beograda – osnova za razvoj programa monitoringa. Finalni izveštaj. Institut za

- multidisciplinarna istraživanja Univerziteta u Beogradu, Grad Beograd – Sekretarijat za zaštitu životne sredine. 167.
- Hernández PP, Moreno V, Olivari FA, Allende ML. 2006. Sub-lethal concentrations of waterborne copper are toxic to lateral line neuromasts in zebrafish (*Danio rerio*). *Hear Res.* 213, 1–10.
- Hinton DE, Segner H, Braunbeck T. 2001. Toxic responses of the liver. In: Schlenk, D, Bensen, WH (Eds.), *Organs. In: Toxicity in Marine and Freshwater Teleosts*, vol. 1. Taylor & Francis, London, 224–268.
- Hoffman, DJ, Rattner, BA, Burton GA Jr, Cairns J. 2002. *Handbook of ecotoxicology*. CRC press, Boca Raton, 1315.
- Hogstrand C, Wood CM. 1996. The physiology and toxicology of zinc in fish. In: Taylor EW (ed) *Aquatic toxicology*, vol 1. Cambridge University Press, Cambridge, 61–84.
- Hosseini M, Nabavi SMB, Nabavi SN, Pour NA. 2015. Heavy metals (Cd, Co, Cu, Ni, Pb, Fe, and Hg) content in four fish commonly consumed in Iran: risk assessment for the consumers. *Environ. Monit. Assess.* 187, 237.
- Huggett RJ. 2018. *Biomarkers: biochemical, physiological, and histological markers of anthropogenic stress*. CRC Press, Boca Raton, 87.
- Hughes MF. 2002. Arsenic toxicity and potential mechanisms of action. *Toxicol. Lett.* 133, 1–16.
- ICPDR. 2005. *The Danube River basin district, WFD Roof Report 2004*.
- Janković S, Ćurčić M, Radičević T, Stefanović S, Lenhardt M, Durgo K, Antonijević B. 2011. Non-dioxin-like PCBs in ten different fish species from the Danube river in Serbia. *Environ. Monit. Assess.* 181, 153–163.
- Järup L. 2003. Hazards of heavy metal contamination. *Brit. Med. Bull.* 68, 167–182.
- Javed M, Ahmad I, Usmani N, Ahmad M. 2016. Studies on biomarkers of oxidative stress and associated genotoxicity and histopathology in *Channa punctatus* from heavy metal polluted canal. *Chemosphere*, 151, 210–219.
- Jensen S, Johnels AG, Olsson M, Otterlind G. 1969. DDT and PCB in marine animals from Swedish waters. *Nature.* 224, 247–250.

- Jeziarska B, Witeska M. 2006. The metal uptake and accumulation in fish living in polluted waters. In: Soil and water pollution monitoring, protection and remediation, Springer, Dordrecht, 107–114.
- Jiang H, Yang H, Kong X, Wang S, Liu D, Shi S. 2012. Response of acid and alkaline phosphatase activities to copper exposure and recovery in freshwater fish *Carassius auratus gibelio* var. *Life Sci. J.* 9, 233–245.
- Jones KC, De Voogt P. 1999. Persistent organic pollutants (POPs): state of the science. *Environ. Pollut.* 100, 209–221.
- Jönsson ME, Brunstrom B, Ingebrigtsen K, Brandt I. 2004. Cell specific CYP1 A expression and benzo[a]pyrene adduct formation in gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following CYP1 A induction in the laboratory and in the field, *Environ. Toxicol. Chem.* 23, 874–882.
- Jovičić K, Lenhardt M, Jarić I. 2015. Importance of Standardized Reporting of Elemental Concentrations in Fish Tissues. *Hum. Ecol. Risk Assess.* 21, 2170–2173.
- Jovičić K, Janković S, Višnjić-Jeftić Ž, Skorić S, Đikanović V, Lenhardt M, Hegediš A, Krpo-Ćetković J, Jarić, I. 2016. Mapping differential elemental accumulation in fish tissues: importance of fish tissue sampling standardization. *Arc. Biol. Sci.* 68, 303–309.
- Kalyoncu L, Kalyoncu H, Arslan G. 2012. Determination of heavy metals and metals levels in five fish species from Işıklı Dam Lake and Karacaören Dam Lake (Turkey). *Environ. Monit. Assess.* 184, 2231–2235.
- Karan V. 2010. Ekotoksikologija. Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd – Zemun, 77.
- Karr JR, Fausch KD, Angermeier PL, Yant PR, Schlosser IJ. 1986. Assessing biological integrity in running waters: a method and its rationale. Illinois Natural History Survey, Special Publication 5, Champaign.
- Karuppasamy R. 2004. Evaluation of mercury concentration in the tissue of fish *Channa punctatus* (Bloch) in relation to short and long term exposure to phenyl mercuric acetate. *J. Plat. Jubilee AU*, 40, 179–204.

- Kaštelan-Macan M, Ahel M, Horvat AJ, Jabučar D, Jovančić P. 2007. Water resources and waste water management in Bosnia and Herzegovina, Croatia and the State Union of Serbia and Montenegro. *Water Policy*. 9, 319–343.
- Khanna DR, Sarkar P, Gautam A, Bhutiani R. 2007. Fish scales as bio-indicator of water quality of River Ganga. *Environ. Monit. Assess.* 134, 153.
- Khoshnood Z, Khoshnood R, Mokhelsi A, Ehsanpour M, Afkhami M, Khazaali A. 2012. Determination of Cd, Pb, Hg, Cu, Fe, Mn, Al, As, Ni and Zn in important commercial fishspecies in northern of Persian Gulf, *J. Cell Anim. Biol.* 6, 1–9.
- Kottelat M, Freyhof J. 2007. Handbook of European freshwater fishes. Kottelat, Cornol, Switzerland and Freyhof, Berlin, Germany.
- Lake JL, Ryba SA, Serbst JR, Libby AD. 2006. Mercury in fish scales as an assessment method for predicting muscle tissue mercury concentrations in largemouth bass. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 50, 539–544.
- Lam PKS, Wu RSS. 2003. Use of biomarkers in environmental monitoring. Background paper for STAP workshop Analytical methods for POPs. Tsukuba, Japan.
- Lam PKS. 2009. Use of biomarkers in environmental monitoring. *Ocean Coast Manag* 52, 48–354.
- Le Cren ED. 1951. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). *J. Anim. Ecol.* 201–219.
- Le DQ, Nguyen DC, Harino H, Kakutani N, Chino N, Arai T. 2010. Distribution of trace metals and methylmercury in soft tissues of the freshwater eel *Anguilla marmorata* in Vietnam. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 59, 282–290.
- Lenhardt M, Jarić I, Cakić P, Cvijanović G, Gačić Z, Kolarević J. 2009. Seasonal changes in condition, hepatosomatic index and parasitism in sterlet (*Acipenser ruthenus* L.). *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 33, 209–214.
- Lenhardt M, Markovic G, Hegedis A, Maletin S, Cirkovic M, Markovic Z. 2011. Non-native and translocated fish species in Serbia and their impact on the native ichthyofauna. *Rev. Fish Biol. Fisher.* 21, 407–421.
- Lenhardt M, Jarić I, Višnjić-Jeftić Ž, Skorić S, Gačić Z, Pucar M, Hegediš A. 2012. Concentrations of 17 elements in muscle, gills, liver and gonads of five

