

UNIVERZITET U BEOGRADU
FAKULTET VETERINARSKE MEDICINE

Zoran I. Petrović

**PROCENA BIOMONITORSKOG
POTENCIJALA ZECA
(*Lepus europaeus*)
NA OSNOVU AKUMULACIJE TEŠKIH
METALA U TKIVIMA**

doktorska disertacija

Beograd, 2013

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

Zoran I. Petrović

**„ESTIMATION OF BIOMONITORING
POTENTIAL OF HARE
(*Lepus europaeus*)
BASED ON HEAVY METAL
ACCUMULATION IN TISSUE“**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2013

Podaci o mentoru i članovima komisije

Mentor:

prof. dr Vlado Teodorović,
redovni profesor Fakulteta veterinarske medicine, Univerziteta u Beogradu
Katedra za higijenu i tehnologiju namirnica animalnog porekla

Članovi komisije:

prof. dr Sunčica Borozan,
redovni profesor Fakulteta veterinarske medicine, Univerziteta u Beogradu
Katedra za opšteobrazovne predmete - Hemija

dr Mirjana Dimitrijević,
docent, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu
Katedra za higijenu i tehnologiju namirnica animalnog porekla

dr Aurelija Spirić,
naučni savetnik, Institut za higijenu i tehnologiju mesa Beograd

dr Miloš Beuković,
vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu
Departman za stočarstvo

Datum odbrane: _____

Zahvaljujem se cenjenom prof. dr Vladi Teodoroviću, dekanu Fakulteta veterinarske medicine, koji se prihvatio mentorstva nad ovom disertacijom, nadzirao ceo tok njene izrade i davao uputstva za njeno uobličavanje kao i članovima komisije sa Fakulteta veterinarske medicine iz Beograda Dr Sunčici Borozan i Dr Mirjani Dimitrijević.

Posebnu zahvalnost izražavam dr Aureliji Spirić, naučnom savetniku i predsedniku Naučnog veća Instituta za higijenu i tehnologiju mesa iz Beograda, koja mi je pružila svu potrebnu podršku za izradu ove teze.

Ništa manja podrška nije bila od koleginica i kolega iz Instituta za higijenu i tehnologiju mesa i to: direktora Instituta dr Vesne Matekalo-Sverak, dr Dragana Milićevića, Stevana Sekisa dipl.vet, Milana Bogojevića dipl.ing, Saše Jankovića dipl.med.biohem., Dragice Nikolić, dipl.ing.teh., dr Branka Velebita, dr Danijele Vranić, Sanje Trivić hemijskog tehničara i svih ostalih, koji su moralnom podrškom, pedantnim radom i dobrom voljom doprineli uspešnom okončanju njenog eksperimentalnog dela.

Veliko hvala i profesoru dr Milošu Beukoviću iz Novog Sada, koji je pristao da bude član komisije i koji je omogućio kontakte i logističku podršku prikupljanja uzoraka sa terena, preko Lovačkog saveza Vojvodine i Srbije, kao i ljudima iz Lovačkog saveza Srbije, a naročito gospođi mr Dari Đaković iz laboratorije Lovačkog saveza Vojvodine iz Novog Sada, za stručnu, pedantnu i efikasnu laboratorijsku podršku za određivanje starosti.

Zahvaljujem se takođe veterinarskim inspektorima Veri Ćuković iz Užica, Saši Stankoviću iz Šapca, Draganu Dodiću iz Vranja, zatim Dr Mandiću iz Obrenovca i njegovoj lovačkoj ekipi iz Uba, Aci Sindeliću iz Grabovca, Draganu Lazareviću iz Kuršumlije i kumu Željku Nedeljkoviću.

PROCENA BIOMONITORSKOG POTENCIJALA ZECA (*Lepus europaeus*) NA OSNOVU AKUMULACIJE TEŠKIH METALA U TKIVIMA

Rezime

Izbor životinjske vrste koja bi mogla biti predmet istraživanja kao subjekt biomonitoringa, odnosno da bi se procenio njen biomonitoring potencijal, je uslovljen njenom raspoloživošću, odnosno da su dostupne u određenoj geografskoj oblasti od interesa za monitoring, zadacima istraživanja i potrebe za praćenjem određenih prioritarnih hemijskih zagađivača. Korišćenje omnivora i karnivora je ograničeno činjenicom da je kompozicija njihove ishrane veoma varijabilna i uslovljena takozvanim efektom kumulativnog dejstva kroz lanac ishrane.

Iz dostupne literature konstatuje se da je toksično delovanje teških metala na divljač koja je u staništu izložena njihovom prisustvu, generalno, slabo razjašnjena i veoma retko kvantifikovana u realnim, prirodnim, uslovima u kojima divlje životinje provode svoj životni vek. Iz evropskih i američkih studija je zapažena jaka akumulacija kadmijuma, olova i žive u tkivu herbivornih vrsta uključujući tu i evropskog divljeg zeca, ali i drugih teških metala (cink, bakar, mangan). Evropski divlji zec je izabran da bude predmet istraživanja zbog njegove rasprostranjenosti u velikom broju staništa u Republici Srbiji, pre svega u ravničarskim predelima i blagim visijama (novije procene govore o 565.600 jedinki). Drugi razlozi koji su uticali na izbor ove vrste su: mogućnost žrtvovanja većeg broja jedinki tokom regularne sezone, ustaljeno korišćenje očnih sočiva za procenu brojnosti populacije tokom lovne sezone, biološke karakteristike, relativno mali radijus kretanja i vernost lokaciji, dobra adaptiranost na uslove u kojima živi, način ishrane i potencijal za razmnožavanje. Biljke, koje čine osnovu ishrane herbivornih vrsta, kao što je divlji zec, preko atmosfere depozicije primarno vezuju teške metale iz vazduha preko lisne površine u hrapave, kutikularne zone biljaka. Ova pojava može ukazivati na putanju izloženosti raznih vrsta životinja aerodeponovanim elementima. Iz ovoga bi se mogao izvući zaključak da divlji zec unosi u organizam teške metale iz okoline najvećim delom kroz ishranu, odnosno incidentni unos ingestijom zemljišta ili sedimenta. U određenim slučajevima, nivoi koncentracija teških metala u tkivu životinje ne reflektuju na pravi način njihovu izloženost u ambijentalnim uslovima, uglavnom usled homeostatske regulacije koncentracije unošenog metala koje tkivo obavlja unutar organizma

Cilj istraživanja je bio dobijanje podataka o regionalno specifičnoj kontaminaciji zeca teškim metalima, povezivanje dobijenih podataka sa lokalnim izvorima teških metala, procena biomonitoring potencijala zeca iz lovišta Srbije, pre svega u pogledu akumulacije kadmijuma, žive i olova, a zatim i ostalih metala (gvožđa, cinka, bakra, mangana, hroma i nikla) na osnovu postojećih podataka za zečeve u Evropi i u odnosu na druge herbivorne divljači (jelenske, srneće i dr.) kao i identifikaciju mogućih zdravstvenih rizika od konzumiranja jestivih tkiva zečeva.

Ukupno je ispitano 156 uzoraka divljih zečeva (156 bubrega i 156 jetri, ukupno 312 uzoraka tkiva) na prisustvo teških metala (kadmijum, olovo, živa, gvožđe, cink, bakar, mangan, hrom i nikel). Uzorci su sakupljeni sa teritorije 21 lovačkog udruženja (11 iz centralne Srbije i 10 iz Vojvodine). Starost zečeva je određena metodom merenja težine očnog sočiva (*Lens cristallina*), a starosne grupe su obuhvatile jединke starosti: 3-6 meseci (n=28), 1 godinu (n=41), 1-2 godine (n=22), 2-3 godine (n=51) i starije od 3 godine (n=14). Nakon mlevenja i homogenizacije uzoraka tkiva, priprema za instrumentalno određivanje teških metala je obavljena metodom mikrotalasne digestije. Određivanje ukupne žive (Hg) je vršeno atomskom apsorpcionom spektrofotometrijom (engl. oznaka AAS - Atomic Absorption Spectrophotometry) tehnikom hladnih para (engl. Cold Vapour Technique), sa limitom detekcije (LOD-Limit of Detection) od 0,005mg/kg. Očitavanje apsorbanca je vršeno na uređaju VARIAN, model SpectrAA 220. Za određivanje sadržaja olova (Pb) i kadmijuma (Cd) iz rastvora, korišćena je atomska apsorpciona spektrofotometrija, grafitna tehnika (engl. oznaka GFAAS - Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometry) sa limitima detekcije Pb LOD (0,05 mg/kg) i Cd LOD (0,005 mg/kg). Određivanje gvožđa (Fe) LOD (1,0 mg/kg); cinka (Zn) LOD (0,2 mg/kg); mangana (Mn), LOD (0,5 mg/kg); bakra (Cu) LOD (0,1 mg/kg); hroma (Cr) LOD (2,0 mg/kg) i nikla (Ni) LOD (0,5mg/kg) je vršeno iz rastvora, atomskom apsorpcionom spektrofotometrijom, u acetilenskom plamenu (engl. oznaka FAAS-Flame Atomic Absorption Spectrophotometry). Sve korišćene instrumentalne metode određivanja teških metala su akreditovane od strane Akreditacionog tela Srbije (ATS). Statistička analiza značajnosti razlika srednjih vrednosti između više grupa je obavljena korišćenjem ANOVE i Tukijevog testa (engl. post hoc Tukey HSD test). Statističke značajnosti između različitih parova podataka su određivane nezavisnim t testom (engl. two sample t test) i određen je Pirsonov (engl. Pearson) koeficijent korelacije (Ps). Statistička značajnost je podešena na nivou p vrednost manje od 0,05. Podaci su statistički i grafički obrađeni u programskom paketu MINITAB 16.

U bubrezima i jetri nisu registrovane koncentracije hroma i nikla, odnosno bile su ispod limita detekcije korišćene metode, što ukazuje da unos iz okoline ova dva metala ne predstavlja značajan rizik, odnosno da se za određivanje mikroelemenata mora koristiti tehnika sa većom osetljivošću (grafitna i ICP/MS).

Rezultati ispitivanja koncentracije kadmijuma i žive su pokazale rast akumulacije ovih elemenata u bubrezima i jetri sa starošću jединke. Ovo je naročito karakteristično za kadmijum koji se najviše akumulira u bubrezima, a nivo kadmijuma u bubrezima je 8-13 puta veći u odnosu na jetru, dok je kod žive taj odnos približno dva puta manji u jetri u odnosu na koncentraciju u bubrezima i to u svim starosnim grupama. Olovo je registrovano u približno 1/3 ispitanih uzoraka bubrega i jetre i nije registrovana zavisnost koncentracija od starosti, niti postoji statistički značajna razlika između sadržaja u bubregu i jetri u okviru starosnih grupa, već dobijeni rezultati ukazuju na trenutnu izloženost individua olovu u životnoj sredini u zavisnosti od blizine neposrednog izvora zagađenja olovom (saobraćajnice) i njegove aerodepozicije. Posmatrano po starosnim grupama i na ukupnu ispitivanu populaciju zabeležena je veća akumulacija

kadmijuma i žive u bubrezima u odnosu na jetru. Koncentracije ostalih ispitanih metala (Fe, Zn, Cu i Mn) pokazale su povišen nivo u jetri u odnosu na bubreg, a između starosnih grupa te razlike nisu bile statističke značajne, jedino za gvožđe u najmlađim starosnim grupama od 3-6 meseci i 1 godinu ($p=0,134$ i $p=0,054$) kao ni između sadržaja cinka u jetri i bubrezima u najstarijoj grupi od preko 3 godine ($p=0,305$). Koncentracije kadmijuma i žive rastu sa starošću u oba ispitana organa, a zabeležene koncentracije pokazuju statistički značajne razlike između pojedinih starosnih grupa. Dokazane su statističke značajne razlike između sadržaja kadmijuma u bubrezima između svih starosnih grupa ($p=0,001$), sa izuzetkom između jedinki starosti 3-6 meseci i godinu dana ($p>0,05$). Ove razlike u jetri bile su izražene između najstarijih jedinki (preko 3 godine) i svih ostalih grupa ($p=0,001$) kao i grupa starosti 1-2 godine i 2-3 godine u odnosu na mlađe (3-6 meseci i godinu dana; $p=0,001$). Srednje vrednosti sadržaja kadmijuma, posmatrano od najmlađih do najstarijih jedinki zeca, iznosile su za bubreg: 0,38 mg/kg; 0,79 mg/kg; 1,80 mg/kg; 2,72mg/kg i 4,58mg/kg, respektivno; za jetru: 0,05 mg/kg; 0,09 mg/kg; 0,18 mg/kg; 0,24mg/kg i 0,35mg/kg. Poređenjem izmerene minimalne i maksimalne vrednosti kadmijuma u bubrezima (0,06 i 7,54 mg/kg) i jetri (0,01 i 0,85 mg/kg) evropskog divljeg zeca sa sadržajem ovog metala u organima jelenske divljači iz drugih lovišta Srbije koje su se za bubreg i jetru iznosile 0,05 i 8,65 mg/kg, odnosno 0,08 i 0,79 mg/kg, respektivno, može se konstatovati da je tkivo divljeg zeca veoma dobar indikator prisustva ovog metala u životnoj sredini.

Kada se razmotre koncentracije žive u bubrezima, gledano po starosnoj strukturi ispitanih jedinki divljeg zeca, uočava se porast srednjih vrednosti sadržaja žive u bubrezima po starosti. Kod jetre zečeva starosti od 3-6 meseci nešto je viša srednja vrednost (0,014 mg/kg) u odnosu na zečeve stare 1 godinu (0,012 mg/kg), pri čemu ova razlika nije statistički značajna ($p>0,05$). Srednje vrednosti sadržaja žive, gledano po starosnoj strukturi zeca, iznosile su za bubreg: 0,029 mg/kg; 0,034 mg/kg; 0,048 mg/kg; 0,057 mg/kg i 0,068 mg/kg, respektivno; za jetru: 0,014 mg/kg; 0,012 mg/kg; 0,020 mg/kg; 0,025 mg/kg i 0,030 mg/kg. Dobijeni rezultati ukazuju da se za poređenje akumuliranih vrednosti kadmijuma i žive u određenom vremenskom periodu, na određenom lovnom području, preko tkiva divljeg zeca mogu koristiti jedinke stare oko 3 godine i godinu dana. Poređenja sa drugim zemljama ukazuju da se preko tkiva divljeg zeca mogu uočiti vidljive razlike u sadržaju kadmijuma, žive, cinka i bakra između pojedinih regiona, ali da bi oni bili direktno poredivi, starosna struktura ispitanih zečeva u nezavisnim istraživanjima mora biti podjednako zastupljena ili poznata, a to posebno važi u slučajevima poređenja nivoa akumulacije kadmijuma i žive.

Ispitivanja koncentracija cinka u tkivima divljeg zeca iz Srbije ukazuju na njegovo odsustvo u rejonima lovačkih udruženja kao zagađivača okoline. Takođe, ne treba isključiti ni određeni, ograničeni, ali prisutan uticaj na razlike u izmerenim koncentracijama cinka u vidu pozitivnih ili negativnih asocijacija sadržaja cinka sa sadržajem toksičnih elemenata (Hg i Cd) i esencijalnim metalima unutar pojedinih starosnih grupa (npr. Fe). Srednje vrednosti gvožđa, cinka, mangana i bakra u tkivu evropskog divljeg zeca su bliske fiziološkim vrednostima za meka tkiva i nisu od značaja kada se date vrednosti posmatraju

u kontekstu uticaja ovih metala iz životne sredine, odnosno potencijalne toksičnosti registrovanih koncentracija po same jedinice. Između starosnih grupa, u velikoj većini (izuzev cinka u bubrezima zečeva starijih od 3 godine u odnosu na sve ostale grupe; $p=0,001$), nisu registrovane statistički značajne razlike u pogledu sadržaja gvožđa, cinka, mangana i bakra u bubrezima i jetri zečeva. Između pojedinih regiona registrovane su statistički značajne razlike u pogledu sadržaja ova 4 ispitana esencijalna elementa u bubrezima i jetri, što upućuje na zaključak da postoje određene razlike u ishrani na pojedinim područjima, odnosno njihovo neznatno veće ili manje prisustvo u ambijentalnoj sredini. Ove regionalne razlike su uočljivije kada se međulokacijski porede sadržaji, na primer, cinka u bubrezima ili bakra u jetri. Ovu činjenicu treba uzeti u obzir u direktnim lokalnim i međuregionalnim poređenjima, ako se ima u vidu da između životinja različitih starosnih grupa nisu registrovane statistički značajne razlike u sadržaju ovih metala u ispitanim organima, tako da starosna struktura u ovim poređenjima nije od velikog uticaja.

Analizom podataka dobijene su brojne, statistički značajne korelacione povezanosti između sadržaja pojedinačnih i različitih metala u okviru istog ili različitih tkiva. Tamo gde je registrovana, većina tih korelacionih povezanosti je bila slaba (\pm korelacioni koeficijent od 0,3-0,6) gledano na celu populaciju, a u okviru pojedinih starosnih grupa su bile slabe (\pm korelacioni koeficijent od 0,3-0,6) ili srednje do jake (\pm korelacioni koeficijent od 0,6-0,96). Generalno, interakcije između esencijalnih elemenata u ispitanom tkivu divljeg zeca su uglavnom povezane sa ishranom koja sadrži veće ili manje količine toksičnih elemenata i/ili neadekvatnu zastupljenost esencijalnih elemenata u ishrani. Registrovane interakcije, verovatno su, indikacija regulisanja mineralnog balansa u tkivu divljeg zeca, homeostatskim mehanizmima u okviru kojih postoji kompeticija toksičnih i esencijalnih elemenata, kao i uticaj zajedničkog delovanja više metala istovremeno.

Rezultati hemijskih ispitivanja metala u tkivu divljeg zeca bi trebalo da daju doprinos većoj primeni pragmatičnih tehnika procena stanja životne sredine sa povezivanjem uzroka koji ih izazivaju. Kao rezultat ove disertacije, u budućim istraživanjima bi trebalo kombinovati hemijska ispitivanja (određivati i ostale kontaminante iz životne sredine istovremeno) i kroz dobijene rezultate treba definisati stanje u pogledu prisutnosti kontaminata životne sredine u tkivu divljači kao normalan nivo prisutnosti za različita područja, koje će se pratiti u budućem periodu kao i da se odredi uticaj sezonskih promena.