- economically important fish species from the Danube River. *Knowl. Manag. Aquat. Ecosyst.* 407, 02.
- Li L, Zheng B, Liu L. 2010. Biomonitoring and bioindicators used for river ecosystems: definitions, approaches and trends. *Procedia Environ. Sci.* 2, 1510–1524.
- Liebel S, Tomotake MEM, Ribeiro CAO. 2013. Fish histopathology as biomarker to evaluate water quality. *Ecotoxicol. Environ. Contam.* 8, 09–15.
- Literathy P, Laszlo F. 1995. Harmonisation of micropollutant monitoring in large international river: Danube. *Water Sci. Technol.* 32, 125–137.
- Louiz I, Palluel O, Ben-Attia M, Aït-Aïssa S, Hassine OKB. 2018. Liver histopathology and biochemical biomarkers in *Gobius niger* and *Zosterisessor ophiocephalus* from polluted and non-polluted Tunisian lagoons (Southern Mediterranean Sea). *Mar. Pollut. Bull.* 128, 248–258.
- Love RM. 1980. *The Chemical Biology of Fishes, Vol. 2: Advances 1968– 1977.* Academic Press, New York. 987.
- Lujčić J, Matavulj M, Poleksić V, Rašković B, Marinović Z, Kostić D, Miljanović B. 2015. Gill reaction to pollutants from the Tamiš River in three freshwater fish species, *Esox lucius* L. 1758, *Sander lucioperca* (L. 1758) and *Silurus glanis* L. 1758: a comparative study. *Anat. Histol. Embryol.* 44, 128–137.
- Mackay D, Fraser A. 2000. Bioaccumulation of persistent organic chemicals: mechanisms and models. *Environ. Pollut.* 110, 375–391.
- Maher W, Goessler W, Kirby J, Raber G. 1999. Arsenic concentrations and speciation in the tissues and blood of sea mullet (*Mugil cephalus*) from Lake Macquarie NSW, Australia. *Mar. Chem.* 68, 169–182.
- Mallatt J. 1985. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 42, 630–648.
- Manning OR, Coomer C, Crellin J, Reinert R, Stober QJ, Winger P. 1992. Recommendations for a fish tissue monitoring strategy for freshwater lakes, rivers and streams.
- Marchand MJ, Van Dyk JC, Pieterse GM, Barnhoorn IEJ, Bornman MS. 2009. Histopathological alterations in the liver of the sharptooth catfish *Clarias*

- gariepinus from polluted aquatic systems in South Africa. *Environ. Toxicol.* 24, 133–147.
- Marchand MJ, Van Dyk JC, Barnhoorn IE, Wagenaar GM. 2012. Histopathological changes in two potential indicator fish species from a hyper-eutrophic freshwater ecosystem in South Africa: a baseline study. *Afr. J. Aquat. Sci.* 37, 39–48.
- Marth P, Oxykos K, Schmitzer J, Schramm KW, Kettrup A. 1997. Levels of chlorinated hydrocarbons (CHC1) in breams (*Abramis brama*) from the river elbe (a contribution to the federal Environmental Specimen Bank). *Chemosphere*, 34, 2183–2192.
- Mashroofeh A, Bakhtiari AR, Pourkazemi M, Rasouli S. 2013. Bioaccumulation of Cd, Pb and Zn in the edible and inedible tissues of three sturgeon species in the Iranian coastline of the Caspian Sea. *Chemosphere* 90, 573–580.
- Milanović A, Kovačević-Majkić J, Milivojević M. 2010. Water quality analysis of Danube river in Serbia: Pollution and protection problems. *Bull. Serbian Geograph. Soc.* 90, 47–68.
- Milenkovic N, Damjanovic M, Ristic M. 2005. Study of Heavy Metal Pollution in Sediments from the Iron Gate (Danube River), Serbia and Montenegro. *Pol. Environ. Stud.* 14, 781–787.
- Mingelgrin U, Nasser A. 2006. Diagnosis and Prognosis of the Distribution of Contaminants in the Geosphere. In *Soil and Water Pollution Monitoring, Protection and Remediation*, Springer, Dordrecht. 3–23.
- Miranda AL, Roche H, Randi MAF, Menezes MLD, Ribeiro CO. 2008. Bioaccumulation of chlorinated pesticides and PCBs in the tropical freshwater fish *Hoplias malabaricus*: histopathological, physiological, and immunological findings. *Environ. Int.* 34, 939–949.
- Miron DS, Moraes B, Becker AG, Crestani M, Spanevello R, Loro VL, Baldisserotto B. 2008. Ammonia and pH effects on some metabolic parameters and gill histology of silver catfish, *Rhamdia quelen* (Heptapteridae). *Aquaculture* 277, 192–196.
- Mohammed AS, Kapri A, Goel R. 2011. Heavy metal pollution: source, impact, and remedies. In *Bio-management of metal-contaminated soils*, Springer Netherlands, 1–28.

- Mondon JA, Duda S, Nowak BF. 2001. Histological, growth and 7-ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) activity responses of greenback flounder *Rhombosolea tapirina* to contaminated marine sediment and diet. *Aquatic Toxicology* 54, 231–247.
- Monikh FA, Safahieh A, Savari A, Ronagh MT, Doraghi A. 2013. The relationship between heavy metal (Cd, Co, Cu, Ni and Pb) levels and the size of benthic, benthopelagic and pelagic fish species, Persian Gulf. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 90, 691–696.
- Monteiro SM, dos Santos NMS, Calejo M, Fontainhas-Fernandes A, Sousa M. 2009. Copper toxicity in gills of the teleost fish, *Oreochromis niloticus*: Effects in apoptosis induction and cell proliferation. *Aquat. Toxicol.* 94, 219–228.
- Monteiro V, Cavalcante DGSM, Viléla MBFA, Sofia SH, Martinez CBR. 2011. In vivo and in vitro exposures for the evaluation of the genotoxic effects of lead on the Neotropical freshwater fish *Prochilodus lineatus*. *Aquat. Toxicol.* 104, 291–298.
- Moore JW. 2012. Inorganic contaminants of surface water: research and monitoring priorities. Springer Science & Business Media, New York, 343.
- Munoz-Olivas R, Camara C. 2001. Speciation related to health, In: L. Ebdon, L. Pitts, R. Cornelius, H. Crews, O. F. X. Donad & P. Quevauviller (Eds.), Trace element speciation for environment, food and health, The Royal Society of Chemistry, 331–353.
- Murtala BA, Abdul WO, Akinyemi AA. 2012. Bioaccumulation of heavy metals in fish (*Hydrocynus forskahlii*, *Hyperopisus bebe occidentalis* and *Clarias gariepinus*) organs in downstream Ogun coastal water, Nigeria. *J. Agr. Sci.* 4, 51–59.
- Nagajyoti PC, Lee KD, Sreekanth TVM. 2010. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environ. Chem. Lett.* 8, 199–216.
- Naigaga I, Kaiser H, Muller W J, Ojok L, Mbabazi D, Magezi G, Muhumuza E. 2011. Fish as bioindicators in aquatic environmental pollution assessment: a case study in Lake Victoria wetlands, Uganda. *Phys. Chem. Earth, Parts A/B/C.* 36, 918–928.