Obzirom na registrovane nivoe kadmijuma u bubrezima i jetri divljeg zeca, ova tkiva nisu preporučljiva za ishranu, jer su u njima dokazane vrednosti koje su veće od maksimalno dozvoljenih.

Ključne reči: zec, tkivo, teški metali, biomonitoring, bubreg, jetra

Naučna oblast: Veterinarska medicina

Uža naučna oblast: Ekotoksikologija divljači

UDK: _____

ESTIMATION OF BIOMONITORING POTENTIAL OF HARE (*Lepus europaeus*) BASED ON HEAVY METAL ACCUMULATION IN TISSUE

SUMMARY

The choice of a particular species for a biological monitor must be based upon the circumstances of each study including species availability, the metals to be examined, area, and the study objectives and priorities. Using omnivora and carnivora animals is limited because their diet may vary and it is often influenced by so called effect of a cumulative action through the food chain.

From available literature, it is pointed out that toxic effects of heavy metals on wildlife exposed to their presence in their habitat, generally were poorly understood and rarely quantified in the field during the animals lifetime. From European and American studies there has been noted remarkable strong accumulation of cadmium, lead and mercury in herbivora tissue, including other heavy metals (zinc, copper, manganese). European hare was chosen to be the object of research because of its abundance in a number of regions and hunting areas in Serbia, primarily in lowland landscapes and middle highland. The newly estimated data are about 565.000 individual on the whole territory of Serbia. There is a possibility to sacrifice a larger number of individuals during regular hunting season, especially because of routine use of eye lenses for estimation of the presented hare population strength and the age structure, regarding biological characteristics of hare, small radius of movement through habitats and location fate, good adaptability to living conditions, diet habits and strong reproduction potential. Plants, the basic food of herbivora species, primarily capture heavy metals over atmospheric deposition in rough cuticular pattern and leaves. This phenomenon can indicate the pathways of exposure of different kind of animals to aerodeposited elements. From here, it can be concluded that European hare loads heavy metals in its organism at large proportion through diet, or incidentally by ingestion of contaminated soil or sediment.

In certain cases, the levels of heavy metal presence in animal tissue don't reflect the levels of exposure in ambient conditions, mainly because of tissue homeostatic regulation of loaded metal concentrations.

The aim of the present research was to provide the newest data about environmental heavy metal levels in hare tissue and make connection with local pollution sources of heavy metals; estimation of hare tissue that is potentially a subject to heavy metal biomonitoring, especially widespread toxic elements like cadmium, mercury, lead and other essential elements (iron, zinc, copper, manganese, chromium and nickel) based on literature data from European studies about metal levels in hares and in other, larger herbivora species (red deer, roe deer etc.) , and also, identification of any potential risk to humans about consuming edible hare organs .

A total of 312 tissue samples (156 kidneys and 156 livers) obtained from all hunted free-range hares—*Lepus europaeus* (n=156) were investigated upon Cd, Hg, Pb, Fe, Zn, Mn, Cu, Cr and Ni presence. The hares were acquired in 21 hunting locations (11 from central Serbia and 10 from Vojvodina province) during the regular hunting season 2010/2011. The age of hares was determined measuring dried eye lenses (*Lens cristalina*). The hares were divided in 5 age groups : 3-6 months (n=28); 1 year (n=41); 1-2 years (n=22); 2-3 years (n=51) and older than 3 years (n=14). After sample preparation, samples were digested in a microwave oven (Milestone Touch Control). Pb LOD (0,05 mg/kg) and Cd LOD (0,005 mg/kg) were determined by atomic absorption spectrometer (VARIAN SPEKTRAA 220) equipped with a graphite furnace with an automatic sampler. The quantity of mercury was determined using the AAS method via the cold vapor technique. Fe, Zn, Mn, Cu, Cr and Ni were determined using flame atomic absorption spectrometry (acetylene flame). The LOD of metals were: (Fe) LOD (1,0 mg/kg); (Zn) LOD (0,2 mg/kg); (Mn), LOD (0,5 mg/kg); (Cu) LOD (0,1 mg/kg); (Cr) LOD (2,0 mg/kg) and (Ni) LOD (0,5mg/kg). All methods used for heavy metal determination were accredited by the Serbian Accreditation Body. Statistical analysis was performed by the MINITAB software package, version 16.0. The ANOVA test and the post hoc Tukey HSD parametric test were used to examine statistical differences of heavy metal concentrations among the groups. The two sample t-test was used to examine differences between heavy metal concentrations in kidney and liver within age groups. The significance of correlation between heavy metal levels were calculated using Pearson's correlation (Ps). The differences were considered statistically significant when the p value was <0.05.

In kidney and liver from all investigated tissue samples, chromium and nickel presence were not registered, accordingly, the measured concentrations were below the limit of detection methods used. There is conclusion that the microelements are not presented in significant concentrations that would have toxic effects in soft tissue and their determination should be done using more sensitive instrumental technique (graphite or ICP/MS). The obtained results for cadmium and mercury concentrations in both organs had shown increasing accumulation of these metals with age. This was best seen in cadmium levels, its accumulation in kidney was 8-13 times greater than in liver and, to a lesser extent, mercury accumulation in kidney compared to liver (two times higher in kidney for all age groups). Lead is detected approximately in one third of the total examined samples from all locations. No dependency of accumulation regarding age was registered, and there were not any statistically significant differences of lead concentration levels between kidney and liver within the particular age groups. Results for lead in kidney and liver indicate direct exposure to lead in their habitats as a result of vicinity of roads and aerodeposition. Looking at age groups and the whole examined samples, there has been registered a greater cadmium and mercury accumulation in kidney, compared to liver. Concentrations of other examined essential elements (Fe, Zn, Cu i Mn) were at a higher level in liver than in kidney. Looking at age groups, the statistically significant differences were not registered only in case of iron in younger animals, 3-6 months and 1 year old ($p=0,134$ i $p=0,054$) and

in case of hare older than 3 years, where statistically difference between zinc concentrations in liver and kidney was not registered ($p=0,305$).

Recorded cadmium and mercury levels had shown increased concentrations in both organs by age and there were notable statistically significant differences between certain age groups. Differences between cadmium content in kidney among presented groups were registered ($p=0,001$), with the exception of hares aged between 3-6 months and 1 year ($p>0,05$). These differences in liver were more notable between age group older than 3 year and all together remaining groups ($p=0,001$). There were also significant differences between hare aged 1-2 and 2-3 years in relation to the youngest (3-6 months and yearlings; $p=0,001$). Average cadmium concentrations looking at subsequent age stages were for kidney: 0,38 mg/kg; 0,79 mg/kg; 1,80 mg/kg; 2,72mg/kg i 4,58mg/kg, respectively; for liver: 0,05 mg/kg; 0,09 mg/kg; 0,18 mg/kg; 0,24mg/kg and 0,35mg/kg. Comparing registered cadmium concentrations in hare kidneys (0,06-7,54 mg/kg) and liver (0,01-0,85 mg/kg) to cadmium levels in kidneys (0,05-8,65 mg/kg) and liver (0,08-0,79 mg/kg) of big herbivora game (red deers from other Serbian hunting areas examined during 2006) it can be concluded that the european hare is a very good indicator of cadmium presence in the environment, taking into account the size of hare organs and deer.

Mercury concentrations in kidney had shown an increase looking at age groups. Average mercury concentrations in liver from two younger groups (3-6 months and 1 year old) are close to each other (0,014 mg/kg and 0,012 mg/kg, respectively) but there was no significant difference registered ($p>0,05$). Average mercury concentrations looking at subsequent age stages were for kidney: 0,029 mg/kg; 0,034 mg/kg; 0,048 mg/kg; 0,057 mg/kg i 0,068 mg/kg, respectively and for liver: 0,014 mg/kg; 0,012 mg/kg; 0,020 mg/kg; 0,025 mg/kg and 0,030 mg/kg. The obtained results for cadmium and mercury concentrations in kidney and liver within different age groups, refer to the use of animals aged 3 years and yearlings for direct comparison in a longer monitoring period, improving monitoring precision in such a way. Comparison of heavy metal content in hare tissue between different regions can vary regarding cadmium, mercury, lead, zinc and copper concentrations, but in the case of cadmium and mercury concentrations, the comparisons have sense if the age groups are equally distributed.

Registered zinc concentrations in investigated hare tissue from Serbia, refer to absence of this metal as an excessive environmental pollution substance. Attention must be kept on registered positive or negative correlations between zinc and toxic metals (Cd,Hg) and associations with other essential elements (eg. Fe) within certain age groups, that may influence the bioaccumulation process.

Average concentrations of iron, zinc, manganese and copper registered in european hare tissue were close to physiological levels, enabling normal tissue function, and there was no evidence that the measured concentrations can affect tissues and invoke a potential risk of toxicity to hares. Between age

groups (except zinc in hare kidneys older than 3 years in relation to other age groups; $p=0,001$) there were not registered any statistically significant differences regarding the concentrations of iron, zinc, manganese and copper in kidney and liver of hares. Between certain regions, differences were registered regarding concentrations of these four essential metals in kidneys and liver. This refers to differences in diet from various geographical regions, whilst a deficit or a higher presence in the environment. For certain metals and tissues these differences were more notable whilst comparing, for example, zinc concentrations in kidney or copper concentrations in liver between regions. It seems that liver is the main organ that accumulates copper. These facts would be considered when making comparisons of data from different regions, while also taking into account the concentrations of essential metals in both organs are also not strictly correlated by age.

A large number of significant associations between toxic and essential metals were found within tissue. Most of these correlations were weak (\pm correlation coefficient 0,3-0,6) to moderate (correlation coefficient about 0,6) and in some isolated cases very strong (0,96). In general, interactions between essential and non-essential elements in hare tissue probably indicates that the mineral balance in the body is regulated by important homeostatic mechanisms in which toxic elements compete with the essential metals, even at low levels of metal exposure. The knowledge of these correlations may be essential to understanding the kinetic interactions of metals and their implications in the trace metal metabolism.

In conclusion, combining the chemical analysis with suites of biomonitoring addresses the need for more pragmatic environmental assessment techniques, linking environmental burden with its causes. Further work is needed, for example, to better define the range of responses considered normal for different sites and to identify periods of sensitivity to seasonal influences. This holistic approach provides a means of identifying the integrated impact of chemical contamination on different levels of biological function and could make a viable addition to routine management protocols for protecting the environment.

Registered cadmium and mercury levels in hare organs imply the limitation to use these tissue in human diet, especially because the recorded Cd content in kidneys exceeded the MRL (Maximum Residue Limit) in most examined hares from the most localities.

Key words: hare, tissue, heavy metals, biomonitoring, kidney, liver

Scientific area: Veterinary Medicine
Specific scientific area: Wildlife Ecotoxicology
UDK: _____

SADRŽAJ

1.	UVOD.....	1
2.	PREGLED LITERATURE.....	2
2.1	Podela teških metala.....	2
2.2	Teški metali u životnoj sredini.....	2
2.3	Zajednički mehanizam toksičnog delovanja metala.....	7
	<i>2.3.1 Fiziološki bazirani farmakokinetički modeli</i>	<i>8</i>
2.4	Ekotoksikološki profil kadmijuma.....	10
2.5	Ekotoksikološki profil žive.....	12
2.6	Ekotoksikološki profil olova.....	14
2.7	Ekotoksikološki profil gvožđa.....	15
2.8	Ekotoksikološki profil cinka	16
2.9	Ekotoksikološki profil bakra.....	17
2.10	Ekotoksikološki profil mangana.....	18
2.11.	Ekotoksikološki profil hroma.....	20
2.12	Ekotoksikološki profil nikla.....	21
2.13	Biomonitoring teških metala.....	21
2.14.	Izloženost divljači teškim metalima.....	23
2.15	Biomonitoring teških metala preko tkiva kopnenih sisara.....	26
2.16	Sadržaj teških metala u tkivima najzastupljenijih vrsta divljih kopnenih sisara sa teritorije Evrope i Severne Amerike.....	28
2.17	Karakteristike divljeg zeca (<i>Lepus europaeus</i>).....	35
	<i>2.17.1 Biološke karakteristike divljeg zeca.....</i>	<i>35</i>
	<i>2.17.2 Karakteristike populacije divljeg zeca u Srbiji i evropskim okvirima.....</i>	<i>36</i>

2.18	Bioakumulacija teških metala u tkivima divljeg zeca.....	37
2.19	Metode za određivanje metala u biološkim materijalima iz životne sredine.	39
	2.19.1 <i>Specifični zahtevi za atomsku apsorpcionu spektrofotometriju prema Direktivi Evropske Komisije (EC,2002)</i>	39
3.	CILJ ISTRAŽIVANJA	41
4.	MATERIJAL I METODE	42
4.1.	Sakupljanje uzoraka.....	42
4.2.	Određivanje starosti.....	43
4.3	Analitičke metode.....	44
	4.3.1 <i>Priprema uzoraka i mikrotalasna digestija</i>	45
	4.3.2 <i>Instrumentalno određivanje teških metala</i>	47
4.4	Kontrola kvaliteta (QC).....	48
4.5.	Statistička obrada.....	50
5.	REZULTATI ISTRAŽIVANJA	51
5.1	Tabelarni prikazi sadržaja teških metala u tkivima divljeg zeca po teritorijama lovačkih udruženja.....	52
5.2	Grafički prikaz i opis sadržaja kadmijuma u bubrežima i jetri divljeg zeca.....	59
5.3	Grafički prikaz i opis sadržaja olova u bubrežima i jetri divljeg zeca.....	61
5.4	Grafički prikaz i opis sadržaja žive u bubrežima i jetri divljeg zeca.....	64
5.5	Grafički prikaz i opis sadržaja gvožđa u bubrežima i jetri divljeg zeca.....	67

5.6	Grafički prikaz i opis sadržaja cinka u bubrežima i jetri divljeg zeca.....	69
5.7	Grafički prikaz i opis sadržaja mangana u bubrežima i jetri divljeg zeca.....	71
5.8	Grafički prikaz i opis sadržaja bakra u bubrežima i jetri divljeg zeca.....	73
5.9	Tabelarni prikaz sadržaja teških metala u tkivima divljeg zeca po starosnim grupama.....	75
6.	DISKUSIJA REZULTATA	76
6.1	Kadmijum u bubrežima i jetri divljeg zeca.....	76
6.2	Olovo u bubrežima i jetri divljeg zeca.....	80
6.3	Živa u bubrežima i jetri divljeg zeca.....	85
6.4	Gvožđe u bubrežima i jetri divljeg zeca.....	89
6.5	Cink u bubrežima i jetri divljeg zeca.....	91
6.6	Mangan u bubrežima i jetri divljeg zeca.....	96
6.7	Bakar u bubrežima i jetri divljeg zeca.....	98
6.8	Hrom i nikl u bubrežima i jetri divljeg zeca.....	102
6.9	Interakcije između metala u ispitanim tkivima divljeg zeca.....	102
7.	ZAKLJUČCI.....	109
8.	LITERATURA.....	111

1. UVOD

Depozicija teških metala i njihovo kretanje kroz životnu sredinu zavisi od mnoštva fizičkih i bioloških procesa i faktora. Da bi se dobila dobra procena transfera i potencijala određenog zagađivača potrebno je trajno nadgledati i meriti različita fizička, hemijska i biološka svojstva ekosistema preko odgovarajućih biomonitora. Sadržaj teških metala u tkivima divljači može da posluži kao dobra osnova za obezbeđivanje važnih podataka u pogledu njihovog prisustva u ekosistemima. Ovi podaci su zadovoljavajućeg kvaliteta sa biološkog i ekološkog stanovišta, čak i ako se ne sprovode uporedna eksperimentalna i toksikološka istraživanja.

Do 1986. godine u svetu je bilo objavljeno svega oko 50 studija i istraživanja koja su se bavila ispitivanjem kopnenih sisara kao bioindikatora teških metala u životnoj sredini. Uglavnom su ispitivani vodeni organizmi, a kopnene životinje su, uglavnom, ispitivane iz sredina gde je postojala sumnja da postoji zagađenje ili u blizini industrijske i rudarske infrastrukture, kao potencijalnih tehnoloških izvora ozbiljnijeg zagađenja teškim metalima. Od početka devedesetih, pa nadalje, postoji određeni broj radova evropskih autora u referentnim časopisima, uglavnom iz Češke, Slovačke, Poljske, Rusije, Nemačke, Španije, Norveške, Finske i Hrvatske sa podacima o sadržaju teških metala u tkivima pojedinih sisara i divljih ptica iz Evrope, karakterističnih i za podneblje Srbije, kao što su: divlja svinja (*Sus Scrofa*), jelen lopatar (*Dama dama Lin.*), evropski jelen (*Cervus elaphus Lin.*), muflon (*Ovis musimon Pall.*), srneća divljač (*Capreolus capreolus*), divlji zečevi (*Lepus europaeus Pall.*), fazanska divljač (*Phasianus spp.*) itd.

Mnogi faktori utiču na dostupnost teških metala vrstama sa različitim karakteristikama i osobenostima u prirodnim uslovima u kojima žive. Faktor domaćin, odnosno jedinka neke vrste koja akumulira teške metale u svom organizmu - tkivu, svakako je najvažniji. Njega, pre svega, karakteriše stepen izloženosti individue neke populacije teškim metalima, dnevni unos, absorpcija, biokinetika, oseljivost i toksičnost. Takođe, i drugi faktori utiču na bioakumulaciju a to su, pre svega, starost, veličina i težina životinje, pol, status u lancu ishrane, genetika, ponašanje, životni vek, individualni zdravstveni status itd. Bioakumulacija teških metala nije jednostavan i linearno zavisani proces.

Razumevanje faktora domaćina i metodologije procene njegovog biomonitorskog potencijala predstavljaju realnu osnovu za uspostavljanje biomonitoring planova, njihovo sprovođenje, identifikaciju rizika, procenu izloženosti i na kraju, upravljanje rizikom. Razvoj biomonitorinškog „alata“, koji će omogućiti procenu stanja elemenata životne sredine uz obezbeđenje ranog upozorenja na njeno potencijalno ugrožavanje, a time i na posledice po zdravlje ljudi i životinja. Biomonitoring metala treba da pruži informaciju da li postoji značajan biološki rizik pri datom nivou kontaminacije.

2. PREGLED LITERATURE

2.1 Podela teških metala

U poslednje dve decenije termin „teški metali“ je široko koršćen u naučnoj i stručnoj literaturi, kao i zakonskoj regulativi. Najčešće je upotrebljavan kao zajedničko ime za metale i metaloide koji su u vezi sa zagađenjem životne sredine ili toksičnim potencijalom koji poseduju. Metali su podeljeni u različite grupe i u literaturi se terminološki pojavljuju kao teški, toksični, esencijalni, mikroelementi itd. Najčešće kategorije prema kojima se vrši podela metala su na: lake, teške, semimetale (metaloide), toksične, elemente u tragovima, esencijalne elemente, ili prema hemijskim i fizičkim parametrima, kao npr. gustina, težina, atomski broj i stepen toksičnosti. Termin „teški metali“ odnosi se na elemente čija je gustina veća od 5g/cm^3 i upućuje na metale i metaloide koji indikuju zagađenost životne sredine i toksičnost. Ovaj termin se koristi i u kontekstu elemenata potrebnih organizmu u niskim koncentracijama

Određeni elementi (metali i metaloidi) su od esencijalnog značaja za rast biljaka kao i za zdravlje ljudi i životinja. Što se tiče biljaka, koje predstavljaju glavnu hranu herbivorne divljači (uključujući i divljeg zeca), mikroelementi potrebni za njihov rast su bor, bakar, gvožđe, cink, mangan i molibden. Za životnije od velikog značaja su kobalt, hrom, nikl, kalaj, selen. Mikroelementi su definisani kao elementi čija je potreba izražena u tragovima, odnosno u veoma malim količinama u odnosu na glavne nutrijente (azot, fosfor i kalijum). Ukoliko su dostupni biljkama, životinjama i ljudima, u povišenim koncentracijama, mogu imati toksično delovanje. Problem nastupa, takođe, ako postoji njihov deficit (*Adriano, 2001*).

2.2 Teški metali u životnoj sredini

U životnoj sredini se pojavljuje različiti broj toksičnih supstanci: u atmosferi, hidrosferi, litosferi i biosferi, što zavisi od izvora zagađenja (industrija, energija, saobraćaj, poljoprivreda itd). Često dolazi do međureakcija i stvaranja sekundarnih zagađivača u životnoj sredini (*Đurić i Petrović, 1996*). Prisustvo teških metala u životnoj sredini je veoma zastupljeno. Ono potiče iz prirodnih i antropogenih resursa. Neki metali su veoma značajni za rast biljaka, zdravlje životinja i ljudi. Ukoliko su prisutni u povećanim koncentracijama tada imaju toksičan efekat na tkiva, i uopšte, na zdravlje. Teški metali učestvuju u brojnim biogehemijskim procesima na različitim prirodnim reaktivnim površinama: površine glinenih minerala, metalnih oksida, oksihidroksida, humusnih materija, korena biljaka i mikroorganizama (*Sparks, 2005*).

U određenim slučajevima, teški metali, pored svoje stabilnosti, imaju potencijal da budu akumulirani u terestričnim (kopnenim) i vodenim ekosistemima u visokim koncentracijama i izazivaju narušavanje zdravlja životinja i ljudi, preko zemljišta (aerodepozicija), unošenjem hrane, udisanjem prašine i zagađenog vazduha ili preko kože (*Adriano, 2001*). Ova pojava u anglosaksonskoj stručnoj literaturi se naziva „bioakumulacija“ (bioaccumulation) odnosno „biomagnifikacija“ (biomagnification) i predstavlja povećanje koncentracije hemijske supstance u biološkim organizmima tokom vremena u poređenju sa koncentracijom te supstance u životnoj sredini.

Glavnu pretnju po ljudsko zdravlje u pogledu izloženosti teškim metalima predstavlja ekspozicija olovu, kadmijumu, živi i arsenu (*Jarup, 2003*).

Postoji veoma mala verovatnoća mogućnosti redukcije emisije žive (Hg), kadmijuma (Cd) i olova (Pb) iz prirodnih izvora, kao što su vulkanske eksplozije i veliki šumski požari. Učešće ova dva prirodna izvora gore pomenutih metala se procenjuje kao 96%, 46% i 66% prirodne emisije, respektivno (*Nriagu, 1989, 1990*). U tabeli 1. dat je pregled prirodnih i antropogenih izvora sa liste prioriternih teških metala i njihovih zajedničkih formi u otpadnim materijama.

Tabela 1. Pregled prirodnih i antropogenih izvora teških metala sa prioritete liste kao i zajedničkih otpadnih formi (Sparks, 2005)

Element	prirodni izvor ili mineralna forma	antropogeni izvor	zajednička forma u otpadnim materijama
Kadmijum	Cink karbonatne i sulfidne rude, bakar karbonat i bakar sulfid	Rudarstvo, topljenje i površinska obrada metala, industrija plastike, mikroelektronika, proizvodnja baterija, deponije otpada, fosfatna đubriva, otpadni mulj, staro gvožđe	Cd ²⁺ -joni Cd halidi i oksidi Cd-CN kompleksi Cd(OH) ₂ mulj
Olovo	Galenit (PbS)	Eksploatacija ruda, topljenje metala, industrija gvožđa i čelika, rafinerije, industrije boje, izduvni gasovi vozila, proizvodnja olovnihi cevi, proizvodnja baterija, otpadni mulj, deponije otpada i smetlišta, pesticidi, staro gvožđe	Pb metal, Pb-oksidi Pb-karbonati, Pb-Me-kompleksi
Živa	elementarna živa, živin sulfid (HgS) degazirana živa iz zemljine kore i okeana	Eksploatacija ruda, topljenje metala, elektrolitički postupci u industriji, industrija plastike, odlagališta i deponije otpada, industrija drvene pulpe i papira, proizvodnja fungicida	Organski kompleksi sa živom, živini halidi i oksidi, Hg ²⁺ , (Hg ₂) ²⁺ , Hg ⁰
Gvožđe	Oksidne, karbonatne, silikatne i sulfidne rude	Pirometalurgija, topljenje i kaljenje metala	Metalno gvožđe, Fe ₂ O ₃
Cink	Sfalerit (ZnS), Smitsonit (ZnCO ₃) Wiljemit (Zn ₂ SiO ₄)	Eksploatacija ruda, topljenje metala, površinska zaštita metala, tekstilna industrija, mikroelektronika, deponije otpada i smetlišta, pirometalurgija, otpadni mulj, pesticidi, staro gvožđe	Zn metal, Zn ²⁺ - joni, Zn-oksidi i karbonati, legure
Bakar	metalni bakar, Halocit (Cu ₂ S) Halkopirit (CuFeS ₂)	Eksploatacija ruda, topljenje metala, površinska obrada metala, zaštita drveta, deponije otpada, pirometalurgija, svinjsko gnojivo, pesticidi, staro gvožđe, dreniranje rudnih nalazišta	Cu metal, Cu oksidi, Cu humusni kompleksi Legure bakra, Cu ²⁺ -joni
Hrom	Hromit (FeCr ₂ O ₄) Eskolait (Cr ₂ O ₃)	Površinska zaštita metala, industrija plastike, drvna industrija, pirometalurgija, deponije otpada, staro gvožđe	Cr metal, Cr oksidi Cr ³⁺ kompleksi sa organskim i neorganskim ligandima
Niki	gvožđe-magnezijumski minerali, gvožđe-sulfidne rude, pentlandit	Industrija gvožđa i čelika, eksploatacija ruda i topljenje metala, površinska zaštita metala, mikroelektronika i proizvodnja baterija	Ni metal, Ni ²⁺ -jon, Ni-amini, legure metala

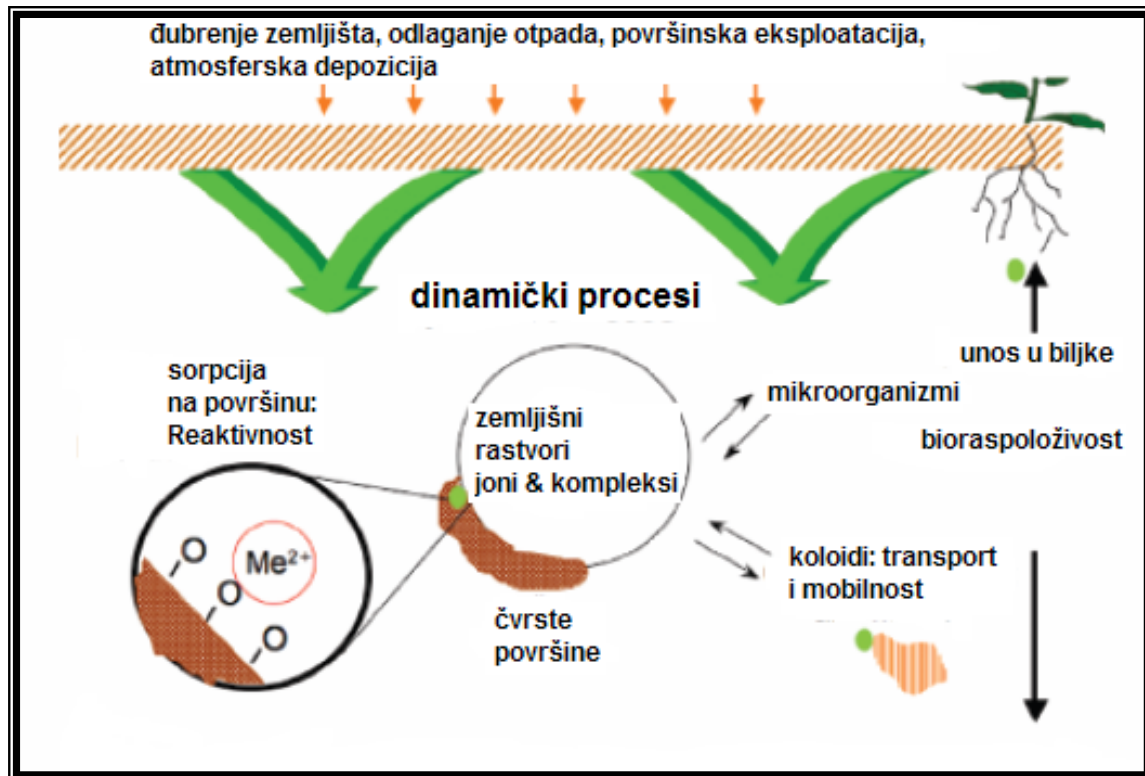
Atmosferska depozicija je glavni mehanizam za prenos metala u zemljište i biljke. Ovo se, u potpunosti, ne odnosi na šumske ekosisteme, gde se kontaminacija zemljišta teškim metalima uglavnom dešava usled atmosferske depozicije (*Grodzinska i Yorks, 1981; Kabata i Pendias, 1984*).

Isparljivi metaloidi, kao arsen, živa, selen i antimon, mogu biti transportovani na veće razdaljine u gasovitoj formi ili u obliku grupisanih čestica, dok se bakar, olovo i cink transportuju kao pojedinačne faze (*Adriano, 2001*).

U kopnenim ekosistemima zemljište je glavni recipijent zagađenja metalima, dok u vodenim ekosistemima sedimenti predstavljaju glavni izvor teških metala koji mogu uticati na zagađenje vodotokova i podzemnih voda. Vodotokovi se zagađuju metalima spiranjem i rastvaranjem sedimenata ili njihovim direktnim ispuštanjem, dok se podzemne vode zagađuju metalima raskvašivanjem ili transportom preko mobilnih koloida (*Nriagu i Pacyna, 1988; Rice, 1999*).

Biogeochemijski procesi utiču na specijaciju (formu) metala, odnosno metalnog jona, u ciklusu kruženja kroz medijume životne sredine i na taj način, kontrolišu njegovu rastvorljivost, mobilnost, raspoloživost i dostupnost, kao i stepen toksičnosti. Joni metala mogu dospeti u vodenu fazu zemljišta u kojoj su rastvorene i druge supstance i kretati se brojnim putanjama koje se međusobno mogu preklapati (*Sparks, 2005*).

Na slici 1. date su ove putanje i procesi u kojima metali učestvuju u tzv. „kritičnim zonama“, koje predstavljaju heterogene, granične faze u kojima se odvijaju kompleksne interakcije između stena, zemljišta, vode, vazduha i živih organizama.



Slika 1. Mehanizam vezivanja jona iz zemljišta u biljke (National Research Council, 2001); http://www.nap.edu/openbook.php?record_id=9981&page=37.

Sa gornje slike se može uočiti da slobodni i kompleksirani joni (sa neorganskim i organskim ligandima) mogu biti preuzeti od biljaka, zatim zadržani na površini minerala, prirodnih organskih materija ili mikroorganizama, transportovani kroz zemljišni profil u podzemne vode ceđenjem ili koloidnim transportom, istaloženi kao čvrsta faza ili difuzno raspoređeni u poroznim medijima, kao na primer zemljište.

Korenov sistem biljaka, delovanjem prisutnih zemljišnih mikroorganizama, može transformisati metale poput žive, hroma, selena, kalaja i arsena oksidoredukcijom, metilacijom (zamena obično vodonikovog atoma metil grupom) i demetilacijom. Primera radi, metil-živa je mnogo toksičnija forma od neorganske žive i ona se akumulira u živim organizmima. Pojava metilacije je favorizovana u prisustvu veoma male količine kiseonika, niske pH vrednosti i veće količine organske materije u zemljištu (Sparks, 2005).

Problem kontaminacije zemljišta kadmijumom je veoma značajan obzirom da se on relativno lako unosi preko biljaka u lance ishrane, a na taj način u životinje i ljude. Ovaj unos u biljke je olakšan u zemljištima sa nižom pH vrednošću, koja

globalno gledano, postaju dominantna obzirom na povećani intenzitet kiselih kiša (*Elinder, 1992*).

Sorpcija (zadržavanje) metala, uključujući alkalne (kalijum i kalcijum) i prelazne (npr. kadmijum i nikal), na neorganskim mineralima (glina, metalni oksidi i oksihidrati) kao i humusnim supstancama je najvažniji geohemijski proces koji, u najvećoj meri, određuje pojavu određenog metala, transport i raspoloživost u zemljištu i vodi (*Sparks, 2005*).

2.3 Zajednički mehanizam toksičnog delovanja metala

Imajući u vidu veliku naučnu pokrivenost koja se tiče same toksičnosti teških metala i njihovih toksičnih svojstava, a posebno onih koji u veoma malim količinama predstavljaju opasnost po zdravlje čoveka i životinja, od značaja je ipak pomenuti, u kratkim crtama, neke zajedničke mehanizme njihovog delovanja.

Da bi metali ispoljili svoje toksično delovanje na organizam, oni moraju proći kroz ćelijsku membranu. Ukoliko se teški metal nalazi u formi koja je rastvorljiva u lipidima (npr. metil-živa), on lako prodire kroz ćelijsku membranu i ulazi u ćeliju. Kada je u formi vezanoj za protein (npr. kadmijum-metalotionein) mehanizam prolaska kroz membranu je endocitoza. Drugi metali (npr. olovo) mogu biti apsorbovani mehanizmom pasivne difuzije.

Toksični efekat metala, obično, uključuje u sebe i interakciju slobodnog metala i mete koja se nalazi u ćeliji što se manifestuje specifičnim biohemijskim procesima (*Hodgson, 2004*).

Metali unešeni u organizam ne mogu biti uništeni metabolički. Ipak, postoji mogućnost da se toksični metali vežu za organske molekule ili da uđu u kompeticiju za fiziološkim metalima (mikroelementima), što može izazvati specifični toksični efekat (npr. efekat olova na delta-amino levulinsku kiselinu). Toksični metali štetno deluju na specifične organe kao što je, na primer, delovanje kadmijuma na bubrege (*Schafer i sar., 1999*).

Ono što karakteriše zajedničko toksično delovanje metala na organizam je enzimska inhibicija ili aktivacija, delovanje na subćelijske organele, kanecergenost (arsen, berilijum, nikal, kadmijum i hrom), oštećenje bubrega kao posledica nefrotoksikacije koje izazivaju kadmijum i živa (*Goyer i Clarkson, 2001*).

Veoma dobro je poznat mehanizam delovanja metil-žive koja je inače rastvorljiva u lipidima i zbog toga lako dospeva do mozga i oštećuje nervni sistem. (*Ratcliffe i sar., 1996*).

Takođe poznato je i štetan uticaj metala na endokrini sistem i reproduktivne organe - kadmijum izaziva oštećenje testisa nakon jake ekspozicije kao i akumulacija olova u njima, utičući na testikularnu degeneraciju i inhibiciju spermatogeneze (*Hodgson, 2004*).

Unošenje metala udisanjem u vidu metalne prašine oštećuje respiratorne organe, delujući inflamatorno i iritantno. Respiratorno unošenje spraćenog aluminijuma izaziva fibrozu, a u slučajevima unošenja arsena, hroma, nikla i kadmijuma postoji potvrđeno karcinogeno delovanje na čoveka i sisare (*Waalkes i sar., 1992*). Akutna ili jaka toksikacija metalima ima tipično veoma slične simptome kao što su opšta slabost ili glavobolja. Ovi simptomi zbog prirode svoje manifestacije deluju otežavajuće na precizno kliničko dijagnostikovanje (*Howard, 2002*).