- National Research Council. 2001. A risk-management strategy for PCB-contaminated sediments. National Academies Press.
- Niimi AJ. 1990. Review of biochemical methods and other indicators to assess fish health in aquatic ecosystems containing toxic chemicals. *J. Great Lakes Res.* 16, 529–541.
- Niimi AJ. 1996. Evaluation of PCBs and PCDD/Fs retention by aquatic organisms. *Sci. Tot. Environ.* 192, 123–50.
- Noël JF, Weigel JY, Morand P. 2007. Defining criteria and indicators to compare the societal cost of fishing activities in marine protected areas and in unprotected zones.
- Noyes PD, McElwee MK, Miller HD, Clark, BW, Van Tiem, LA, Walcott, KC, Erwin, KN, Levin ED. 2009. The toxicology of climate change: environmental contaminants in a warming world. *Environ. Int.* 35, 971–986.
- Nriagu JO, Pacyna JM. 1988. Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. *Nature*, 333, 134–139.
- Oerke EC, Dehne HW. 2004. Safeguarding production – losses in major crops and the role of crop protection. *Crop protection.* 23, 275–285.
- Oertel N, Salánki J. 2003. Biomonitoring and bioindicators in aquatic ecosystems. In: Ambasht RS, Ambasht NK (Eds) *Modern trends in applied aquatic ecology.* Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 219–246.
- Omar WA, Saleh YS, Marie MAS. 2014. Integrating multiple fish biomarkers and risk assessment as indicators of metal pollution along the Red Sea coast of Hodeida, Yemen Republic. *Ecotoxicol. Environ. Safe.* 110, 221–231.
- Paulino MG, Souza NES, Fernandes MN. 2012. Subchronic exposure to atrazine induces biochemical and histopathological changes in the gills of a Neotropical freshwater fish, *Prochilodus lineatus*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 80, 6–13.
- Pavličević N, Baltić ŽM, Dimitrijević M, Karabasil N, Đorđević V, Marković R, Grbić S. 2014. Polinezasićene masne kiseline u mesu ribe i njihov značaj za zdravlje ljudi. *Tehnologija Mesa*, 55.
- Peatman E, Lange M, Zhao H, Beck BH. 2015. Physiology and immunology of mucosal barriers in catfish (*Ictalurus spp.*). *Tissue barriers*, 3, e1068907.



- Pereira BF, da Silva Alves RM, Pitol DL, Senhorini JA, de Cássia Gimenes R, de Alcântara Rocha Caetano FH. 2012. Morphological gill analysis of fish species *Prochilodus lineatus* after exposure to pollutants. *J. Environ. Anal. Toxicol.* 2, 1–4.
- Perry SF, Laurent P. 1993. Environmental effects on fish gill structure and function. *Fish Ecophysiology* 9, 231–264.
- Petrović L. 2015. Spatial development analysis of the Danube region in Serbia in the function of sustainable development. *Bull. Serbian Geograph. Soc.* 95, 141–158.
- Phillips GR., Lenhart TE, Gregory RW. 1980. Relations between trophic position and mercury accumulation among fishes from the Tongue River Reservoir, Montana. *Environ. Res.* 22, 73–80.
- Ploetz DM, Fitts BE, Rice TM. 2007. Differential accumulation of heavy metals in muscle and liver of a marine fish, (King Mackerel, *Scomberomorus cavalla* Cuvier) from the Northern Gulf of Mexico, USA. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 78, 134–137.
- Poleksić V, Mitrović-Tutundžić V. 1994. Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish. Oxford: Fishing News Books, 339–352.
- Pollock MS, Clarke LMJ, Dubé MG. 2007. The effects of hypoxia on fishes: from ecological relevance to physiological effects. *Environ. Rev.* 15, 1–14.
- Powers DA. 1989. Fish as model systems. *Science* 246, 352–358.
- Pravilnik o nacionalnoj listi indikatora zaštite životne sredine – Sl. glasnik RS, br. 37/2011.
- Pyle GG, Rajotte JW, Couture P. 2005. Effects of industrial metals on wild fish populations along a metal contamination gradient. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 61, 287–312.
- Qadir A, Malik RN. 2011. Heavy metals in eight edible fish species from two polluted tributaries (Aik and Palkhu) of the River Chenab, Pakistan. *Biol. Trace Elem. Res.* 143, 1524–40.
- Raine JC, Pietrock M, Willner K, Chung K, Turcotte D, Parrott JL. 2017. Parasitological analysis and gill histopathology of pearl dace (*Semotilus margarita*) and brook stickleback (*Culaea inconstans*) collected from the

- Athabasca oil sands area (Canada). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 98,733–739.
- Randall DJ, Brauner CJ, Thurston RV, Neuman JF. 1996. Water chemistry at the gill surfaces of fish and the uptake of xenobiotics. In: *Toxicology of Aquatic Pollution: Physiological, Molecular and Cellular Approaches*, 57, 1.
- Rashed MN. 2001. Cadmium and lead levels in fish (*Tilapia nilotica*) tissues as biological indicator for lake water pollution. *Environ. Monit. Assess.* 68, 75–89.
- Rašković B, Jarić I, Koko V, Spasić M, Dulić Z, Marković Z, Poleksic V. 2013. Histopathological indicators: A useful fishhealth monitoring tool in common carp (*Cyprinus carpio* L., 1758) culture. *Cent. Eur. J. Biol.* 8, 975–985.
- Rašković B, Poleksić V, Živić I, Spasić M. 2010. Histology of carp (*Cyprinus carpio* L.) gills and pond water quality in semiintensive production. *Bulg J. of Agric. Sci.* 16, 253–262.
- Rašković B. 2013. Liver, intestine, gills, and kidney histology of common carp (*Cyprinus carpio* L., 1758) reared in semiintensive system: effects of different supplemental feeds. *Doktorska disertacija*. Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet, Srbija.
- Rašković B, Poleksić V, Višnjić-Jeftić Ž, Skorić S, Gačić Z, Djikanović V, Jarić I, Lenhardt M. 2015. Use of histopathology and elemental accumulation in different organs of two benthophagous fish species as indicators of river pollution. *Environ. Toxicol.* 30, 1153–1161.
- Reddy PB, Rawat SS. 2013. Assessment of aquatic pollution using histopathology in fish as a protocol. *Int. Res. J. Environ. Sci.* 2, 79–82.
- Ricker WE. 1975. Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. *The Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 191, 1–382.
- Ritter KS, Sibley P, Hall K, Keen P, Mattu G, Beth Linton L. 2002. Sources, pathways, and relative risks of contaminants in surface water and groundwater: a perspective prepared for the Walkerton inquiry. *J. Toxicol. Environ. Health A.* 65, 1–142.
- Roche H, Buet A, Jonot O, Ramade F. 2000. Organochlorine residues in european eel (*Anguilla anguilla*), crucian carp (*Carassius carassius*) and catfish (*Ictalurus nebulosus*) from Vaccares lagoon (French National Nature Reserve of