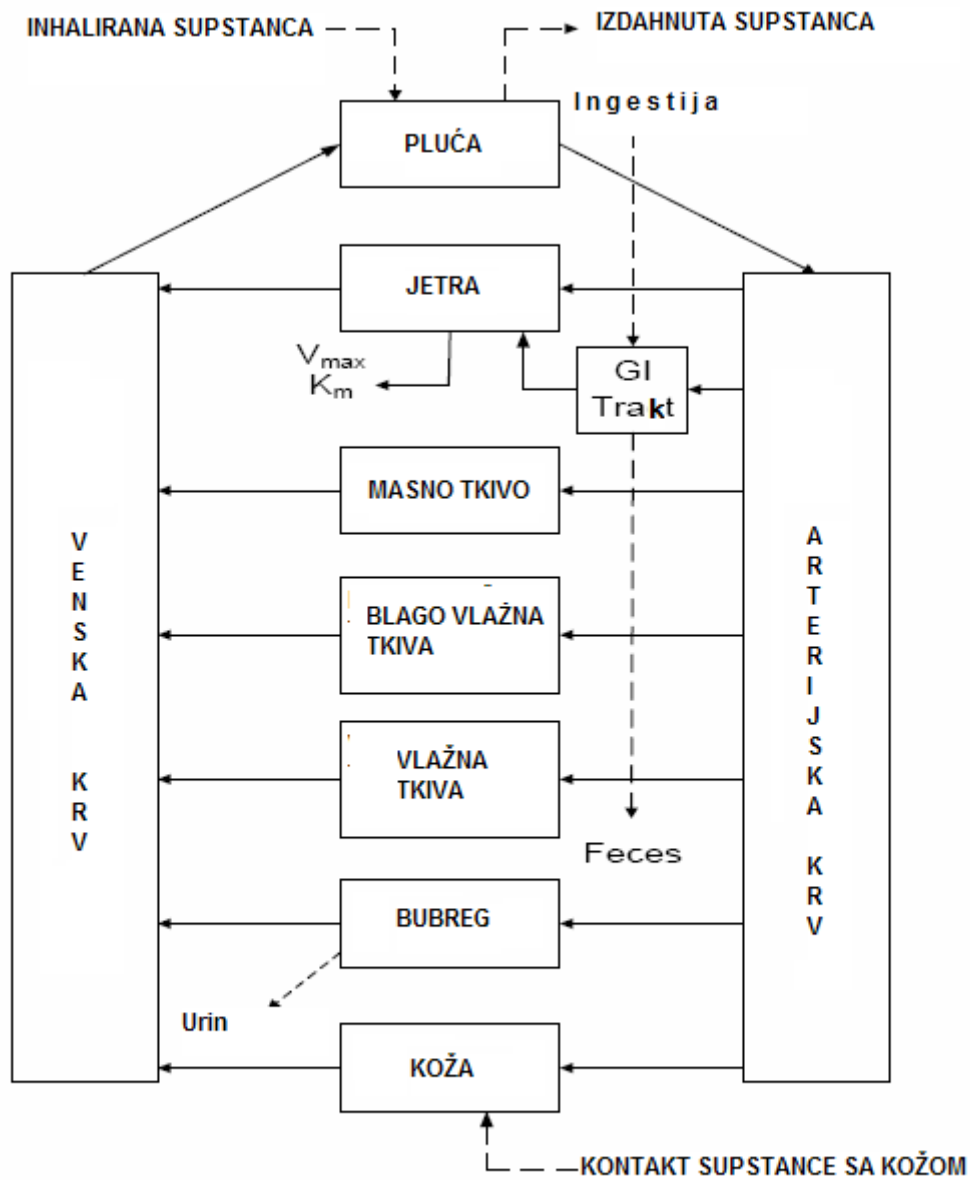
Kadmijum, olovo, živa i aluminijum su toksični metali koji ulaze u metabolitičke interakcije sa nutritivnim esencijalnim elementima u organizmu. Deficit gvožđa može biti izazvan apsorpcijom kadmijuma, olova i aluminijuma. Olovo ulazi u interakciju sa kalcijumom u nervnom sistemu i utiče na mentalni razvoj. Kadmijum i aluminijum u interakciji sa kalcijumom u kostima izazivaju osteoporozu. Selen štiti od posledica toksičnog dejstva žive i metil-žive (*Goyer, 1997*).

2.3.1 Fiziološki bazirani farmakokinetički modeli

Ovi modeli su opšte prihvaćeni u proceni rizika, prvenstveno za predviđanje potencijalnih toksičnih konsekvenci hemikalija (uključujući teške metale) koje će dospeti do određenog ciljnog tkiva, sledeći različite putanje unosa, nivoa unošenih doza i ispitivanih vrsta. Oni su često opisani kao biološki modeli zasnovani na dozimetriji tkiva (*Clewell i Andersen, 1985*).

Više tipova modela je razvijeno da opiše kinetiku metala (kretanje i mesto dispozicije) kod čoveka, odnosno sisara. Od ovih modela Nordberg-Kjellström model (*Kjellström i Nordberg, 1978; Nordberg i Kjellström, 1979*) je najšire primenjen za akumulaciju kadmijuma ali i drugih metala.

Na slici 2 prikazan je ovaj linearni višedelni model koji opisuje dispoziciju kadmijuma oralnim unosom i inhalacijom. Dermalna izloženost i potencijalna apsorpcija preko kože u ovom modelu nije tretirana. Ovaj model definiše bubrege i jetru kao ciljne organe akumulacije kadmijuma ali se primenjuje i za druge toksične elemente i toksične supstance.



*GI - gastro-intestinalni trakt

Slika 2. Konceptualno predstavljanje fiziološki baziranog farmakokinetičkog modela - Nordberg-Kjellström model

2.4 Ekotoksikološki profil kadmijuma

Kadmijum (Cd) je otkriven 1817. godine kao pratilac cinkove rude (u kojoj se nalazi u obliku sulfida ili karbonata) i u blizini topionica ovog metala. Kada je primećen, karakterisalo ga je žućkasto obojenje (kadmijum-sulfid), danas poznato pod nazivom kalamín (*Greenwood i Earnshaw, 1997*).

U elementarnom stanju kadmijum je mekan, srebrnastobeli metal koji je veoma stabilan na običnoj temperaturi. Rastvara se u kiselinama naročito u onim sa jačim oksidacionim delovanjem, dok je u bazama nerastvorljiv. Glavna upotreba mu se zasniva na njegovoj stabilnosti prema uticaju atmosferskih uslova (njime se prevlače drugi metali, npr. gvožđe) i otpornosti u alkalnim sredinama. Novija primena mu je u nuklearnim reaktorima gde ima funkciju absorbera neutrona (*Filipović i Lipanović, 1986*).

Prema novijim, sistematizovanim podacima (*ATSDR, 2011*) upotreba kadmijuma, njegovih legura i komponenti u industriji je svrstana u 5 glavnih kategorija primene, i to kao:

- aktivni elektrodni materijal u nikel-kadmijumskim baterijama (60% ukupnog korišćenja kadmijuma);
- pigmenti za bojenje plastike, keramike i stakla (12% ukupnog korišćenja kadmijuma);
- stabilizatori za polivinilhlorid (PVC) , protiv toplote i svetlosti (17 % ukupnog korišćenja kadmijuma);
- zaštitne prevlake na čelicima i drugim neobojenim metalima (8% ukupnog korišćenja kadmijuma);
- komponenta različitih specijalizovanih legura (2-3% ukupnog korišćenja kadmijuma);

Kadmijum i njegova jedinjenja imaju neznatan pritisak isparavanja, ali mogu egzistirati u vazduhu kao suspendovane čestice kao posledica industrijskih emisija, sagorevanja fosilnog goriva ili erozije zemljišta. One se mogu rastvoriti u atmosferskoj vodi (kapi kiše) i na taj način se uklanjaju iz vazduha vlažnom depozicijom (*Elinder, 1985*). Kadmijum je mnogo pokretljiviji u vodenoj sredini u odnosu na većinu drugih teških metala (npr. olovo). U većini površinskih voda u prirodi, afinitet za nastajanje kompleksa kadmijuma opada u sledećem nizu: $\text{CO}_3^{2-} > \text{OH}^- \geq \text{Cl}^- \geq \text{SO}_4^{2-}$. U vodama, većina prisutnog kadmijuma nalazi se u obliku heksahidratisanog jona $\text{Cd}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$. Manji deo kadmijuma se premešta sa grubim česticama, a veoma mala frakcija se transportuje sa koloidnim česticama. Sadržaj kadmijuma u vodi je u obrnutoj srazmeri sa pH vrednošću i koncentracijom organskih materija u vodi (*Callahan i sar., 1979*).

Prema računici *Wester-a i sar. (1992)*, kadmijum se relativno dugo zadržava u vodenim ekosistemima. U Mičigenskom jezeru, izračunato je da je vreme zadržavanja kadmijuma od 4 - 10 godina, što je značajno kraće u poređenju sa živom čije vreme zadržavanja iznosi 22 godine.

Kada dospe u životnu sredinu, kadmijum se većinom raspodeljuje u zemljište i to između 80-90% (*Morrow, 2001*). Mobilnost kadmijuma u zemljištu je povezana sa pH vrednošću, oksido-redukcionim reakcijama i nastajanjem kompleksa (*Bermond i Bourgeois, 1992*).

Kadmijum se može istaložiti u nerastvornom obliku u formi kompleksa ili helata, interakcijom sa prisutnom organskom materijom. Raspoloživi podaci ukazuju da je organska materija mnogo efikasnija od neorganskih sastojaka u „zaključavanju“ kadmijuma, odnosno njegovog držanja u nepristupačnom obliku za biljke (*McBride, 1995*).

Najveće zadržavanje kadmijuma (oko 90%) je u površinskom sloju zemljišta na dubini do 15 cm (*Herrero i Martin 1993*). Pokretljivost i raspoloživost kadmijuma u prirodnoj sredini za biljke u vlažnim zemljištima je značajno veća u odnosu na zemljišta sa nižim sadržajem vlage (*Debusk i sar., 1996*).

Prema *Thornton-u (1992)* krečnjačka podloga zemljišta, ili njegovo tretiranje gašenim krečom podižu pH, pojačavajući njegovu adsorpciju za samo zemljište ali i smanjuju njegovu bioraspoloživost. *He i Singh (1994)* su došli do saznanja da u istom zemljištu akumulacija kadmijuma opada u nizu: lisnate biljke > korenaste biljke > zrna kukuruza. Raspoloživi podaci pokazuju da se kadmijum bioakumulira na svim trofičkim nivoima lanaca ishrane. Ova pojava bioakumulacije je uočena i istražena kod dosta autora koji su ispitivali sadržaj kadmijuma u travi, kukuruznim zrnima, kišnim glistama, živini, krupnoj stoci, konjima i divljači (*Munshower, 1977; Gochfeld i Burger 1982; Alloway i sar., 1990; Ornes i Sajwan 1993; Rutzke i sar., 1993; Beyer i sar., 1996; Kalac i sar., 1996;*). Prema *Alloway-u i sar. (1990)* kadmijum se akumulira, pretežno, u listovima biljaka i rizik od njegovog akumuliranja u biljkama je veći kod lisnatih biljaka uzgajanim na kontaminiranom tlu od zrnastih i korenastih biljaka.

Zapaženo je i da se akumulacija kadmijuma u najvećem stepenu odigrava u bubrezima i jetri kičmenjaka ali ne i u mišićnom tkivu (*Sileo i Beyer, 1985; Vos i sar., 1990; Harrison i Klaverkamp 1990*).

Prema *Eisler-u (1985)*, u sinoptičkom pregledu do tada poznatih činjenica u vezi efekata prisustva kadmijuma u vodenoj i kopnenoj flori i fauni identifikovano je 6 sledećih trendova:

- generalno gledano, morski baseni sadrže značajno veće količine kadmijuma kao rezidualne forme u odnosu na slatkovodne i suvozemne ekosisteme;

- kadmijum ima tendenciju da se koncentriše u organizmu kičmenjaka, a posebno u jetri i bubrezima;
- sadržaj kadmijuma u jetri i bubrezima je viši kod starijih životinja, a ovo se posebno odnosi na karnivore (mesojede) i morske kičmenjake;
- veće koncentracije za pojedinačne životinje - individue, uglavnom su povezane sa distancom lokacija sa kojih su sakupljeni i ispitivani uzorci tkiva u odnosu na industrijska postrojenja, urbane sredine ili lokacije na kojima su prisutna odlagališta komunalnog ili drugog otpada koji u sebi sadrži kadmijum;
- koncentracije kadmijuma u kukuruznom zrnju i drugim biljkama su generalno ispod 1mg/kg;
- koncentracije kadmijuma izmerene u biomatriksu su zavisne od vrste analiziranog tkiva, godišnjeg doba kada su uzorci sakupljeni, ambijentalnom nivou kadmijuma i polne strukture.
- divlji sisari i ptice pokazuju različitu otpornost prema biocidnim osobinama kadmijuma.

Koncentracije oralno unešenog kadmijuma koje izazivaju smrt pacova ili gvinejske svinje iznose od 150 - 250 mg/kg telesne mase, odnosno oko 200 mg/kg kod divljeg patka. Prateći subletalni efekti na sve životinje i ptice su, uglavnom, slični: usporenje rasta, anemija, oštećenja reproduktivnih organa. Treba imati u vidu da su ova ispitivanja rađena sa koncentracijama kadmijuma značajno većim u odnosu na maksimalno zabeležene vrednosti u morskim vodenim sredinama. Zapaženo je da migratorne ptice koje se hrane kukuruzom sa kultivisanih zemljišta, a posebno onih koja su tretirana sa kompostiranim muljem od komunalnog otpada, akumuliraju značajne količine kadmijuma.

2.5 Ekotoksikološki profil žive

Živa (Hg) se u životnoj sredini nalazi u tri glavna neorganska hemijska oblika: kao elementarna živa (Hg^0), neorganska živa u jednovalentnom stanju (Hg^+) i živine soli - merkurati (Hg^{2+}) kao i dve organske forme žive: metil-živa (CH_3-Hg) i dimetil-živa, $CH_3-Hg-CH_3$ (*Chambers i Holliday, 1975*). Jedinjenja žive spadaju u najtoksičnije neorganske hemijske forme, ali gore pomenuta 3 neorganska oblika žive imaju zajednički molekularni mehanizam delovanja, u kome je nosilac toksičnog svojstva Hg^{2+} jon. Elementarna živa u formi pare se, uglavnom, unosi u organizam preko respiratornog sistema, dok je unos elementarne žive putem ingestije ređi slučaj i relativno je škodljiv (*Eisler, 1987*). Preko 95% žive prisutne u atmosferi je u formi živa (II)-oksida (HgO). Ovo jedinjenje je uključeno u takozvani dugolinijski (globalni) transport žive. Zadržavanje žive u atmosferi je ispitano i procenjeno na oko 6 dana (*Andren i Nriagu, 1979*).

Od najvećeg ekološkog interesa je poznavanje mehanizma izlaganja čoveka i životinja organskim oblicima žive. Neorganska živa može preći u organski oblik delovanjem sulfito-redukujućih bakterija, čime nastaje metil-živa, visoko toksična forma žive koja veoma lako prolazi kroz ćelijske membrane živih organizama (*Ahmad i Qureshi, 1989; Akagi i sar., 1995*).

Najpoznatiji i najrizičniji organski oblik žive u prirodi je metil-živa, koja je veoma rastvorljiva, mobilna i brzo ulazi u vodene lance ishrane. Ovaj oblik žive se akumulira u tkivu u znatno većem obimu od živinih neorganskih oblika. Metil-živa je najtoksičniji oblik žive u životnoj sredini, usled visoke stabilnosti samog jedinjenja, rastvorljivosti u lipidima, električnih osobina samog jona koji lako penetrira kroz ćelijske membrane živih organizama (*ATSDR, 1999*).

Živa se u prirodi nalazi u sastavu minerala koji čine zemljinu koru i njena distribucija u životnoj sredini je veoma rasprostranjena usled prirodnih i antropogenih procesa. Prirodni bio-geochemijski ciklus žive je okarakterisan degazacijom žive u elementarnoj formi iz zemljišta i nadzemnih voda, potom atmosferskim transportom, ponovnom depozicijom žive u zemljište i površinske vode odnosno sorpcijom komponenti živinih jedinjenja ili njihovom razgradnjom. Živa koja je deponovana na površini zemljišta delimično ponovo isparava u atmosferu (*ATSDR, 1999*).

Na osnovu opisanog biogeochemijskog ciklusa žive izvodi se zaključak da je usled emisije, depozicije i naknadnog isparavanja veoma teško definisati jasnu putanju kretanja žive od njenih izvora emisije u životnoj sredini do mesta njene bioakumulacije u suvozemnim i vodenim ekosistemima. (*WHO, 1990, 1991*).

Atmosferska depozicija žive koja potiče iz prirodnih i antropogenih izvora je identifikovana kao indirektni izvor žive u površinskim vodama (*WHO, 1991*). Živa akumulirana u zemljištu može biti direktno isprana atmosferskim padavinama. Površinsko oticanje padavina je veoma važan mehanizam za transportovanje žive iz zemljišta do površinskih voda, a posebno iz zemljišta sa visokim sadržajem vlage (*Meilli, 1991*).

Prema *Ahmad-u i Qureshi-ju (1989)*, kod žive postoji tendencija da se inkorporira u zemljišta sa visokim sadržajem gvožđa (Fe) i aluminijuma (Al), do maksimalnog kapaciteta opterećenja od 15 g/kg (15 000 mg/kg).

Monoalkil-živina jedinjenja (npr. metil-živa-hlorid) su relativno dobro rastvorljiva, međutim rastvorljivost metil-žive opada sa povećanjem sadržaja rastvorenog ugljenika organskog porekla, što navodi na zaključak da se ona vezuje za organske materije prisutne u vodi (*Miskkimin, 1991*).

Prema *Gilmour-u i Henry-ju (1991)*, pojava žive u nadzemnim vodama je vezana za procese biotransformacije. Poznato je da su neorganski oblici žive koji

dospevaju u tekuće i stajaće vode podložni transformaciji preko bakterijske aktivnosti u oblik metil-žvinog jona čiji je nastanak favorizovan u prisustvu bakterija koje redukuju sumpor i koje su odgovorne za većinu procesa metilacije žvinih jedinjenja u prirodnoj sredini. Anaerobni uslovi favorizuju aktivnost ovih bakterija.

Veoma dobro je poznat mehanizam akumulacije žive u organizmima koji žive u vodenoj sredini kroz vodene lance ishrane. Međutim, iz obilja literature i podataka nije potpuno razjašnjen njen bioakumulativni potencijal u kopnenim lancima ishrane, mada se iz raspoloživih podataka izvlači zaključak da je on manji u odnosu na akvatične ekosisteme (*Lindqvist, 1991*).

Prilikom prikupljanja dodatnih podataka u vezi akumulacije žive u kopnenim lancima ishrane treba imati u vidu povezivanje žive sa organskom materijom u zemljištu i vodenim sedimentima. Takođe je od značaja i određivanje količine unešene žive u biljke preko listova i odgovor na pitanje da li biljke konvertuju elementarnu živu ili njen dvovalentni jon u druge oblike žvinih formi koje se efikasnije akumuliraju. Ovi odgovori su bitni za poboljšanje i bolje razumevanje faktora koji utiču na biotransfer žive iz zemljišta u biljke, a potom u životinje (*ATSDR, 1999*).

Što se tiče životinja, patološki i drugi negativni efekti koje izaziva ingestivni unos žive variraju od organa do organa, u zavisnosti od faktora kao što su kritična toksična doza u pojedinačnom organu, forma unešene žive i specifičnosti metabolizma u njemu, vreme trajanja kontinualnog izlaganja kao i uticaj drugih (konkurentnih) kontaminenata kojima je životinja eventualno izložena (*Chang, 1979*).