- Camargue) – effects on some physiological parameters. *Aquat. Toxicol.* 48, 443–459.
- Rose J, Hutcheson MS, West CR, Pancorbo O, Hulme K, Cooperman A, Decesare G, Isaac R, Screpetis A. 1999. Fish mercury distribution in Massachusetts, USA lakes. *Environ. Toxicol. Chem.* 18, 1370–1379.
- Sanchez W, Porcher JM. 2009. Fish biomarkers for environmental monitoring within the Water Framework Directive of the European Union. *Trends Analyt. Chem.* 28, 150–158.
- Schenone NF, Avigliano E, Goessler W, Cirelli AF. 2014. Toxic metals, trace and major elements determined by ICPMS in tissues of *Parapimelodus valenciennis* and *Prochilodus lineatus* from Chascomus Lake, Argentina. *Microchem. J.* 112, 127–31.
- Schlenk D, Benson WH (Eds.). 2003. Target organ toxicity in marine and freshwater teleosts: Organs. CRC press.
- Seagren, E.A., 2005. Editorial: DDT, human health, and the environment. *J. Environ. Eng. ASCE* 31, 1617–1619.
- Seymore T, du Preez HH, van Vuren JHJ. 1995. Manganese, lead and strontium bioaccumulation in the tissues of the yellowfish, *Barbus marequensis* from the lower Olifants River, Eastern Transvaal. *Water SA* 21, 159–172.
- Sfakianakis DG, Renieri E, Kentouri M, Tsatsakis AM. 2015. Effect of heavy metals on fish larvae deformities: A review. *Enviro. Res.* 137, 246–255.
- Sharma CM, Rosseland BO, Almvik M, Eklo OM. 2009. Bioaccumulation of organochlorine pollutants in the fish community in Lake Årungen, Norway. *Environ. Pollut.* 157, 2452–8.
- Sharma RK, Agrawal M. 2005. Biological effects of heavy metals: an overview. *J. Environ. Biol.* 26, 301–313.
- Shephard KL. 1994. Functions for fish mucus. *Rev. Fish. Biol. Fish.* 4, 401–429.
- Sibley PK, Hanson ML. 2011. Ecological impact of organics chemicals on freshwater ecosystem. In: Sanchez-Bayo F, van den Brick PJ, Mann RM. (Eds.), *Ecological impact of toxic chemicals*. Bentham Science Publishers, 138–164.
- Simonović P. 2001. *Ribe Srbije*. NNK International, Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu, Zavod za zaštitu prirode Srbije. 260.

- Skinner RH, Kandrashoff W. 1988. Abnormalities and diseases observed in commercial fish catches from Biscayne Bay, Florida. *Water Research Bulletin* 24, 961–966.
- Sloman KA, Baker DW, Ho CG, McDonald DG, Wood CM. 2003. The effects of trace metal exposure on agonistic encounters in juvenile rainbow trout. *Aquat. Toxicol.* 63, 187–196.
- Službeni glasnik RS br. 28/2011. Pravilnik o količinama pesticida, metala i metaloida i drugih otrovnih supstancija, hemiterapeutika, anabolika i drugih supstancija koje se mogu nalaziti u namirnicama.
- Službeni glasnik RS. 2011. Pravilnik o količina pesticida, metala i metaloida i drugih otrovnih supstancija, hemioterapeutika, anabolika i drugih supstancija koje se mogu nalaziti u namirnicama. Službeni glasnik RS br. 28/2011.
- Službeni glasnik RS. 2018. Pravilnik o maksimalno dozvoljenim količinama ostataka sredstava za zaštitu bilja u hrani i hrani za životinje i o - hrani za životinje za koju se utvrđuju maksimalno dozvoljene količine ostataka sredstava za zaštitu bilja. Službeni glasnik RS br. 22/2018.
- Sokal RR, Rohlf FJ. 1987. *Introduction to biostatistics*. Dover Publications, New York.
- Sorensen EM. 1991. *Metal poisoning in fish*. CRC press, Boca Raton, 384.
- Spencer P, Pollock R, Dubé M. 2008. Effects of un-ionized ammonia on histological, endocrine, and whole organism endpoints in slimy sculpin (*Cottus cognatus*). *Aquat. Toxicol.* 90, 300–309.
- Squadrone S, Prearo M, Brizio P, Gavinelli S, Pellegrino M, Scanzio T, Guarise S, Benedetto A, Abete M C. 2013. Heavy metals distribution in muscle, liver, kidney and gill of European catfish (*Silurus glanis*) from Italian Rivers. *Chemosphere*, 90, 358–365.
- Stanković S. 2006. The physical and chemical characteristics of Danube water quality near Kovin (Vojvodina) in Serbia. In: *Proceedings of the 36<sup>th</sup> International Conference of IAD, Austrian Committee Danube Research/IAD*. pp. 399–403.

- Stehr CM, Johnson LL, Myers MS. 1998. Hydropic vacuolation in the liver of three species of fish from the U.S. West Coast: lesion description and risk assessment associated with contaminant exposure. *Dis. Aquat. Org.* 32, 119–135.
- Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants, United Nations Environment Programme (UNEP), European Commission Regulation No. 850/2004.
- Storelli MM, Barone G, Storelli A, Marcotrigiano GO. 2006. Trace metals in tissues of Mugilids (*Mugil auratus*, *Mugil capito*, and *Mugil labrosus*) from the Mediterranean Sea. *Bullet. Environ. Contam. Toxicol.* 77, 43–50.
- Strategija upravljanja vodama na teritoriji Republike Srbije – analize i istraživanja. 2015. Insitut za vodoprivredu "Jaroslav Černi,, Vlada Republike Srbije, Ministarstvo poljoprivrede i zaštite životne sredine, Beograd.
- Subotić S, Višnjić Jeftić Ž, Spasić S, Hegediš A, Krpo-Ćetković J, Lenhardt M. 2013. Distribution and accumulation of elements (As, Cu, Fe, Hg, Mn and Zn) in tissues of fish species from different trophic levels in the Danube River at the confluence with the Sava River (Serbia). *Environ. Sci. Pollut. Res.* 20, 5309–5317.
- Sunjog K, Gačić Z, Kolarević S, Višnjić-Jeftić Ž, Jarić I, Knežević-Vukčević J, Vuković-Gačić B, Lenhardt M. 2012. Heavy metal accumulation and the genotoxicity in barbel (*Barbus barbus*) as indicators of the Danube River pollution. *Sci. World J.* 1–6.
- Sures B, Siddall R. 1999. *Pomphorhynchus laevis*: the intestinal acanthocephalan as a lead sink for its fish host, chub (*Leuciscus cephalus*). *Exp. Parasitol.* 93, 66–72.
- Swackhamer DL, Armstrong DE. 1986. Estimation of the atmospheric and nonatmospheric contributions and losses of polychlorinated biphenyls to Lake Michigan on the basis of sediment records of remote lakes. *Environ. Sci. Technol.* 20, 879–883.
- Syracuse Research Corporation 2000. Toxicological profile for polychlorinated biphenyls (PCBs). Prepared for U.S. Department of health and human services, Public health service, Agency for toxic substances and disease registry.

- Syracuse Research Corporation 2002. Toxicological profile for DDT, DDE and DDD. Prepared for U.S. Department of health and human services, Public health service, Agency for toxic substances and disease registry.
- Tanabe S. 1988. PCB problems in the future: foresight from current knowledge. *Environ. Pollut.* 50, 5–28.
- Tao S, Li H, Lui C, Lam KC. 2000. Fish uptake of inorganic and mucus complexes of lead. *Ecotoxicol. Environ. Safety.* 46, 174–80.
- Tayel FTR, Shriadah MMA. 1996. Fe, Cu, Mn, Pb and Cd in some fish species from Western Harbour of Alexandria, Egypt. *Bull. Natn. Inst. Oceanogr. Fish.* 22, 85–96.
- Tchounwou PB, Ayensu WK, Ninashvilli N, Sutton D. 2003. Environmental exposures to mercury and its toxicopathologic implications for public health. *Environ. Toxicol.* 18, 149–175.
- Teh SJ, Adams SM, Hinton DE. 1997. Histopathologic biomarkers in feral freshwater fish populations exposed to different types of contaminant stress. *Aquat. Toxicol.* 37, 51–70.
- Teh SJ, Deng D, Werner I, Teh F, Hung SSO. 2005. Sublethal toxicity of orchard stormwater runoff in Sacramento splittail (*Pogonichthys macrolepidotus*) larvae. *Mar. Environ. Res.* 59, 203–216.
- Teodorović I, Đukić N, Maletin S, Miljanović B, Jugovac N. 2000. Metal pollution index: proposal for freshwater monitoring based on trace metal accumulation in fish. *Tiscia.* 32, 55–60.
- Teodorović I. 2009. Ecotoxicological research and related legislation in Serbia. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 16, 123–129.
- Terzić S, Senta I, Ahel M, Gros M, Petrović M, Barcelo D, Müller J, Knepper T, Martí I, Ventura F, Jovančić P. 2008. Occurrence and fate of emerging wastewater contaminants in Western Balkan Region. *Sci. Total environ.* 399, 66–77.
- Thophon S, Pokethitiyook P, Chalermwat K, Upatham ES, Sahaphong S. 2004. Ultrastructural alterations in the liver and kidney of white sea bass, *Lates calcarifer*, in acute and subchronic cadmium exposure. *Environ. Toxicol.* 19, 11–19.

- Tillitt D, Papoulias DM. 2003. Closing the gap between exposure and effects in monitoring studies. *Pure and Applied Chemistry*. 75, 2467–2475.
- Tilman D, Cassman KG, Matson PA, Naylor R, Polasky S. 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*. 418, 671–677.
- Triebkorn R, Adam S, Casper H, Honnen W, Pawert M, Schramm M, Schwaiger J, Köhler HR. 2002. Biomarkers as diagnostic tools for evaluating effects of unknown past water quality conditions on stream organisms. *Ecotoxicology* 11, 451–465.
- UNEP 1984. Sampling of selected marine organisms and sample preparation for trace metal analysis. Geneva: Regional Seas Programme Activity Centre, UNEP, pp. 19. (Reference method for marine pollution studies; no. 7; rev. 2).
- USEPA. 1975. DDT – A review of scientific and economic aspects of the decision to ban its use as a pesticide. Washington USEPA.
- USEPA (U.S. Environmental Protection Agency). 1980. Ambient water quality criteria for DDTs. EPA 440/5/80/038. U.S. Environmental Protection Agency, Criteria and Standards Division, Office of Water Regulations and Standards, Washington, DC.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency). 1986. Quality Criteria for Water. Washington DC, USA.
- Usero J, González-Regalado E, Gracia I. 1996. Trace metals in the bivalve mollusc *Chamelea gallina* from the Atlantic coast of southern Spain. *Mar. Pollut. Bull.* 32, 305–310.
- Usero J, González-Regalado E, Gracia I. 1997. Trace metals in the bivalve molluscs *Ruditapes decussatus* and *Ruditapes philippinarum* from the Atlantic coast of Southern Spain. *Environ. Int.* 23, 291–298.
- Uysal K, Köse E, Bülbül M, Dönmez M, Erdoğan Y, Koyun M, ÖmeroğluÇ, Özmal F. 2009. The comparison of heavy metal accumulation ratios of some fish species in Enne Dame Lake (Kütahya/Turkey). *Environ. Monit. Assess*, 157, 355–362.
- Valová Z, Hudcová H, Roche K, Svobodová J, Bernardová I, Jurajda P. 2013. No relationship found between mercury and lead concentrations in muscle and scales of chub *Squalius cephalus* L. *Environ. Monit. Assess.* 185, 3359–3368.

- Van der Oost R, Beyer J, Vermeulen NP. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ. Toxicol. Pharm.* 13, 57–149.
- Van Dyk JC, Pieterse GM, Van Vuren JHJ. 2007. Histological changes in the liver of *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae) after exposure to cadmium and zinc. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 66, 432–440.
- Van Dyk JC, Marchand MJ, Smit NJ, Pieterse GM. 2009. A histology-based fish health assessment of four commercially and ecologically important species from the Okavango Delta panhandle, Botswana. *Afr. J. Aquat. Sci.* 34, 273–282.
- Van Metre PC, Callender E, Fuller CC. 1997. Historical trends in organochlorine compounds in river basins identified using sediment cores from reservoirs. *Environ. Sci. Technol.* 31, 2339–2344.
- Vinodhini R, Narayanan M. 2009. Heavy Metal Induced Histopathological Alterations in Selected Organs of the *Cyprinus carpio* L. (Common Carp). *Int. J. Environ. Res.* 3, 95–100.
- Vitorović S, Milošević M. 2002. Osnovi toksikologije sa elementima ekotoksikologije. Beograd, Vizartis, treće dopunjeno izdanje.
- Walker CH, Sibly RM, Hopkin SP, Peakall DB. 2012. Principles of ecotoxicology. CRC press, Boca Raton, 381.
- Weber R, Watson A, Forter M, Oliaei F. 2011. Persistent organic pollutants and landfills – a review of past experiences and future challenges. *Waste Manag. Res.* 29, 107–121.
- Weber P, Behr ER, Knorr CDL, Vendruscolo DS, Flores EM, Dressler VL, Baldisserotto B. 2013. Metals in the water, sediment, and tissues of two fish species from different trophic levels in a subtropical Brazilian river. *Microchem. J.* 106, 61–66.
- Wernersson AS, Carere M, Maggi C, Tusil P, Soldan P, James A, Sanchez W, Dulio V, Broeg K, Reifferscheid G, Buchinger S, Maas H, Van Der Grinten E, O'Toole S, Ausili A, Manfra L, Marziali L, Polesello S, Lacchetti I, Mancini L, Lilja K, Linderoth M, Lundeberg T, Fjällborg T, Porsbring T, Joakim Larsson DB, Bengtsson-Palme DG, Förlin L, Kienle C, Kunz P, Vermeirssen E, Werner I, Robinson CD, Lyons B, Katsiadaki I, Whalley C, den Haan K, Messiaen M,