2.6 Ekotoksikološki profil olova

Osnovni putevi unosa olova (Pb) su inhalacija i ingestija olovne prašine i isparenja. Od posebnog značaja su emisije olova u atmosferu, koja je početni recipijent za veliki deo olova koje se oslobađa u životnu sredinu (*Teodorović i Mirjana Dimitrijević, 2011*).

Ingestija zemljišta, odnosno zelene mase, je glavni izvor ovog metala unešenog u organizam životinja. Ono se unosi kontaminiranom hranom i vodom, pogotovu kada se pašnjaci ili njive za proizvodnju drugih hraniva nalaze uz velike saobraćajnice i tranzitne puteve. Smatra se da pašnjaci moraju biti udaljeni minimalno 50 m vazdušne linije od saobraćajnica (*Teodorović i Mirjana Dimitrijević, 2011*).

U prošlosti su transportne aktivnosti u kojima su učestvovala motorna vozila bili glavni izvor emisije olova u vazduh. Veći deo antropogenih izvora olova je tokom godina eliminisan gašenjem industrije ili tehničko-tehnološkim zahvatima imajući u vidu perzistenciju olova, bioakumulativnu prirodu i toksičnost. Ovo se odnosi, pre svega, na eliminaciju olova iz motornih benzina, boja, pesticida, municije. U današnje vreme, industrijski procesi proizvodnje metala i baterija (akumulatora) su glavni izvori zagađenja. Olovo koje je oslobođeno u atmosferu dospeva u površinske vode, zemljište i sediment (*ATSDR, 2007*). Organo-olovne forme se transformišu u atmosferi fotodegradacijom pod uticajem sunčeve svetlosti (*De Jonghe i sar., 1981*). Organske forme olova dospеле u površinske vode se transformišu hidrolizom i fotolizom (*EPA, 1979*).

Prema *Eisler-u (1988)*, bioakumulacija olova dešava se u terestričnim (kopnenim) i vodenim biljkama i životinjama.

U oglecima sa pacovima uočeno je da deficit gvožđa povećava gastrointestinalnu absorpciju olova, usled vezivanja olova za proteine koji vezuju gvožđe u unutrašnjim organima i crevima (*Bannon i sar., 2003*). Mehanizmi kojima olovo ulazi u meka tkiva nisu u potpunosti okarakterisani (*Bressler i sar., 2005*). Studije toksikacijom olovom sprovedene na pacovima, psima i primatima su pokazale glavne negativne zdravstvene efekte na zdravlje životinja kao i one kod ljudi, a to su, pre svega, kardiovaskularne, hematološke, neuro i renalne disfunkcije (*EPA, 1986*).

2.7 Ekotoksikološki profil gvožđa

Gvožđe (Fe) je jedan od najrasprostranjenih elemenata u zemljinoj kori sa masenim udelom od oko 5%. Pojavljuje se uglavnom u oksidnim (magnetit, hematit i limonit), karbonatnim (siderit), silikatnim i sulfidnim rudama (*Filipović i Lipanović, 1986*). Kao esencijalni element je prisutan u najvećoj količini u većini bioloških sistema (*Goyer, 1996*).

Aeracijom slojeva zemljišta u kojima su prisutni minerali gvožđa može doći do oštećenja kvaliteta podzemnih i nadzemnih voda usled rastvaranja gvožđa u njima. Rastvaranje gvožđa je posledica oksidacije i opadanja pH vrednosti u zemljištu (*WHO, 1996*).

Akutno trovanje životinja gvožđem, kada je prisutan u ćelijama u velikim količinama, je dobro poznato. Oko 70% gvožđa kod sisara je pronađeno u hemoglobinu i miglobinu i to u formi fero (Fe^{2+}) jona (*Gupta, 2011*), dok je oko 25% gvožđa u trovalentnom stanju, u formi feri (Fe^{3+}) jona uskladišteno u hemosiderinu, feritinu i transferinu u jetri, slezini i koštanoj srži (*Hillman, 1995*).

Absorpcija gvožđa se obavlja intestinalno u mukozne ćelije. Fero-jon se bolje absorbuje u odnosu na feri jon iz razloga što se feri-jon istaloži iz rastvora čiji je pH oko 7 ili pri normalnim fiziološkim uslovima, ali obe forme mogu biti absorbovane ukoliko su jonizovane (*Ponka, 1990*).

Najveći deo gvožđa se absorbuje u duodenumu i jejunumu, ali kod životinja sa toksikozom gvožđa, ono se absorbuje u svim delovima intestinalnog trakta (*Goyer, 1996*). U jetri, gvožđe se absorbuje u Kupferovim ćelijama i hepatocitima (*Hillman, 1995*). Obzirom da ne postoji mehanizam za ekskreciju gvožđa, njegova toksičnost zavisi od postojeće količine gvožđa u telu (*Bergeron i sar., 2002*).

2.8 Ekotoksikološki profil cinka

Cink (Zn) i njegova jedinjenja u vazduh dospevaju, uglavnom, putem prenosa čestica zemljišta vetrom, iz vulkanskih emisija i požara. U zemljištu i travama, cink je često prisutan kao posledica atmosferske depozicije. Najvažniji izvori cinka u zemljištu su topionice, odlaganje jalovine od eksploatacije ruda i uglja, pepelišta i otpad komercijalnog porekla (đubriva). (*ATSDR, 2005a*).

Kao esencijalni element, cink se nalazi u tkivima organizama, čak i pri normalnim ambijentalnim koncentracijama u vodi i zemljištu i jedan je od najprisutnijih esencijalnih elemenata kod čoveka. Cink je široko rasprostranjen u svakodnevnoj ishrani, posebno u hrani animalnog porekla, a prisutan je i u biljnoj hrani u manjem obimu. Ispitivanja u mikrosredinama ukazuju da se cink, generalno, ne koncentruje u lancu ishrane (*Teodorović i Mirjana Dimitrijević, 2011*).

Cink je neophodan konstituent mnogih enzima koji učestvuju u dehidrogenaciji, razgradnji proteina i metabolizmu alkohola (*Đurić i Petrović, 1996*).

Obzirom na njegovu reaktivnu prirodu, ne pojavljuje se kao slobodan element u prirodi i nalazi se u sastavu stena (*Lloyd i Showak 1984*). U prirodi postoji oko 55 mineralnih formi cinka. U zemljinoj kori ga ima u iznosu od 20-200 mg/kg (*Goodwin, 1998*).

Depozicija cinka u zemljištu predstavlja najveći izvor njegovog prisustva u okolini. Da bi se dostigao maksimalni dnevni unos cinka od 3,3 - 3,8 mg potrebno je ingestijom uneti veću količinu kontaminirane zemlje (kroz ishranu) što, samo po sebi, znači da ne bi trebao postojati značajan zdravstveni rizik po organizam za slučaj ingestije. Mada živa priroda predstavlja mali izvor cinka, mikrobiološka dekompozicija u vodenoj sredini produkuje ligande, kao npr. humusna kiselina, čime se utiče na pojačanu mobilnost cinka u vodenim ekosistemima (*EPA, 1979*).

Vegetacija može akumulirati veće količine cinka ukoliko raste na kontaminiranom zemljištu (*Jones i sar., 1988*). U studijama *Fytianos-a i sar. (2001)* odnosno *Schuhmacher-a i sar. (1998)* nije pronađena značajnija korelacija između koncentracije cinka u zemljištu i biljkama.

Gvožđe i cink imaju hemijski sličnu absorpciju i transportni mehanizam u organizmu (*Sandström, 2001*). Novija istraživanja pokazala su da gvožđe može delovati inhibirajuće na absorpciju cinka u pojedinim ćelijama ukoliko postoji veliki odnos količine gvožđa prema količini cinka, ali ne i suprotno, odnosno cink ne utiče na absorpciju gvožđa (*Kordas i Stoltzfus, 2004*).

Ciljni organi i tkiva u kojima se cink registruje slični su kod čoveka i životinja, kao i njegovi toksični efekti (*ATSDR, 2005a*).

2.9 Ekotoksikološki profil bakra

U vazduhu, bakar se nalazi adsorbovan na česticama prisutnim u njemu. Njegova aerodepozicija na zemljištu se dešava gravitacionim padom težih čestica, suvom depozicijom i vlažnom depozicijom, kada se iz oblaka spira sa kišnim kapima (*Schroeder i sar., 1987*). Njegov transport na udaljenije distance je zavisn od veličine čestica, karakteristika izvora emisije, turbulentnosti strujanja i brzine vetra (*ATSDR, 2004*).

U zemljištu, bakar je prisutan usled aerodepozicije iz vazduha, usled primene njegovih preparata u poljoprivredi, odlaganja otpada i otpadnog mulja. Koncentracija bakra u zemljištu je najveća u površinskom sloju i to na dubini od 5 - 10 cm pedološkog profila, izuzev u peskovitom zemljištu gde se može naći i na većoj dubini (*Breslin, 1999*).

Bakar se čvrsto vezuje u zemljištima sa visokim sadržajem organske materije (14-34%) i njegovo raspodeljivanje je manje zavisno od promene uobičajene pH vrednosti zemljišta u životnoj sredini, što nije slučaj kod ostalih metala (*Gerritse i Van Driel 1984*). Bakar je esencijalni nutritivni element kod biljaka. Unos bakra u biljke iz zemljišta preko korenovog sistema predstavlja neophodan i prirodan proces regulisan i upravljn od strane biljnog organizma (*Clemens, 2001*). Količina unetog bakra u biljni organizam zavisna je od koncentracije bakra u samom zemljištu i njegove dostupnosti, odnosno forme. Dostupnost za biljku je povezana sa ravnotežnim stanjem između bakra vezanog za organske materije i njegovog sadržaja u zemljišnom rastvoru.

Drugi faktori, uključuju i razvijenost korenovog sistema biljke, genotip biljke, faza rasta biljke, vremenski uslovi, interakcija sa drugim nutritivnim elementima (ATSDR, 2004). Prisustvo krečnjaka manje utiče na unos bakra u biljku. Dokazano je da promene pH u rasponu 5,4-8,0 imaju mali uticaj na koncentraciju bakra u biljkama (Gupta, 1979).

Nije dokazano da postoji tendencija pojačane bioakumulacije, odnosno biokoncentracije bakra u tkivima deset ispitivanih sisarskih vrsta životinja koje su poticale iz rejona zagađenog teškim metalima i pesticidima u Donana nacionalnom parku u Španiji (Hernandez i sar., 1985). Životinjske vrste, u ovom istraživanju, su bile podeljene u tri grupe (herbivore, omnivore i karnivore) sa ciljem da se ustanovi da li dolazi do biokoncentracije bakra u tkivima ispitivanih životinja na višim trofičkim nivoima i došlo se do zaključka da nema uvećanja. U radu Dreslera i sar. (1986) prikazan je sadržaj teških metala u američkom zecu koji je poticao sa zemljišta na kome je obavljena površinska eksploatacija rude i koje je bilo tretirano otpadnim muljem u kome je sadržaj bakra bio do 130% viši u odnosu na kontrolnu grupu. Nije registrovano značajno uvećanje sadržaja bakra u ispitivanim tkivima zeca (mišićno tkivo, butna kost, bubreg ili jetra). Zaključeno je da se bioakumulacija bakra ne odvija u lancu ishrane američkog zeca.

Toksičnost bakra procenjena je u brojnim eksperimentalnim studijama i brojnim životinjskim vrstama. Generalni zaključak je da je osetljivost prema toksičnom dejstvu bakra veoma zavisna od životinjske vrste i konstatovano je da su preživari osetljiviji od nepreživara (ATSDR, 2004).

Ispitivanjem koncentracije bakra (mg/kg) u jestivim tkivima životinja za klanje i živine utvrđene su najviše srednje koncentracije (mg/kg) u jetri goveda (43,7); jagnjadi (89,8); brojlera (4,60); ćurki (7,14), potom u bubrezima goveda (1,41); jagnjadi (1,47); brojlera (0,67); ćuraka (0,83). Bakar spada u mikroelemente neophodne za pravilno odvijanje metabolizma u organizmima ljudi i životinja (Teodorović i Mirjana Dimitrijević, 2011).

2.10 Ekotoksikološki profil mangana

Mangan je prisutan u prirodi, a izloženost ljudi i životinja ovom elementu je moguća usled njenog prirodnog prisustva ili usled antropogene aktivnosti. Mangan je sastojak preko 100 minerala u formama sulfida, oksida, karbonata, silikata, fosfata i borata (NAS 1973), a njegovo prisustvo u zemljištu je na nivou od 40 do 900 mg/kg, sa procenjenom srednjom koncentracijom od 330 mg/kg (Barceloux, 1999).

Akumulacija mangana u zemljištu se, obično, dešava u donjim slojevima zemljišta dok se na površini zemljišta uglavnom ne dešava. Između 60-90% mangana je pronađeno u peščanim frakcijama zemljišta (WHO, 1981).

U životnu sredinu dolazi usled industrijskih emisija, sagoravanja fosilnih goriva i erozije zemljišta sa povišenim sadržajem mangana u sebi. Vulkanske erupcije, takođe, doprinose pojavi mangana u vazduhu. Skoro 80% emisije mangana u vazduh potiče od industrijske proizvodnje gvožđa i čelika (EPA, 2003). Prema istom literaturnom izvoru, elektrane i proizvodnja koksa doprinose sa ostalih 20% od ukupne emisije u vazduh (EPA, 2003). Mangan se može naći u životnoj sredini kao rezultat korišćenja organskog jedinjenja mangana pod nazivom metilciklopentadien-mangan-trikarbonil (MMT), koji se koristi kao aditiv u motornim benzinima kao zamena za tetra-etil-olovo, sa ciljem poboljšanja efikasnosti sagorevanja (ATSDR, 2012). Ispitivanja na pacovima koji su izlagani visokim koncentracijama izduvnih gasova iz automobila su pokazala prisustvo nižih manganovih jedinjenja koja nastaju raspadanjem MMT-a pri sagorevanju.

Mangan se unosi u organizam inhalacijom ili oralno, dok dermalna izloženost nije od značaja (ATSDR, 2012).

Uporedni sadržaj mangana u jetri i bubrezima čoveka, pacova i kunića dat je u tabeli 2.

Tabela 2. Poređenje koncentracije mangana u jetri i bubrezima ljudi, pacova i zečeva (ATSDR, 2012)

Organ	Koncentracija mangana (mg/kg)			
	ljudi	pacovi	kunić	
Bubreg	0,93	0,56	0,9-1,0	1,2
Jetra	1,68	1,20	2,6-2,9	2,1

Dorman i sar. (2005) su istraživali sadržaj mangana u različitim organima pacova koji su bili izloženi delovanju aerosola mangan-sulfata u toku 6 časova dnevno u trajanju od 1 dana, 7 dana, 14 dana i dobili su vrednosti koje su se kretale između 3,21 i 4,28 mg/kg. U ovom radu je obavljeno poređenje koncentracije mangana između tkiva i formiran je sledeći redosled (opadajuća koncentracija sa leva na desno u nizu): jetra >pankreas>pluća>mleko>mali mozak. Druge toksokološke studije na životinjama su pokazale da prolongiran period izlaganja manganovim jedinjenjima rezultuje u povećanom nivou mangana na početku, dok nivo mangana u jetri i bubregu opada u toku perioda izlaganja (Kristensson i sar., 1986; Rehnberg i sar., 1982). Ovi rezultati su protumačeni homeostatskim mehanizmom koji ide od smanjene absorpcije kroz povećanu ekskreciju mangana kada njegov unos postane prevelik.

2.11 Ekotoksikološki profil hroma

Hrom se u prirodi može naći u mineralima, zemljištu, vulkanskoj prašini i gasovima, kao i biljkama i tkivima životinja. U tkivima životinja se pojavljuje kao oligoelemenat. Hrom se koristi u proizvodnji boja, pri štavljenju kože, za zaštitu drveta, izradu eksploziva, u grafičkoj industriji, za hromiranje metala itd. (Teodorović i Mirjana Dimitrijević, 2011).

Hrom se oslobađa u atmosferu, najčešće, kao posledica antropogene aktivnosti koja su direktna izvorišta hroma, uključujući industrijske i komercijalne aktivnosti, sagorevanje goriva za rezidencijalno grejanje, kao što su prirodni gas, lož ulje, ugallj (ATSDR, 2008). Smatra se da oko jedne trećine oslobođenog hroma u atmosferu čini šestovalentni hrom dok drugi potencijalni izvor predstavljaju cementare i spaljivanje komunalnog otpada (Johansson i sar., 1981, 1988).

U biljkama koje se mogu koristiti za ishranu domaćih i divljih životinja veće koncentracije hroma su registrovane u slučajevima kada su one uzgajane na zemljištima koje su sadržavale velike količine hroma (npr. zemljišta u blizini postrojenja koje emituju hrom ili zemljišta natopljena otpadnim muljem) u odnosu na one koje su uzgajane na nezagađenom zemljištu. Većina unešenog hroma od strane biljaka se zadržava u korenovom sistemu, dok je manja količina transportovana u nadzemne delove ovih biljaka (Cary, 1982; Petruzzelli i sar., 1987; WHO 1998; ATSDR, 2008). Takođe, Cary (1982) konstatuje da nema indikacija da je moguća biomagnifikacija hroma kroz kopnene lance ishrane (zemljište-biljka-životinja).

Toksokinetika hroma i njegovih jedinjenja je zavisna od valentnog stanja hromovog atoma i prirode njegovih liganada. U prirodi hrom se, uglavnom, nalazi u trovalentnom stanju (Cr^{3+}) dok je šestovalentni hrom (Cr^{6+}) prisutan u okruženju kao rezultat industrijske aktivnosti i oksidacije prisutnog trovalentnog hroma (ATSDR, 2008).

Toksikološke studije koje su sprovedene na zečevima identifikovale su respiratorni sistem kao glavni cilj delovanja šestovalentnog i trovalentnog hroma, ali i druge morofloške promene organa, na koje povišene, laboratorijski administrirane doze hroma imaju uticaj (Mathur i sar., 1977; Banks, 1986; El-Tawil i sar., 2000). Podaci o sadržaju hroma iz životne sredine u tkivu divljege zeca su veoma limitirani.

2.12 Ekotoksikološki profil nikla

U prirodi se nalazi u mineralima u obliku sulfida i oksida. Koristi se u proizvodnji legura metala, metalnog novca, baterija, za galvanizaciju metala, bojenje keramike i kao katalizator u hemijskim reakcijama. U organizmima ljudi i životinja može se normalno naći u malim količinama, gde ima katalitičku ulogu. Životinje nikl unose vazduhom kao i kontaminiranom hranom i vodom (*Teodorović i Mirjana Dimitrijević, 2011*).

Ciljno tkivo, bazirano na podacima o ljudima i životinjama, su pluća, odnosno ona su identifikovana kao kritični organ za toksično delovanje nikla. Dalji razvoj ovog modela treba da omogući predviđanje za procenu opterećenja pluća inhalacijom nikla iz spoljne sredine (*ATSDR, 2005b*).

Koncentracije nikla u nezagađenoj atmosferi i površinskim vodama su veoma niske i bliske limitima detekcije sadašnjih analitičkih metoda. Takođe je dokazano da analitički određene količine nikla ne odražavaju stvarnu količinu, obzirom na smetnje u analitičkom određivanju (*ATSDR, 2005b*).

Nikl je jako adsorbovan od strane zemljišta, ali u manjem stepenu u odnosu na olovo, bakar i cink (*ATSDR, 2005b*). Izloženost niklu je ispitivana procenom podataka o koncentraciji nikla dobijenim iz kose (*Bencko i sar., 1986*). Ova analiza ukazuje na „istorijsku izloženost niklu“ do tog trenutka, ali se ne odnosi na stanje usled trenutne izloženosti niklu.

Korelacija između izloženosti niklu i koncentracije u kosi nije pronađena. Ispitivani su i mehanizmi respiratornih efekata po pluća zečeva koji su izlagani metalnom niklu i nikel-hloridu kada su konstatovana oštećenja alveola pluća zečeva (*Johansson i sar., 1981, 1988; Johansson i Camner, 1986*).

2.13 Biomonitoring teških metala

Efikasno upravljanje životnom sredinom zahteva poznavanje načina transporta, mehanizama i puteva transformacije kontaminanata u prirodnim ekosistemima. *Connell i Miller (1984)* tvrde da zadaci monitoringa okoline mogu biti sagledani fokusiranjem na dva aspekta:

- Monitoring zagađivača u različitim delovima životne sredine (faktor monitoring);
- Monitoring efekata zagađivača na ekosisteme i pripadajuće populacije koje ga naseljavaju (ciljni monitoring).

Faktor monitoring, generalno, uključuje hemijska i fizička merenja, dok je ciljni monitoring u vezi sa odgovorom bioloških sistema. Biolozi i toksikolozi su sasvim prirodno, principijelno zainteresovani za ovaj drugi aspekt monitoringa životne sredine.

Postoje mnogi razlozi za sprovođenje biološkog monitoringa. *Munn (1973)* je uvideo da se monitoringom životne sredine postiže:

- povećanje ukupnog fonda znanja o promenama u prirodi i promena usled antropogenog delovanja;
- poboljšanje razumevanja dinamičkog balansa u ekosistemima;
- obezbeđivanje ranog upozoravanja na promene u životnoj sredini;
- provera efikasnosti ustanovljenih regulatornih mehanizama.

Wren (1986a) ovoj listi dodaje još dva aspekta monitoringa teških metala preuzetih od *Jenkins-a (1980)* i to:

1. definisanje kritičnih puteva zagađivača od vode, vazduha i hrane ka čoveku;
2. integrisanje biološke izloženosti toksičnim elementima (teškim metalima) sa fizičkim i hemijskim merenjima u životnoj sredini.

Kada se govori o monitoringu, treba uvek imati na umu činjenice da su svi pobrojani zadaci biomonitoringa metala i drugih zagađivača, kao i postojeći monitoring programi, ustanovljeni sa ciljem da identifikuju potencijalne opasnosti po ljudsko zdravlje. Podaci dobijeni iz monitoringa služe kao osnova za procenu zdravstvenih rizika po čoveka. Ipak bez obzira na ovo saznanje mnogi istraživači su skloni da se dosta bave i uticajem teških metala na prirodne ekosisteme i populacije koje ih nastanjuju (divljač, ptice i drugi organizmi).

Koncept biomonitoringa metala, prema *Wren-u (1986a)* je pojednostavljen i sastoji se iz dva osnovna metoda:

- Merenje akumulacije ili koncentracije toksičnih metala u odabranim organizmima - bioindikatorima metala.
- Merenje stvarnih efekata koje toksični elementi imaju na individualne organizme ili njihove populacije.

Mnogi faktori utiču na dostupnost teških metala vrstama, sa različitim karakteristikama i osobenostima u životnoj sredini. Faktor domaćin, odnosno jedinka neke vrste koja akumulira teške metale u svom organizmu - tkivu, svakako je najvažniji. Razumevanje faktora domaćina i mehanizama kao i metodologije njihove procene predstavljaju osnovu za uspostavljanje biomonitoring planova, njihovo sprovođenje, identifikaciju rizika, procenu izloženosti i na kraju, upravljanje rizikom i uspostavljanje komunikacije.

2.14 Izloženost divljači teškim metalima

Definisanje puteva kojima su divlje životinje izložene teškim metalima ima veliki značaj i često može biti komplikovano, usled varijacija u zavisnosti od životinjske vrste i tipa metala. Uvreženo je mišljenje da je glavni put unosa teških metala kroz ishranu, a znatno manja kroz direktan unos zemljišta čistom slučajnošću. Postoje određene situacije kada se izvesne hemikalije, u širem smislu reči (one koje sadrže teške metale u određenoj formi) mogu biti inhalirane ili unešene dermalnim putem, ali većina tih situacija je vrlo malo verovatna i nije od značaja za ukupnu bioakumuliranu količinu metala (*US EPA, 2003*).

U anglo-saksonskoj literaturi, kada se razmatraju ekološki rizici, mehanizmi unosa i procena unešenih količina teških metala u organizme divljih životinja, biljaka i čoveka, pominju se tri termina, odnosno svojstva kojima se objašnjava unos teških metala iz okoline i to: bioraspoloživost (bioavailability), biodostupnost (bioaccessibility) i bioakumulacija (bioaccumulation). Ova tri termina, generalno, se koriste u opisivanju fenomena vezanih za unos. Bioraspoloživost je uslovljena razlikama u digestivnoj fiziologiji i anatomiji različitih vrsta sisara i ptica, tako da je od bitnog uticaja na asimilaciju i unos metala. Raspoloživost metala preko biljne ishrane je više ili manje omogućena herbivornim vrstama (fermentacija), u poređenju sa digestivnim traktom karnivora koji razgrađuju proteine. Takođe razlika postoji i u hemizmu (uključujući pH) i vremenu zadržavanja (*McGeer i sar., 2004*). Biodostupnost metala za biljke i životinje je diktirana parametrima zemljišta kao što su pH vrednost, kapacitet katjonske izmene (CEC- Cation Exchange Capacity) i sadržaj organskog ugljenika.

Sezonske razlike u sadržaju metala u pojedinoj vrsti divljači mogu nastati kao posledica promene ishrane, ili same kompozicije hrane. Mineralni sastav velikog broja biljaka i trave može varirati u odnosu na godišnje doba odnosno lokaciju i može uticati na mineralni balans kod životinja koje se većinski hrane ispašom. U radu *Franzman-a i sar., (1975)* pokazano je da je sastav dlake losa dobar pokazatelj pojačanog prisustva određenog broja teških metala u okolini. Količine kalcijuma, kalijuma, magnezijuma, natrijuma, bakra, cinka, kadmijuma i olova su bile najviše u kasno leto i jesen. Najveći sadržaj žive u divljači je registrovan u dlaci, dok unutar mekih tkiva najveći sadržaj je zabeležen u jetri, zatim bubrezima i najmanje u mišićnom tkivu i mozgu (*Wren, 1986b*).

Prema *Wren-u (1986a)* uticaj pola i starosti na unos različitih metala i njihovo zadržavanje u divljači nije potpuno rasvetljeno. Jedino sadržaj kadmijuma pokazuje konzistentan porast sa starošću divljih sisara (jeleni, srndaći, veverice, antilope i losovi). Prema istom autoru, određena tkiva (jetra i bubrezi) predstavljaju ciljane organe za monitoring metala u divljači, jer je koncentracija olova, žive i arsena značajno veća u odnosu na ostala tkiva.

Sadržaj žive u različitim tkivima u okviru iste vrste divljači, često je u visokoj korelaciji. Bubrež predstavlja ciljni organ za kadmijum, dok se olovo primarno deponuje u koštanom tkivu. Ovo je veoma značajno, obzirom da se nivoi metala mogu porediti samo u okviru istog tkiva.

Geografski gledano, akumulacija teških metala je zavisna i od tipa staništa i blizine zagađivača (*Landis i Wieggers, 1997*). Takođe, u zavisnosti od životinjske vrste koja je korišćena, količina izmerenih metala u bubrezima u odnosu na jetru (renalno/hepatični odnos) varira. Ova pojava nije u potpunosti razjašnjena, a može biti povezivana i sa zdravstvenim statusom životinja (*Wolkers i sar., 1994*). Metali se u herbivorne životinje unose kroz ishranu biljnom hranom i akumuliraju u unutrašnjim organima. Raspoloživost teških metala, naročito kadmijuma za biljke je uslovljena sa više faktora, kao što su na primer geohemijsko poreklo, koncentracija metala u zemljištu, odnosno fizička i hemijska svojstva zemljišta (*Danielson i Frank, 2009*).

Prilikom procenjivanja unosa teških metala u tkivo divljači sa područja iz kojih nema dostupnih informacija o zemljištu, za procenu i poređenje izmerenih koncentracija u tkivu treba imati na umu i činjenicu da mnoge biljne vrste (izuzimajući određene metal hiperakumulatorske vrste) ne koncentrišu u sebe metale u značajnijoj količini (*Efroymsen i sar., 2004; Fairbrother, 2007*).

Primera radi biljke ne unose olovo, hrom i kobalt u merljivim količinama. Određena mala količina ovih metala je prisutna u korenovom sistemu biljke (*Xu i Thornton, 1985; Chaney i Ryan, 1994; Chaney i sar., 2000*). Senzitivnost biljaka u odnosu na druge metale (Mn, Zn, Cu, na primer) može biti znatno povećana, odnosno unos većih količina ovih metala u biljke može dovesti do njihove smrti pre nego što njihova koncentracija u njima postaje rizik po herbivorne vrste koje se njima hrane (*McGrath, 1995*).

Ono što je važno pomenuti kada se razmatra unos teških metala u tkivo kopnenih sisara su esencijalna svojstva metala i njihovo istovremeno prisustvo i delovanje u organizmu.

Calamari i Alabaster (1980) su posmatrali interakcije između metala na tri nivoa i to: hemijske interakcije sa drugim konstituentima u medijumu, interakcije sa fiziološkim procesima u organizmu i interakcijama na mestu gde se toksično delovanje odvija. Oni konstatuju da zajedničko delovanje više metala istovremeno, može biti izraženo na različite načine, kao na primer kroz povećanje ili smanjenje toksičnosti u odnosu na očekivane toksične efekte.

Predviđanje toksičnih efekata združenog delovanja metala u biološkom matriksu predstavlja izazov za modernu ekotoksikologiju.

Esencijalnost metala, odnosno potreba organizma za normalnu metaboličku funkciju za određenim metalom (esencijalni elementi) je vrlo bitan faktor u razmatranju i tumačenju procene rizika po divljač u odnosu na sintetičke organske hemikalije (*Janssen i Muysen, 2001*).

Određeni elementi, prisutni u tkivu, kao na primer kobalt (Co), bakar (Cu), gvožđe (Fe), mangan (Mn), selen (Se), molibden (Mo) i cink (Zn) su neophodni za normalan razvoj biljaka i životinja. Drugi elementi, kao što su arsen (As), kadmijum (Cd), olovo (Pb) i živa (Hg), nemaju poznatu fiziološku funkciju, osim njihovih toksičnih efekata (*Mertz, 1981*).

Prilikom tumačenja unešenih količina metala u ciljna tkiva treba imati u vidu da su određeni metali u vezi sa deficitom drugih. Na primer, povećane količine cinka, bakra i nikla koje izazivaju toksične efekte, neposredno su povezane sa deficitom gvožđa (*Bingham i sar., 1986*). Povećani nivoi akumuliranog olova i cinka mogu biti u vezi sa deficitom fosfora (P), (*Laperche i sar., 1997; Brown i sar., 2000*). Osobine biljnih vrsta koje služe kao hrana divljim životinjama, u odsustvu esencijalnih elemenata za njihov razvoj, utiču na unos elemenata, odnosno moguće je uočiti brojne interakcije između različitih metala u tkivima životinja u smislu rasta jednih i opadanja drugih (*Marschner, 1998*).

U naučnoj praksi se poređenje toksikoloških podataka iz laboratorijskih testova sa pacovima, miševima, kunićima ili domaćim životinjama (stoka, ovce, koze) kojima su administrirane rastvorljive soli metala se koriste za procenu rizika koje različiti metali imaju na divlje životinje (*Suter, 1993*).

Laboratorijske i domaće životinjske vrste mogu biti, manje ili više, osetljive na hemikalije od pojedinih vrsta divljači. Toksikološki odgovori se razlikuju, zbog različitih fizioloških faktora na koje utiču toksokinetika (apsorpcija, distribucija i eliminacija) i toksodinamika (relativna aktivnost u biološkom sistemu) unešenih metala nakon izloženosti u okolini. Sposobnost određenih vrsta da brže proizvode zaštitne proteine kao što je npr. metalotionin (MT) utiču u krajnjem ishodu na ekstrapolaciju ovih rezultata iz laboratorije na divljač koja živi u prirodnim uslovima (*Sample i sar., 1997*).

Generalno gledano, suštinski, istaknuti biološki faktori koji utiču na unos teških metala i njihovu količinu u divljači su pol, starost, vrsta, ciljno tkivo, način ishrane i sezonske varijacije kod prikupljanja uzoraka. Neki od ovih faktora su u uzajamnom odnosu. Razlike u količini metala koje akumuliraju pojedine vrste mogu biti izazvane, pre svega, prirodom ishrane i razlikama u metabolizmu (*Kleiminger i Holm, 1985*).

2.15 Biomonitoring teških metala preko tkiva kopnenih sisara

U novije vreme zainteresovanost za biološke efekte koje izazivaju teški metali je pojačana, kako zbog njihovog intenzivnijeg ispuštanja u životnu sredinu, tako i karcinogenih efekata koje poseduju, što je naročito izraženo u industrijskim oblastima. Uticaj ovih elemenata na zdravlje ljudi je obimno izučavan od Svetske zdravstvene organizacije (WHO - World Health Organisation), (*Jarup, 2003*). U biohemijским i biomedicinskim istraživanjima, koncentracije mikroelemenata prisutnih u organizmu, esencijalnih za normalni metabolizam u biljnom i životinjskom tkivu, su uobičajeno na jako niskom nivou, manjem od 0,01% (*Sparks, 2005*). Kao ilustracija pažnje koja se posvećuje praćenju stanja u pogledu toksičnih elemenata može poslužiti lista najvišeg prioriteta (*CERCLA, 2011*), Nacionalne agencije za toksične supstance i registre bolesti u SAD (CERCLA - Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act). Na najnovoj listi za 2011., od ukupno obuhvaćenih 275 najprisutnijih organskih i neorganskih štetnih supstanci u životnoj sredini - arsen, olovo, živa i kadmijum zauzimaju 1., 2., 3. i 7. mesto, respektivno.

Veliki broj zagađivača životne sredine se akumulira u organizmima životinja, između ostalih i globalno prisutni toksični metali poput olova, kadmijuma, žive, arsena kao i radionuklidi. Sa tim u vezi, divlji sisari mogu biti pogodni biološki monitori za različite zagađivače prisutne u okolini, uključujući teške metale (*Wren, 1986a*). Rezultati istraživanja, saopšteni od strane *Sharma i Shupe (1977)* su pokazali da se akumulacija kadmijuma u tkivu divljih životinja odvija u uslovima njegovog pojačanog prisustva u životnoj sredini. Kadmijum i cink su elementi koji imaju slično geohemijsko ponašanje u životnoj sredini (*Adriano, 2001*). Kontaminacija kadmijumom u zemljištu je u direktnoj vezi sa rizicima za bezbednost hrane vrsta koje žive na njemu kao i na sam kvalitet zemljišta (*Atafar, 2010*).

Teški metali, naročito oni iz grupe toksičnih, u koju spadaju kadmijum, olovo i živa, prisutni u okolini, akumuliraju se u organizmu divljih životinja svaki put kada su unešeni i duže ostaju deponovani u tkivu nego što traje njihova ekskrecija ili metabolitički proces (*Pascoe i sar., 1994*).

Intenzifikacija poljoprivredne proizvodnje, sama po sebi, podrazumeva pojačano korišćenje agrohemijских sredstava i mera biljne zaštite što u konačnom ishodu utiče na promene u staništima, kao što je na primer redukcija biodiverziteta (*Smith i sar., 2005*). Upotreba fosfatnih đubriva utiče na povećanje koncentracije kadmijuma, olova, nikla i hroma u zemljištu (*Charter i sar., 1993; Mortvedt, 1996*).

Kadmijum, unet preko fosfatnih đubriva, predstavlja potencijalni rizik za kvalitet zemljišta i posredno kroz lanac ishrane (akumulacija u biljkama) postaje biološki dostupan izvor za herbivorne vrste. Prema *Danielson-u i Frank-u (2008)* količina kadmijuma akumulirana u organima životinja reflektuje njegovo prisustvo u životnoj sredini. Prema ovim autorima, bioakumulacija kadmijuma je zavisna od vrste, starosti, pola ili drugih individualnih svojstava životinja koji mogu uticati na njegov unos (npr. metabolizam, uslovi življenja i ponašanje u staništu).

Izbor pojedine životinjske vrste, koja bi mogla biti predmet istraživanja u biomonitoringu je uslovljen njenom raspoloživošću, odnosno dostupnošću u određenoj geografskoj oblasti od interesa za monitoring, zadacima istraživanja i potrebe za praćenjem određenih prioriternih hemijskih zagađivača.

Optimalno, istraživanja u oblasti biološkog monitoringa teških metala preko kopnenih sisara, odnosno njihovog tkiva bi trebalo da obuhvate korišćenje raspoloživih informacija iz drugih komplementarnih istraživanja iz životne sredine ili kroz simultano sakupljanje drugih podataka o zagađenosti okoline (voda, vazduh, zemljište, biljni svet). Brojni su naučni radovi iz oblasti ekotoksikologije koji se bave akumulacijom teških metala u tkivu herbivornih vrsta (*Holm, 1984; Froslie i sar., 1984, 1987; Sileo i Beyer, 1985; Bukovjan, 1991; Santiago i sar., 1998; Medvedev, 1999; Kalas i sar., 2000; Lazarus, 2005, 2008; Pedersen i Lierhagen, 2006; Reglero i sar., 2008; Danielson i Frank., 2009; Bilandžić i sar., 2010; Hermoso i sar., 2011; Berzas i sar., 2012*).