- Clayton H, Negrão Carvalho R, Manfred Gawlik B, Hollert H, di Paolo C, Brack W, Kammann U, Kase R, Buchinger S. 2015. The European technical report on aquatic effect-based monitoring tools under the water framework directive. *Environ. Sci. Eur.* 27, 7.
- Wiener JG, Spry, DJ. 1996. Toxicological significance of mercury in freshwater fish. *Environmental contaminants in wildlife: interpreting tissue concentrations*, 297–339.
- Williams L, Schoof RA, Yager JW, Goodrich-Mahoney JW. 2006. Arsenic bioaccumulation in freshwater fishes. *Hum. Ecol. Risk Assess.* 12, 904–923.
- Wolf JC, Wolfe MJ. 2005. A brief overview of nonneoplastic hepatic toxicity in fish. *Toxicol. Pathol.* 33, 75–85.
- Wolf JC, Ruehl-Fehlert C, Segner HE, Weber K, Hardisty JF. 2014. Pathology working group review of histopathologic specimens from three laboratory studies of diclofenac in trout. *Aquat. Toxicol.* 146, 127–136.
- Wolf JC, Baumgartner WA, Blazer VS, Camus AC, Engelhardt JA, Fournie JW, Frasca S, Groman DB, Kent ML, Khoo LH, Law, J. M, Lombardini ED, Ruehl-fehlert C, Segner HE, Smith SA, Spitsbergen JM, Weber K, Wolfe MJ. 2015. Nonlesions, misdiagnoses, missed diagnoses, and other interpretive challenges in fish histopathology studies: a guide for investigators, authors, reviewers, and readers. *Toxicol. Pathol.* 43, 297–325.
- Wu SM, Jong KJ, Lee YJ. 2006. Relationships among metallothionein, cadmium accumulation, and cadmium tolerance in three species of fish. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 76, 595–600.
- Yamazaki M, Tanizaki Y, Shimokawa T. 1996. Silver and other trace elements in a freshwater fish, *Carasius auratus langsdorfii*, from the Asakawa River in Tokyo, Japan. *Environ. Pollut.* 94, 83–90.
- Yancheva V, Stoyanova S, Velcheva I, Petrova S, Georgieva E. 2014. Metal bioaccumulation in common carp and rudd from the Topolnitsa reservoir, Bulgaria. *Arh. Hig. Rada Toksikol.* 65, 57–66.
- Yancheva V, Velcheva I, Stoyanova S, Georgieva E. 2016. Histological biomarkers in fish as a tool in ecological risk assessment and monitoring programs: a review. *Appl. Ecol. Environ. Res.* 14, 47–75.

- Yilmaz AB. 2003. Levels of heavy metals (Fe, Cu, Ni, Cr, Pb, and Zn) in tissue of *Mugil cephalus* and *Trachurus mediterraneus* from Iskenderun Bay, Turkey. Environ. Res. 92, 277–281.
- Zhou HY, Wong MH. 2004. Screening of organochlorines in freshwater fish collected from the Pearl River Delta, People's Republic of China. Arch Environ. Contam Toxicol. 46, 106–113.
- Ziglio G, Flaim G, Siligardi M. (Eds.). 2008. Biological monitoring of rivers, Vol. 19, John Wiley & Sons.

**Интернет извори:**

<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=8755863>

<http://www.fishbase.org>

<http://www.fishbase.us/Photos/ThumbnailsSummary.php?ID=268#>

<https://www.fishbase.de/photos/UploadedBy.php?autoctr=12748&win=uploaded>

[http://www.ittiofauna.org/webmuseum/pesciossei/perciformes/percidae/sander/sander\\_lucioperca/index.htm](http://www.ittiofauna.org/webmuseum/pesciossei/perciformes/percidae/sander/sander_lucioperca/index.htm)

<http://tierdoku.com/images/Esox-lucius-2039.jpg>

## **8. ПРИЛОГ**

**Прилог 1.** Концентрације As, Cd, Co, Cr, Cu и Fe у различитим ткивима риба, пријављених од стране других аутора ( $\mu\text{g g}^{-1}$  суве масе). Концентрације су изражене као просечне вредности (средња вредност  $\pm$  стандардна девијација, минималне и максималне вредности су приказане у заградама) међу онима објављеним у другим студијама. НД – вредности нису пријављене.

Ткиво	As	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Референце
Мишић	18,77 $\pm$ 54,46 (0,2–164)	0,13 $\pm$ 0,11 (0,006–0,36)	0,18 $\pm$ 0,19 (0,0001–0,5)	0,71 $\pm$ 0,69 (0,04–2)	3,47 $\pm$ 3,42 (0,26–9)	29,62 $\pm$ 26,06 (2,18–95,1)	[1;2–22]
Шкрге	27,46 $\pm$ 65,42 (0,05–161)	0,64 $\pm$ 1,08 (0,003–3,6)	0,53 $\pm$ 0,57 (0,026–1,55)	1,01 $\pm$ 1,33 (0,05–3,6)	6,85 $\pm$ 13,53 (0,298–45)	185,62 $\pm$ 131,68 (4,92–379,4)	[1;2–5;7–11;13;15;17–21;23]
Јетра	29,08 $\pm$ 83,23 (0,52–251)	1,27 $\pm$ 1,37 (0,004–3,9)	0,57 $\pm$ 0,58 (0,006–1,35)	1,51 $\pm$ 2,39 (0,02–6,3)	80,84 $\pm$ 174,18 (0,68–675,3)	667,95 $\pm$ 1261,49 (1,53–4023,8)	[1;2;4–7;9–17;19–21;23]
Бубрег	0,97; 286,0 <sup>b</sup>	1,30 $\pm$ 1,93 (0,001–4,94)	1,54 $\pm$ 0,77 (0,82–2,34)	1,92 $\pm$ 2,17 (0,4–4,4)	12,85 $\pm$ 15,03 (0,007–41)	663,11 $\pm$ 486,99 (27,8–1137,8)	[2–4;7;10–12;16–19]
Слезина	НД	0,26 $\pm$ 0,14 (0,13–0,41)	0,17; 0,95 <sup>b</sup>	0,36 $\pm$ 0,14 (0,28–0,53)	10,48 $\pm$ 13,50 (0,02–38)	2005,32 $\pm$ 2013,46 (68,5–4087,5)	[2–4;7;11;13;16]
Гонаде	1,41 <sup>a</sup>	0,10 $\pm$ 0,12 (0,00–0,24)	0,05; 0,26 <sup>b</sup>	0,10; 0,46 <sup>b</sup>	10,13 $\pm$ 8,92 (0,15–22,3)	146,45 $\pm$ 140,46 (51,5–307,8)	[2;4;7;11;19;20]
Желудац	3,59 <sup>a</sup>	0,48 $\pm$ 0,79 (0,002–1,39)	0,228; 1,15 <sup>b</sup>	1,46 $\pm$ 2,17 (0,14–3,96)	12,39 $\pm$ 19,66 (0,08–41,6)	12,70 <sup>a</sup>	[1;5;7;11]
Црево	2,53 <sup>a</sup>	0,96 $\pm$ 1,28 (0,23–2,88)	0,66 $\pm$ 0,55 (0,14–1,27)	0,99 $\pm$ 1,17 (0,11–2,55)	13,92 $\pm$ 13,68 (0,49–40)	160,08 $\pm$ 238,89 (6,98–635,3)	[1;3–5;8;11;15;16;23]
Срце	НД	0,20 $\pm$ 0,24 (0,03–0,54)	1,09 $\pm$ 0,82 (0,15–1,67)	0,71 $\pm$ 0,80 (0,2–1,63)	22,15 $\pm$ 12,77 (13–41)	420,00; 520,95 <sup>b</sup>	[2–4;11;17;18]
Кичмени пршљен	НД	0,29 <sup>a</sup>	0,28; 0,90 <sup>b</sup>	0,28; 1,34 <sup>b</sup>	0,35; 12,00 <sup>b</sup>	4,34 <sup>a</sup>	[3;5;18]
Оперкулум	2,36 <sup>a</sup>	0,29 <sup>a</sup>	0,95 <sup>a</sup>	0,97 <sup>a</sup>	НД	НД	[9;18]
Рибљи мехур	151,0 <sup>a</sup>	НД	НД	НД	НД	2,71 <sup>a</sup>	[10;23]
Мозак	1,29 <sup>a</sup>	0,58 $\pm$ 0,89 (0,02–1,6)	0,08 <sup>a</sup>	32,89 <sup>a</sup>	68,36 $\pm$ 50,60 (10–100)	60,0; 729,2 <sup>b</sup>	[3;4;6;8;12]
Жучна кеса	НД	НД	0,10 <sup>a</sup>	0,43 <sup>a</sup>	61,0 <sup>a</sup>	100,0 <sup>a</sup>	[4]