Korišćenje omnivora i karnivora je ograničeno činjenicom da je kompozicija njihove ishrane veoma varijabilna i uslovljena takozvanim efektom kumulativnog delovanja kroz lanac ishrane (*Tataruch i Kierdorf, 2003*).

Toksičnost teških metala na divljač koja je u staništu izložena njihovom prisustvu, generalno slabo razjašnjena i veoma retko kvantifikovana u realnim, prirodnim uslovima u kojima divlje životinje provode svoj životni vek (*Beyer, 1986*). Biljke, koje čine osnovu ishrane herbivornih vrsta, kao što je divlji zec, putem atmosferske depozicije primarno vezuju teške metale iz vazduha preko lisne površine, u hrpave, kutikularne zone biljaka.

Ova pojava može ukazivati na putanju izloženosti raznih vrsta životinja aerodeponovanim elementima. Iz ovoga bi se mogao izvući zaključak da divlji zec unosi u organizam teške metale iz okoline najvećim delom kroz ishranu, odnosno kroz incidentni unos ingestijom zemljišta. Ispitivanjem želudačnog sadržaja divljeg zeca iz ravničarske Mađarske, *Katona i sar., (2010)* su pronašli 24 različite biljne vrste, ali dominantne biljke su bile pšenica (*Triticum aestivum*) i manjoj količini lucerka (*Medicago sp.*). Drugi zaključak je bio da oko 50% stomačnog sadržaja otpada na jednu do tri biljne vrste, čime su indikovane individualne i teritorijalne varijacije u ishrani divljeg zeca.

U određenim slučajevima, nivoi koncentracija teških metala u tkivu životinje ne reflektuju, na pravi način, njihovu izloženost u ambijentalnim uslovima, uglavnom usled homeostatske regulacije koncentracije unešenog metala koje tkivo obavlja unutar organizma, kao i zbog različite mobilnosti između teških metala kroz životnu sredinu (*Wren, 1986a; Swiergosz i sar., 1993; Peijnenburg i Jager, 2003; Fairbrother, 2007*).

Količina metala u okolini kao posledica antropogene aktivnosti je povećana od početka industrijske revolucije, ali su javni interes i briga u vezi sa posledicama koje teški metali imaju po zdravlje ljudi i životinja višestruko povećane u poslednjim dekadama.

2.16 Sadržaj teških metala u tkivu zastupljenijih vrsta divljih kopnenih sisara sa teritorije Evrope i Severne Amerike

Sadržaj teških metala u tkivu životinja je obično veći od vrednosti ovih metala izmerenih u fizičkoj sredini (voda, vazduh). Teški metali se akumuliraju u telu životinje, u koje dospevaju preko kože, respiratornih organa i digestivnog trakta.

Nemački autor *Holm (1984)* je analizirao podatke dobijene iz monitoringa teških metala sa područja regiona Donje Saksonije, Nemačka, u kome su dati rezultati ispitivanja toksičnih metala (olovo, kadmijum, živa i arsen) u bubregu, jetri i muskulaturi divljih zečeva, srndaća, jelena i divljih svinja, pri čemu je bio obuhvaćen veliki broj mernih vrednosti. Ustanovljeno je da su srndaći najmanje kontaminirani olovom. Crveni jelen, divlja svinja i zečevi sadržavali su uvećane koncentracije ovog metala po nabrojanom redosledu. Crveni jelen je pokazao najmanju kontaminaciju kadmijumom, dok je povećana depozicija ovog metala registrovana u srndaćima, divljim svinjama i zečevima, respektivno, kako u malo zagađenoj, srednje zagađenoj i teško zagađenoj okolini. Najmanji stepen zagađenja živom je registrovan u crvenom jelenu i raste, respektivno u srndaćima, zečevima i divljoj svinji. Arsen je bio jednako raspoređen između svih vrsta i nije bilo bitnih razlika između tkiva .

Sadržaj olova je kod gotovo svih životinja u muskulaturi iznosio oko 0,030mg/kg. Srednje vrednosti za bubreg i jetru srndaća u pogledu sadržaja olova bile su oko 0,1 mg/kg, odnosno 0,5 mg/kg do 0,7 mg/kg u bubregu i jetri divljeg zeca. Srednja vrednost detektovanog sadržaja kadmijuma u muskulaturi sve četiri vrste divljači iznosila je od 0,01 mg/kg do 0,02 mg/kg. Maksimalne izmerene vrednosti kadmijuma, žive i arsena u bubrezima, jetri i muskulaturi srndaća sa pojedinih lokacija date su u tabeli 3. Podaci o sadržaju žive u tkivima divljih svinja iz Poljske je prikazan u tabeli 4 .

Objašnjenje za povećani sadržaj žive u bubrezima divlje svinje u odnosu na crvenog jelena leži u načinu ishrane i strukturi digestivnog trakta u kome se obavlja demetilacija žive uz pomoć bakterija i uz nastanak metana i etana usled biotransformacije metil i etil žive (*Wolkers i sar., 1994*). Glavni način eliminacije žive (90% unete količine) iz tela preživara je ekskrecija preko fecesa. Glavnu hranu divljim svinjama čine: trava, šumska vegetacija, lišće, šumske i livadske bobice, gljive, žir i mali sisari (pacovi i sl.). Dodatna ishrana divljih svinja je uglavnom sačinjena od raznih žitarica (kukuruz, zrnevlje pšenice) i krompira, uglavnom sa fertilisanih poljoprivrednih zemljišta (veći sadržaj žive je karakterističan za fosfatna đubriva). Divlja svinja najveći deo svoje ishrane zasniva na pronalaženju hrane na površini zemljišta ili u samom zemljištu.

Tabela 3. Sadržaj teških metala (mg/kg) u tkivima srndaća, crvenog jelena i divljih svinja iz Nemačke - 5 lokacija, Donja Saksonija, Nemačka (*Holm, 1984*)

METAL	TKIVO	SRNDAĆ	CRVENI JELEN	DIVLJA SVINJA
		Interval nalaza mg/kg	Interval nalaza mg/kg	Interval nalaza mg/kg
Cd	bubreg	2,39 - 4,46	0,84 - 3,90	2,16 - 9,25
	jetra	0,331 - 0,539	0,087 - 0,458	0,359 - 1,68
	mišić	0,014 - 0,039	0,006 - 0,194	0,013 - 0,098
Hg	bubreg	0,169 - 0,857	0,034 - 2,210	0,309 - 16,8
	jetra	0,010 - 0,085	0,008 - 0,016	0,006 - 0,388
	mišić	0,001 - 0,006	0,001	0,006 - 0,058
As	bubreg	0,008 - 0,014	0,009 - 0,017	0,010 - 0,029
	jetra	0,006 - 0,013	0,006 - 0,010	0,008 - 0,014
	mišić	0,001 - 0,006	0,005 - 0,009	0,008 - 0,014

Ono što je uočeno u ovom radu jesu rezultati teških metala u bubrezima i jetri divljih zečeva, posebno kadmijuma, žive i olova. Vrednosti kadmijuma u bubrezima iznosile od 0,95 mg/kg do čak 60,3 mg/kg, žive 0,167 mg/kg do 1,710 mg/kg, a olova 0,47 mg/kg do 4,35 mg/kg. Izmerene vrednosti olova u jetri divljih zečeva, prema istom autoru, kretale su se u zavisnosti od lokacije u intervalu od 0,71 mg/kg do 5,82 mg/kg.

Tabela 4. Sadržaj žive u jetri i bubrezima divljih svinja iz nezagađenih oblasti u Poljskoj (*Dobrowolska i Melosik, 2002*)

STAROST	POL	SADRŽAJ ŽIVE (mg/kg)	
		JETRA	BUBREZI
3-4 godine	muški	0,022	0,087
18-22 meseca	muški	0,059	0,108
18-22 meseca	muški	0,043	0,136
18-22 meseca	muški	0,039	0,069
18-22 meseca	muški	0,027	0,074
7-11 meseci	muški	0,023	0,040
7-11 meseci	muški	0,018	0,103
7-11 meseci	muški	0,038	0,080
7-11 meseci	muški	0,044	0,084
7-11 meseci	ženski	0,061	0,150
7-11 meseci	muški	0,027	0,094
7-11 meseci	ženski	0,015	0,082
7-11 meseci	ženski	0,061	0,107

Holandski naučnici (*Wolkers i sar., 1994*) su istraživali sadržaj kadmijuma i olova u jetri i bubrezima nasumično odstreljenih crvenih jelena (50 životinja) i divljih svinja (118 životinja) iz prirodnog rezervata „ De Veluwe“ u centralnoj Holandiji. Ustanovljeno je da su kod farmski gajene divljači ove vrednosti niže nego kod slobodno živeće divljači. Koncentracije kadmijuma i olova u bubrezima jelena i divljih svinja beleže osetan porast sa starošću životinja, što indikuje hroničnu izloženost divljači kadmijumu u životnoj sredini. Zaključak je bio da je ova oblast ugrožena kadmijumom i da su izmerene vrednosti znatno više u poređenju sa podacima iz drugih država

Srndaći, poreklom iz zaštićenih oblasti Visoke Tatire - Češka, imali su zabeležene niske koncentracije kadmijuma u bubrezima i jetri od 0,28 mg/kg, odnosno 0,18 mg/kg, respektivno (*Chudík i Mankovská, 1989*).

U Sjedinjenim državama, Kanadi i Severnoj Evropi veoma često su kao biomonitori teških metala korišćeni sisari koji masovno nastanjuju ova područja, kao što su losovi, belorepi jeleni, divlji zečevi, divlje patke, vidre i naročito dabrovi za koje je ustanovljeno da akumuliraju velike količine kadmijuma od 467 mg/kg (*Nolet i sar., 1994*) kada su jako izloženi njegovom prisustvu u okolini, naročito u oblastima sa metalurškim postrojenjima ili atmosferskim zagađenjem usled vazdušnog prenosa na veće distance.

Faktor koji značajno utiče na akumulaciju kadmijuma u losu i jelenu je puferski kapacitet zemljišta. Losovi i jeleni koji su poticali iz rejona u kojima je zemljište imalo dobar puferski kapacitet (krečnjačka i poljoprivredna zemljišta) imali

su manje zabeležene koncentracije kadmijuma od onih iz stenovitih oblasti sa slabim puferским kapacitetom (*Glooschenko i sar., 1988*).

Iz više radova (*Froslic i sar., 1984; Frank i sar., 1986; Scanlon i sar., 1986; Niemi i sar., 1993; Gomberti i sar., 2004*) se može uvideti da divljač sa severa i istoka Evrope ima, generalno gledano, nešto niže koncentracije kadmijuma u odnosu na Severnu Ameriku (*Champoux i sar., 1999*). Za različite svetske i evropske regione postoji dosta podataka o nivou teških metala u pojedinim vrstama sisara i divljih ptica. Ovde, se pre svega, misli na Severnu Ameriku (SAD i Kanada) i evropske zemlje, naročito one koje imaju veoma dobro utemeljene monitoring planove i razvijenu metodologiju uzorkovanja, ispitivanja i procene stanja životne sredine (Norveška, Nemačka, Holandija, Češka, Poljska, Slovačka, Rusija, Slovenija, Hrvatska).

Slovački istraživači (*Kottferova i Korenekova, 1998*) u svom radu daju vrednosti kadmijuma u mišićnom tkivu, jetri i bubrezima srndaća (20 životinja), crvenog jelena (10 životinja), evropskog zeca (50 životinja) i divlje svinje (30 životinja). Kod srndaća, bubrezi su imali najveći sadržaj kadmijuma, srednja vrednost iznosila je 2,63 mg/kg, u jetri 0,21 mg/kg, dok je kod skeletnih mišića vrednost bila najmanja, oko 0,02 mg/kg. Podaci za sadržaj kadmijuma u tkivu crvenog jelena istih autora bili su slični u poređenju sa srndaćima (bubrezi - 2,01 mg/kg, jetra - 0,31 mg/kg i mišićno tkivo - 0,028 mg/kg). Takođe je zapaženo da evropski divlji zec znatnije akumulira kadmijum u bubrezima. Gotovo svi ispitivani zečevi sa različitih lokaliteta su imali znatno veće vrednosti kadmijuma u odnosu na bubrege ostalih životinja. Registrovane vrednosti kadmijuma u jetri divlje svinje (0,44 mg/kg) bile su više od vrednosti kadmijuma registrovanih u bubrezima (0,24 mg/kg).

Ruski istraživač *Medvedev (1999)* je ispitivao sadržaj teških metala u tkivu krupne i niske divljači iz Karelije, oblasti u Rusiji, nakon završetka regularne lovne sezone (1989 - 1991) i to: žive, kadmijuma, bakra, nikla, cinka i gvožđa u jetri, bubrezima, skeletnim mišićima, srcu plućima i dlaci losova, irvasa, medveda, divljih svinja i veverica. Najviše koncentracije teških metala su zabeležene u jetri, bubrezima, plućima i dlaci. Uzorci mišićnog tkiva imali su najmanju kontaminaciju metalima. Tkiva losa, irvasa i medveda su bila najviše kontaminirana teškim metalima. Niži nivo teških metala bio je zabeležen u tkivu divlje svinje. Na osnovu rezultata ispitivanja konstatovana je široka rasprostranjenost teških metala u oblasti iz koje potiče divljač, a koje je autor povezao sa pojavom kiselih kiša. U tabeli 5. dat je pregled distribucije teških metala u unutrašnjim organima divljači iz Ruske oblasti Karelija.

Tabela 5. Razlike u sadržaju i distribuciji teških metala između pojedinih tkiva i vrsta (Medvedev, 1999).

TEŠKI METAL	LOS	MRKI MEDVED	DIVLJA SVINJA	VEVERICA
kadmijum	B>J>P>S>M	B>J>P>M>S	B>P>J>S>M	B>J>M
olovo	P>J>M>S>B	P>J>B>M>S	P>J>B>M>S	J>B>M
bakar	J>P>B>S>M	J>P>B>M>S		
nikal	P>S>J>B>M	P>J>S>M>B		
cink	P>J>M>S>B	P>J>M>S>B		
gvožđe	P>J>M>S>B	P>J>S>B>M		

* legenda: B - bubreg; J - jetra; M - mišić; S - srce; P - pluća;

U tabeli 6, dat je pregled sadržaja kadmijuma u tkivu divljači od strane čeških i slovačkih autora.

Tabela 6. Sadržaj kadmijuma (mg/kg, vlažna masa) u divljači sa teritorije Češke i Slovačke Republike

VRSTA DIVLJAČI	TKIVO	SADRŽAJ KADMIJUMA	REFERENCA
SRNDAĆ (<i>Capreolus capreolus</i>)	bubreg	3,00 - 3,30	<i>Pav i sar. (1982)</i>
		0,27 - 1,07	<i>Chudik i Mankovska (1989)</i>
	jetra	0,13 - 0,40	<i>Pav i sar. (1982)</i>
		0,21 - 3,32	<i>Chudik i Mankovska (1989)</i>
CRVENI JELEN (<i>Cervus elaphus</i>)	bubreg	0,70 - 3,00	<i>Pav i sar. (1982)</i>
		0,25 - 9,80	<i>Chudik i Mankovska (1989)</i>
	jetra	0,38	<i>Pav i sar. (1982)</i>
		0,27	<i>Mankovska (1990)</i>
EVROPSKI ZEC (<i>Lepus europaeus</i>)	bubreg	3,61	<i>Slamecka i sar. (1994)</i>
		3,13	<i>Bukovjan i sar. (1991)</i>
	jetra	0,26	<i>Slamecka i sar. (1994)</i>
		0,77	<i>Bukovjan i sar. (1991)</i>
DIVLJA SVINJA (<i>Sus scrofa</i>)	bubreg	0,24 - 1,72	<i>Mankovska (1990)</i>
	jetra	0,18 - 0,30	<i>Mankovska (1990)</i>

Kod crvenog jelena, anatomija digestivnog trakta dozvoljava znatan udeo u ukupnoj ishrani šumskim drvenastim biljem, 35% u leto i oko 30% zimi. Za razliku od njega, digestivni trakt srndača nije tako tolerantan prema unosu celuloznih materija, već on u ishrani preferira mlade letnje biljke, razne vrste trava i voće.

U vezi sa načinom ishrane leži i objašnjenje zašto crveni jelen u sebi zadržava veću količinu deponovanih kadmijuma i olova (*Hell i sar., 1994*).

Wilke i sar. (2000) su ispitivali sadržaj olova i kadmijuma u bubrezima i jetri mlađih (do jedne godine starosti) i starijih primeraka (preko 5 godina starosti) srndaća, crvenog jelena i divljih svinja odstreljenih u prirodnom rezervatu Naturepark Lauenburgische Lakes (Schleswig-Holstein), Nemačka, u čijoj se neposrednoj blizini nalazi autoput. U periodu od 1982. do 1989. godine srednje vrednosti kadmijuma u jetri i bubrezima srndaća su iznosile 0,16 mg/kg, odnosno 1,29 mg/kg, respektivno, kod mlađih primeraka, dok je kod starijih primeraka ustanovljeno 0,771 mg/kg (jetra) odnosno 4,26 mg/kg (bubreg). Srednje vrednosti za olovo u bubrezima i jetri mlađih primeraka srndaća su iznosile 0,145 mg/kg, odnosno 0,102 mg/kg, dok su ove vrednosti (respektivno gledano) za starije primerke iznosile 0,081 mg/kg odnosno 0,126 mg/kg. U ovom radu se uočava dobar monitorski potencijal u pogledu sadržaja olova u jetri i bubrezima mlađih divljih svinja (mlađe od 1 godine). Izmerene srednje vrednosti olova u jetri i bubregu ovih primeraka iznosile su 0,309 mg/kg odnosno 0,133 mg/kg.

Prema podacima autora iz Slovenije (*Vengušt, 2004*), u jetri srneće divljači nije bilo statistički značajne razlike u sadržaju kadmijuma kod mužjaka i ženki i zabeleženi nivo kadmijuma bio je relativno nizak i kretao se od 0,13 mg/kg do 0,41 mg/kg (srednja vrednost je iznosila 0,27 mg/kg na uzorku od 69 životinja).