<sup>a</sup> Вредности пријављене само у једном истраживању

<sup>b</sup> Вредности пријављене само у два истраживања

**Прилог 2.** Концентрације Hg, Mn, Ni, Pb, Se и Zn у различитим ткивима риба, пријављених од стране других аутора ( $\mu\text{g g}^{-1}$  суве масе). Концентрације су изражене као просечне вредности (средња вредност  $\pm$  стандардна девијација, минималне и максималне вредности су приказане у заградама) међу онима објављеним у другим студијама. НД – вредности нису пријављене.

Ткиво	Hg	Mn	Ni	Pb	Se	Zn	Референце
Мишић	4,32 $\pm$ 9,74 (0,29–28,4)	2,34 $\pm$ 4,11 (0,03–13,9)	1,28 $\pm$ 1,22 (0,06–3,4)	0,80 $\pm$ 0,71 (0,02–2)	1,58 $\pm$ 0,91 (0,04–2,3)	33,13 $\pm$ 26,91 (0,63–100)	[1;2–8;10–22]
Шкрге	2,06 $\pm$ 2,98 (0,45–7,4)	9,34 $\pm$ 7,61 (0,22–23)	1,15 $\pm$ 1,34 (0,13–3,1)	4,02 $\pm$ 4,87 (0,05–12,9)	1,53 $\pm$ 0,87 (0,52–2,06)	149,17 $\pm$ 159,15 (1,37–500)	[1;2–5;7;8;11;13;15;17–21;23]
Јетра	18,63 $\pm$ 49,04 (0,68–140)	6,97 $\pm$ 9,20 (0,26–31,8)	0,92 $\pm$ 0,97 (0,03–1,8)	4,74 $\pm$ 7,16 (0,2–18,5)	3,93 $\pm$ 2,32 (0,5–5,5)	91,87 $\pm$ 67,91 (0,3–239,7)	[1;2;4–7;10–17;19–21;23]
Бубрег	21,47 $\pm$ 45,02 (0,71–102)	5,13 $\pm$ 4,82 (0,38–12)	2,60; 4,47 <sup>b</sup>	0,77 $\pm$ 0,98 (0,03–2,4)	5,40 <sup>a</sup>	169,52 $\pm$ 185,71 (0,19–550)	[2–4;7;10–12;16–19]
Слезина	0,90; 1,35 <sup>b</sup>	2,33 $\pm$ 1,10 (0,93–4)	1,80 <sup>a</sup>	1,20 $\pm$ 1,85 (0,1–3,33)	5,50 <sup>a</sup>	101,15 $\pm$ 74,92 (0,5–200)	[2–4;7;11;13;16]
Гонаде	0,47 $\pm$ 0,33 (0,09–0,67)	3,87 $\pm$ 2,93 (0,55–6,07)	0,80 <sup>a</sup>	0,02 <sup>a</sup>	2,40 <sup>a</sup>	103,82 $\pm$ 67,62 (1,29–206,6)	[2;4;7;11;19;20]
Желудац	0,48 <sup>a</sup>	0,95; 13,30 <sup>b</sup>	0,20 <sup>a</sup>	0,07; 12,11 <sup>b</sup>	НД	29,97 $\pm$ 29,43 (1,4–71,1)	[1;5;7;11]
Црево	0,64 <sup>a</sup>	4,38 $\pm$ 4,87 (0,42–12,6)	1,77 $\pm$ 1,99 (0,09–4,58)	2,60 $\pm$ 3,76 (0,08–8,06)	2,14; 4,18 <sup>b</sup>	269,31 $\pm$ 595,63 (0,94–1850)	[1;3–5;8;11;15;16;23]
Срце	1,05 <sup>a</sup>	2,16 $\pm$ 0,37 (1,89–2,58)	1,20; 2,68 <sup>b</sup>	3,24 $\pm$ 5,41 (0,08–9,48)	3,15 <sup>a</sup>	143,73 $\pm$ 42,51 (100,8–196)	[2–4;11;17;18]
Кичмени пршљен	НД	0,26	1,15; 1,23 <sup>b</sup>	0,02 <sup>a</sup>	НД	0,99; 75,00	[3;5;18]
Оперкулум	НД	НД	1,81 <sup>a</sup>	0,07 <sup>a</sup>	НД	НД	[18]
Рибљи мехур	56,90 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	НД	НД	НД	1,16 <sup>a</sup>	[10;23]
Мозак	0,72 $\pm$ 0,15 (0,62–0,83)	1,50; 20,10 <sup>b</sup>	77,00 <sup>a</sup>	2,42 $\pm$ 2,33 (0,47–5)	1,80 <sup>a</sup>	198,64 $\pm$ 128,42 (80–335)	[3;4;6;8;12]
Жучна кеса	НД	2,50 <sup>a</sup>	1,10 <sup>a</sup>	НД	3,80 <sup>a</sup>	50,0 <sup>a</sup>	[4]

<sup>a</sup> Вредности пријављене само у једном истраживању

<sup>b</sup> Вредности пријављене само у два истраживања

## Референце:

- [1] Begum A, Mustafa AI, Amin MN, Chowdhury TR, Quraishi SB, Banu N. 2013. Levels of heavy metals in tissues of shingi fish (*Heteropneustes fossilis*) from Buriganga River, Bangladesh. *Environ. Monit. Assess.* 185, 5461–5469.
- [2] Brooks RR, Lewis JR, Reeves RD. 1976. Mercury and other heavy metals in trout of Central North Islands, New Zealand. *J. Mar.Freshw. Res.* 10, 233–44.
- [3] Bezuidenhout LM, Schoonbee HJ, de Wet LPD. 1990. Heavy metal content in organs of the African sharptooth catfish, *Clariasgariepinus* (Burchell), from a Transvaal lake affected by mine and industrial effluents. Part 1. Zinc and copper. *Water SA* 16, 125–129.
- [4] Yamazaki M, Tanizaki Y, Shimokawa T. 1996. Silver and other trace elements in a freshwater fish, *Carasius auratus langsdorfii*, from the Asakawa river in Tokyo, Japan. *Environ. Pollut.* 94, 83–90.
- [5] Rashed MN. 2001. Monitoring of environmental heavy metals in fish from Nasser Lake. *Environ. Int.* 27, 27–33.
- [6] Chouba L, Kraiem M, Njimi W, Tissaoui CH, Thompson JR, Flower JR. 2007. Seasonal variation of heavy metals (Cd, Pb and Hg) in sediment and in mullet, *Mugil cephalus* (Mugilidae), from the Ghar El Melh Lagoon (Tunisia). *Transit. Waters Bull.* 4, 45–52.
- [7] Dean RJ, Shimmield TM, Black KD. 2007. Copper, zinc and cadmium in marine cage fish farm sediments: An extensive survey. *Environ. Pollut.* 145, 84–95.
- [8] Nduka JKC, Constance E, Obiakor E. 2006. Selective bioaccumulation of metals by different parts of some fish species from crude oil polluted water. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 77, 846–853.
- [9] Culioli J-L, Calendini S, Mori C, Orsini A. 2009. Arsenic accumulation in freshwater fish in a contaminated river of Corsica, France. *Ecotox. Environ. Safe.* 72, 1440–1445.
- [10] Fu Z, Wu F, Amarasiriwardena D, Mo C, Liu B, Zhu J, Deng Q, Liao H. 2010. Antimony, arsenic and mercury in the aquatic environment and fish in a large antimon mining area in Hunan, China. *Sci. Total. Environ.* 408, 3403–3410.

- [11] Le DQ, Nguyen DC, Harino H, Kakutani N, Chino N, Arai T. 2010. Distribution of trace metals and methylmercury in soft tissues of the freshwater eel *Anguilla marmorata* in Vietnam. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 59, 282–290.
- [12] Ebrahimi M, Taherianfard M. 2010. Concentration of four heavy metals (cadmium, lead, mercury and arsenic) in organs of two cyprinid fish (*Cyprinus carpio* and *Capoeta* sp.) from the Kor river (Iran). Environ. Monit. Assess. 168, 575–585.
- [13] Beltcheva M, Metcheva R, Peneva V, Marinova M, Yankov Y, Chikova V. 2011. Heavy metals in Antarctic Notothenioid from South Bay, Livingston Island, South Shetlands (Antarctica). Biol. Trace Elem. Res. 141, 150–158.
- [14] Fallah AA, Saei-Dehkordi SS, Nematollahi A, Jafari T. 2011. Comparative study of heavy metal and trace element accumulation in edible tissues of farmed and wild rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using ICP-OES technique. Microchem. J. 98, 275–279.
- [15] Jarić I, Višnjić-Jeftić Ž, Cvijanović G, Gačić Z, Jovanović Lj, Skorić S, Lenhardt M. 2011. Determination of differential heavy metal and trace element accumulation in liver, gills, intestine and muscle of sterlet (*Acipenser ruthenus*) from the Danube river in Serbia by ICP-OES. Microchem. J. 98, 77–81.
- [16] Matasin Z, Ivanusic M, Orescanin V, Nejedli S, Gajger IT. 2011. Heavy metal concentrations in predator fish. J. Anim. Vet. Adv. 10, 1214–1218.
- [17] Mashroofeh A, Bakhtiari AR, Pourkazemi M, Rasouli S. 2013. Bioaccumulation of Cd, Pb and Zn in the edible and inedible tissues of three sturgeon species in the Iranian coastline of the Caspian Sea. Chemosphere 90, 573–580.
- [18] Murtala BA, Abdul WO, Akinyemi AA. 2012. Bioaccumulation of heavy metals in fish (*Hydrocynus forskahlii*, *Hyperopisus bebe occidentalis* and *Clarias gariepinus*) organs in downstream Ogun coastal water, Nigeria. J. Agr. Sci. 4, 51–59.
- [19] Skorić S, Višnjić-Jeftić Z, Jarić I, Đikanović V, Micković B, Nikčević M, Lenhardt M. 2012. Accumulation of 20 elements in great cormorant (*Phalacrocorax carbo*) and its main prey, common carp (*Cyprinus carpio*) and Prussian carp (*Carassius gibelio*). Ecotox. Environ. Safe. 8, 244–251.
- [20] Sunjog K, Gačić Z, Kolarević S, Višnjić-Jeftić Ž, Jarić I, Knežević-Vukčević J, Vuković-Gačić B, Lenhardt M. 2012. Heavy metal accumulation and the

genotoxicity in barbel (*Barbus barbus*) as indicators of the Danube River pollution. *The Scientific World J.* 1–6.

- [21] Subotić S, Spasić S, Višnjić-Jeftić Ž, Hegediš A, Krpo-Ćetković J, Mićković B, Skorić S, Lenhardt M. 2013. Heavy metal and trace element bioaccumulation in target tissues of four edible fish species from the Danube river (Serbia). *Ecotox. Environ. Safe.* 98, 196–202.
- [22] Schenone NF, Avigliano E, Goessler W, Cirelli AF. 2014. Toxic metals, trace and major elements determined by ICPMS in tissues of *Parapimelodus velanciennis* and *Prochilodus lineatus* from Chascomus Lake, Argentina. *Microchem. J.* 112, 127–131.
- [23] Adeyeye EI, Akinyugha NJ, Fesobi ME, Tenabe VO. 1996. Determination of some metals in *Clarias gariepinus* (Cuvier and Vallenciennes), *Cyprinus carpio* (L.) and *Oreochromis niloticus* (L.) fishes in a polyculture fresh water pond and their environments. *Aquaculture* 147, 205–214.



## Биографија

Катарина М. Јовичић рођена је 21.02.1987. године у Београду, где је завршила основну школу и IX београдску гимназију. Биолошки факултет Универзитета у Београду уписала је школске 2006/2007 године, студијска група екологија и заштита животне средине. Дипломирала је 2012. године са просечном оценом 8,91 и оценом 10 на дипломском испиту. Од октобра 2013. године ангажована је на Институту за мултидисциплинарна истраживања као истраживач приправник, а од октобра 2014. године на Институту за биолошка истраживања „Синиша Станковић” као истраживач сарадник, на пројектима Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије ОИ 173045 „Рибе као биоиндикатори стања квалитета отворених вода Србије” и ТР 37009 „Мерење и моделирање физичких, хемијских, биолошких и морфодинамичких параметара река и водних акумулација (МОРЕ)”. До сада је објавила седам научних радова, од којих су три рада из категорије М21, један рад из категорије М22 као и три рада из категорије М23 као и преко 10 саопштења на научним скуповима у земљи и иностранству.

# Изјава о ауторству

Потписани-а Катарина Јовичић

број уписа Б3052/2012

## Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

"Дистрибуција различитих полуганата у ткивима пет комерцијалних врста  
риба из Дунава код Београда"

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

**Потпис докторанда**

У Београду, 20.09.2019.



# Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Катарина Јовичић

Број уписа Б3052/2012

Студијски програм Екологија

Наслов рада "Дистрибуција различитих полутаната у ткивима пет комерцијалних врста риба из Дунава код Београда"

Ментори:

др Иван Јарић, научни саветник, Биолошки центар Чешке Академије Наука, Институт за хидробиологију, Чешке Будејовице, Република Чешка; Универзитет Јужне Бохемије, Природно-математички факултет, Одељење за биологију екосистема, Чешке Будејовице, Република Чешка

др Јасмина Крпо-Ћетковић, ванредни професор Биолошког факултета Универзитета у Београду

Потписани Катарина Јовичић

изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

**Потпис докторанда**



У Београду, 20.09.2019.

## Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

"Дистрибуција различитих полутаната у ткивима пет комерцијалних врста риба из Дунава код Београда"

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство

2. Ауторство - некомерцијално

3. Ауторство – некомерцијално – без прераде

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима

5. Ауторство – без прераде

6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда



У Београду, 20.09.2019.

1. Ауторство –Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. Ауторство – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. Ауторство –делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.