U Finskoj, u okviru nacionalnog monitoring programa (*NFA-EELA-MAF, 2004*), sadržaj kadmijuma u unutrašnjim organima farmski gajenih irvasa iznosio je od 0,19 - 14 mg/kg dok je kod divljeg losa registrovano od 0,15 - 17 mg/kg.

Prema *Tataruch-u (1984)*, antropogeno delovanje utiče na povećanje koncentracije teških metala inače prisutnih u prirodnoj sredini. Povišena kiselost zemljišta (niže pH vrednosti) utiče na bolju rastvorljivost i pokretljivost metalnih jona, npr. sadržaj kadmijuma raste. U ovakvim uslovima biljke intenzivnije unose metale u sebe, što se kasnije reflektuje kroz pojačanu akumulaciju metala u tkivima herbivornih životinja. Utvrđeno je da su tkiva životinja koja potiču sa mahom alkalnih zemljišta manje opterećena teškim metalima od životinja čija su staništa na kiselim zemljištima. Kontaminacija divljači teškim metalima dešava se inhalacijom sitnih čestica iz vazduha i/ili unosom kontaminirane hrane (*Friberg i Nordberg, 1986*).

Na osnovu dobijenih rezultata konzumiranje iznutrica gore pomenute divljači u kontekstu sadržaja kadmijuma i žive nije preporučljivo jer značajno prevazilaze limite nedeljnog unosa koju preporučuje Svetska zdravstvena organizacija (WHO-World Health Organisation) od orijentacionog nedeljnog unosa 0,4 do 0,5 mg, odnosno 0,06 mg do 0,07 mg dnevno.

Primeru radi, obrok od 250 g sveže jetre sa sadržajem kadmijuma od 1,2 mg/kg podrazumeva unos od 0,3 mg.

Ista količina obroka sveže jetre sa sadržajem kadmijuma 4,8 mg/kg obezbeđuje unos od 1,2 mg kadmijuma. Ove vrednosti od 0,3mg do 1,2 mg predstavljaju 5 do 50 puta veći preporučeni dnevni unos prema preporukama za tolerantni dnevni unos.

Negativni efekti teških metala su, posebno, opasni po ptice obzirom da postoji velika razlika u brzini metabolizma u odnosu na sisare. One su zbog toga izložene većem riziku usled akumulacije metala u njihovom telu (*Szymczyk i Zalewski, 2003*). Ovi autori saopštavaju da što se tiče sadržaja olova postoji razlika u njegovoj količini u jetri starijih ptica sa nezagađenog područja (duplo u odnosu na mlađe ptice - 0,417 mg/kg). Sadržaj olova u jetri obe starosne grupe sa terena u blizini industrijskog basena nije bio bitno različit. Koncentracije kadmijuma u jetrama obe starosne grupe sa nezagađenog područja iznosile su od 0,128 mg/kg do 0,178 mg/kg. Više vrednosti kadmijuma u jetri fazana od 1,121mg/kg i grudnom mišiću od 0,469 mg/kg registrovane su u područjima u blizini postrojenja obojene metalurgije (topionice cinka i ekstraktivna metalurgija). Kod divljih patki takođe je zabeležen povišen nivo kadmijuma od 1,68 mg/kg (sve koncentracije su izražene kao srednje vrednosti i izračunate na vlažnu masu uzorka).

Perje ptica se duže godina koristi kao bioindikator priustva različitih metala, ali je pitanje vremena i puta akumulacije metala u njima i dalje otvoreno (*Burger i sar., 1992; Thompson i sar., 1992; Lewis i sar., 1993; Pilastro i sar., 1993*).

U studijama *Lewis-a i sar. (1991, 1993)* razmatrani su i skeletni mišići galeba kao mesto akumulacije žive. U ovim radovima ukazuje se na to, da je veća mišićna masa uzrok povišene akumulacije. Smanjenje koncentracije žive je uzrokovano tanjenjem mišića zbog njegovog razvoja i izbacivanjem ovog elementa usled regeneracije mišićnog tkiva. Koncentracija žive u biomasi perja, jetre i mišićnog tkiva je određena u međusobnom odnosu 7 : 3 : 1.

2.17 Karakteristike divljeg zeca (*Lepus europaeus*)

2.17.1 Biološke karakteristike divljeg zeca

Za divljač naših staništa najviše odgovaraju tereni u kojima se naizmenično prostiru šume i polja u određenom uzajamnom odnosu. Ekonomski najznačajnija i najrasprostranjenija vrsta divljači u Srbiji je divlji zec. Ovoj vrsti najviše odgovaraju tereni sa godišnjim prosekom padavina od oko 400 mm/m². U zimskom periodu zečevi glođu koru mladog drveća ili granja, u suprotnom uginu. Ukoliko je zima blaga u decembru i januaru zečevi se pare, a krajem januara, februara i marta nastaje prvo leglo. Ukoliko dođe do naglog zahlađenja i kiša dolazi do velikog gubitka mladih zečeva. Zec je polustepska životinja koja voli terene do 600 m nadmorske visine. Za njega se kaže da je životinja kulturne steppe. Zec je noćna životinja, na pašu izlazi noću kada se i pari. Od predatora se brani bežanjem ili mimikrijom. Hrani se svim plodovima koje nalazi u šumi, u polju i na livadama. Smatra se da ova životinja u ishrani koristi oko 94 biljne vrste. Monokulture u poljoprivredi uništavaju njegov opstanak. Najveće potrebe za vodom zadovoljava zelenom hranom dok u sušnim periodima pije vodu. Ima slabo razvijen nagon za selidbom i kreće se u krugu od 4 km. Ova životinja može da živi u idealnim uslovima života 8,10 pa i 15 godina. U prirodi njegov životni vek je kraći najčešće 2-4 godine. Starost od 4 godine doživi svega oko 3% zečeva. Masa odrasle životinje (ako je starija od 12 meseci) se kreće od 4-5 kg. Ukoliko je zima oštra, parenje počinje u februaru. Graviditet traje 42 dana i zečica okoti 2-5 mladunaca. Teški su oko 130 g, a posle 2 meseca oko 2 kg, nakon 3-4 meseca oko 3 kg, nakon 6 meseci, smatraju se odraslim životinjama i teški su oko 3,5 kg. Prvo leglo u rano proleće najviše strada usled kiše, vetra, odnosno promenljivih vremenskih uslova. Ženke iz prvog legla okote krajem avgusta i početkom septembra 1-2 mladunca. Plodnost zeca se zasniva na brzom dostizanju polne zrelosti (1 godina), kratkom trajanju bremenitosti (42 dana), većem broju legala u godini (4-5), broju mladunaca u leglu (1-6) i dugom periodu razmnožavanja (od januara do septembra). Ako se tokom godine ulovi duplo više mladih zečeva od starih, smatra se da je „zečja godina“ dobra. Vrlo dobra i odlična je ona kada se brojno stanje utrostručilo, dok je loša godina ona u kojoj se broj zečeva znatno smanjio. Prolećna gustina populacije predstavlja brojno stanje nakon zime, dok se na osnovu jesenjeg broja populacije određuje koliki će biti odstrel za vreme lova (*Popović i Ilić, 2007*).

2.17.2 Karakteristike populacije divljeg zeca u Srbiji i evropskim okvirima

Najbrojnije zečije populacije su u poljoprivrednim reonima. U Srbiji najbolja staništa za zeca su ravničarski predeli, pre svega u Vojvodini (*Popović i sar., 2010*).

Brojno stanje zeca u Srbiji 2009. godine smanjeno je za 0,43% u odnosu na 2000. godinu, pri čemu u centralnoj Srbiji imamo smanjenje brojnosti za 8,33%, dok se u Vojvodini primećuje povećanje brojnosti za 10,09%. Tendencije kretanja brojnosti zeca u Srbiji su takve da se mogu uočiti razlike između pojedinih regiona Srbije. Brojno stanje zeca u centralnoj Srbiji i Republici Srbiji povećavano je do 2005. godine, kada je brojnost dostigla 343.833, odnosno 629.639 jedinki. Posle ove godine usledilo je smanjenje brojnosti zeca do 2008. godine, kada je brojnost u Republici Srbiji iznosila 565.591 jedinki, odnosno u centralnoj Srbiji 304.051 jedinki. U Vojvodini ovaj trend uspona traje do 2006. godine, kada je brojnost iznosila 300.971 jedinki, posle čega sledi smanjenje brojnosti, izuzev za 2009. godinu, kao i u Srbiji (*Popović i sar., 2012*).

Na osnovu Programa razvoja lovstva Srbije *2000-2010*. u 2009. godini predviđeno je dostizanje brojnosti zeca u Vojvodini 324.518 jedinki, centralnoj Srbiji 374.177 jedinki i Republici Srbiji 698.695 jedinki, dok je ostvarenje plana bilo sa 85,02%, 82,98% i 83,93%. Gustina zečeva u Vojvodini u posmatranom periodu varirala je od 12,62 do 15,16 jedinki na 100 ha, dok je u centralnoj Srbiji variranje bilo od 6,16 do 6,97 jedinki na 100 ha. Prosečna gustina zečeva u Srbiji varirala je od 8,17 do 9,10 jedinki na 100 ha.

Poslednjih godina (2010-2011) ostaje zabeleženo da populacija divljeg zeca u određenim područjima pokazuje deklinaciju broja jedinki, uglavnom usled nepovoljnih vremenskih uslova (visok nivo voda i poplave) u periodima kada se razmnožava i izloženosti predatorskim vrstama (lisica, šakal, vuk).

Ekstremno visok nivo vodostaja u 2010 godini je negativno uticao kroz neposredne gubitke usled davljenja divljači, iscrpljenosti i gladi, smanjenja životnog prostora, podložnosti oboljevanju zbog iscrpljenosti i izloženosti predatorskim vrstama (lisica, šakal, vuk) kao i poremećaja reproduktivnog ciklusa. Izveštaji sa terena u toku 2010 su bili takvi da je po pravilu pad brojnosti registrovan u nižim terenima, pored vodotokova, dok je situacija na višim terenima bila bolja (*Ristić i sar., 2010*).

Prema raspoloživim podacima iz stručne lovačke literature, zec u prirodnim uslovima koji vladaju u Srbiji može preživeti do starosti od 4 godine, ali većina populacije je stara između 1-2 godine. Standard naseljenosti zečeva je 5-8 individua na 100 ha i to je minimalan broj, dok je optimalna gustina ove vrste između 18-22 jedinice.

Evropski divlji zec se veoma dobro adaptirao na uslove života u područjima sa obradivim zemljištem i spada u jednu od najznačajnijih vrsta malih kopnenih sisara u Evropi (*Edwards i sar., 2000*). Prema autorima iz zapadne Evrope (*Broekuizen i Maaskamp, 1982; Tapper i Barnes, 1986; Reitz i Leonard, 1994*) ova vrsta vodi „sedelački“ način života i ima tipičan radijus kretanja na površinama od 10 do 100 hektara. Životinje čiji je pretežni način ishrane ispaša, u lancu hrane su na višim trofičkim nivoima izložene unosu teških metala iz kontaminiranog zemljišta (*Brekken i Steinnes, 2004*). Generalno gledano, u zapadnoj Evropi se beleži pad populacije evropskog divljeg zeca u periodu od 1960-1995 dok je njegovo naseljavanje u Južnu Ameriku i na Novi Zeland dalo veoma dobre rezultate (*Smith i sar., 2005*).

Brojnost populacija zečeva uslovljena je raznovrsnošću dostupne ishrane (žitarice, trava sa pašnjaka, grančice, izdanci itd). Kada zečevi u staništima imaju pristup raznovrsnijoj ishrani tokom godine, to se reflektuje na njihovu reproduktivnost i stepen preživljavanja, što utiče na povećane populacije (*Edwards i sar., 2000*).

2.18 Bioakumulacija teških metala u tkivima divljeg zeca

Značajna veza je pronađena između akumulacije kadmijuma u jetri i bubrezima malih herbivornih sisara i ukupnog nivoa metala u zemljištu (*Veltman i sar., 2007*). Pozitivna korelacija između sadržaja olova u jetri i atmosferske depozicije olova je utvrđena obzirom da je atmosferski transport glavni izvor olova za herbivorne životinje, odnosno divljeg zeca. Prema *Kalas-u i sar., (2000)* većina biljnih vrsta absorbuje olovo iz zemljišta u beznačajnim količinama i ukoliko nema depozicije iz vazduha, očekuje se veoma nizak nivo ovog metala u cijnim tkivima.

Nasuprot tome, ukoliko je depozicija iz vazduha prisutna, herbivore mogu biti izložene ozbiljnijem unosu olova, imajući u vidu potrebu za unosom veće količine vegetacije zbog njene slabije svarljivosti.

Rezultati koji se odnose na sadržaj teških metala, pretežno kadmijuma u organima divljeg zeca (*Holm, 1984; Rimkus i Wolf, 1987; Krelowska i sar., 1994; Tataruch, 1984, 1994; Massányi i sar., 1995, 2003; Toman i Massányi, 1996; Venäläinen i sar., 1996; Slamecka i sar., 1994, 1997; Myslek i Kalisińska, 2006; Pedersen i Lierhagen, 2006; Kolesarova i sar., 2008; Skrivanko i sar., 2008*), zatim žive (*Samek i sar., 1989; Spiric i Srebočan, 2001; Spiric i sar., 2012*) i olova (*Walburga i Slamecka, 1997; Kalas i sar., 2000*) ukazuju na njihov veoma dobar monitorski potencijal za teške metale u odnosu na veličinu životinje, starost, način ishrane i životni vek. Visoke koncentracije kadmijuma u bubrezima divljeg zeca registrovali su drugi autori (*Eiraa i sar., 2005; Kramárová i sar., 2005a, 2005b;*).

Obzirom na činjenicu da se evropski divlji zec kreće na malim područjima, može biti upotrebljen kroz model biomonitoringa preko ciljnih tkiva (bubreg i jetra). Treba imati u vidu i da nivo akumuliranih teških metala u organizmu sisara zavisi od takozvanih „unutrašnjih“ faktora kao što su starost, pol, vrsta tkiva, način ishrane, status u lancu ishrane. Stoga je na osnovu ovih poznatih osobina, moguće pratiti opterećenje životne sredne metalima kroz odgovarajuću starosnu strukturu i odabir tkiva divljeg zeca i na taj način steći širu sliku o stanju životne sredine u pogledu prisustva ove grupe kontaminenata.

Razlika između sadržaja metala u tkivu divljih zečeva (evropski, planinski i arktički) odnosno divljeg kunića pojavljuje se i usled različitih navika u ishrani. Primera radi, planinski divlji zec jede više biljne hrane sa grančicama, dok evropski divlji zec mnogo više koristi travu i monokulture. Trava i druge poljoprivredne kulture se regenerišu godišnje, dok su biljni organi različitog žbunja, vrba ili brezove kore na duži rok izloženi prisustvu teških metala iz vazduha (*Venäläinen i sar., 1996*).

Prema *Tataruch-u (1994)*, veće koncentracije kadmijuma su registrovane u mužjacima, mada bi se moglo očekivati da, u odnosu na težinu životinje, ženke akumuliraju veće količine, čime se u vezu sa akumulacijom metala dovodi i hormonski status jedinki. Starost jedinki predstavlja veoma bitan faktor bioakumulacije teških metala u ciljnim tkivima.

Iz evropskih studija je registrovano da dobar biomonitoring potencijal imaju i divlji zečevi i kunići, kod kojih je srednja vrednost kadmijuma u bubrezima i jetri iznosila između 3,6 mg/kg do 6,1 mg/kg, odnosno 0,6 mg/kg do 0,25 mg/kg. (*EAGLE, 2001*). Kada se poredi podaci između različitih regiona treba uzeti u obzir da se mogu porediti rezultati koji su dobijeni iz slične populacione strukture (starost, pol, vrsta). Na osnovu pregleda literaturnih podataka nameće se zaključak da je korišćenje Evropskog divljeg zeca u dugoročnijim praćenjima stanja životne sredine u pogledu opterećenosti teškim metalima opravdano, uz definisanje pogodne metodologije monitoringa i korišćenje napretka u analitičkim tehnikama, biohemiji, ekologiji, populacionom modelovanju i proceni rizika po okolinu i zdravlje ljudi i životinja (*Burger i sar., 2003*).

Neočekivani i nepredviđeni problemi kontaminacije životne sredine služe kao pokretačka snaga u istraživanju biomonitoring potencijala ove i drugih divljih vrsta, ne samo sa stanovišta biomonitoringa već i registrovanja antropogenih uticaja na brojnost i ponašanje ispitivane vrste kao posledica promena u pogledu opterećenosti životne sredine teškim metalima. Krajni cilj je analiza i procena rizika izloženosti ljudi teškim metalima, što samo po sebi predstavlja krajnji cilj biomonitoringa. Predviđanje i praćenje može biti otežano i pripisuje se logističkim poteškoćama u proučavanju divljih životinja kao i izazovima koji postoje u ekstrapolaciji podataka dobijenih ispitivanjem laboratorijskih životinja na slične ili različite vrste koje slobodno žive u prirodi.

2.19 Metode za određivanje metala u biološkim materijalima iz životne sredine

Za određivanje teških metala u biološkim materijalima, odnosno uzorcima iz životne sredine, postoji više ustanovljenih metoda koje se koriste kao standardne metode za analizu. U Severnoj Americi i Evropi mnoge od analitičkih metoda koje se koriste za analizu uzoraka iz životne sredine su odobrene od strane regulatornih tela, agencija i istraživačkih organizacija kao što su Agencija za zaštitu životne sredine (EPA-Environmental Protection Agency) i Nacionalni institut za bezbednost na radu i zdravlje (NIOSH -National Institute for Occupational Safety and Health) zatim američka administracija za poljoprivredu, bezbednost hrane i inspeksijski nadzor (USFDA-United States Department of Agriculture Food Safety and Inspection Service) u SAD-u, zatim Nacionalni centar za istraživanje divljači (NWRC - National Wildlife Research Centre) u Kanadi, Evropska Komisija (EC - European Commission) na nivou Evropske Unije. Ostale tehnike i metode su date i od strane profesionalnih organizacija kao što su Organizacija zvaničnih hemičara (AOAC-Association of Official Analytical Chemists), američko udruženje za javno zdravlje (APHA-American Public Health Association), Kooperacija za međunarodnu sledljivost u analitičkoj hemiji (CITAC-The Cooperation on International Traceability in Analytical Chemistry), organizacija EURACHEM (A Focus for Analytical Chemistry in Europe) i druge.

2.19.1 Specifični zahtevi za atomsku apsorpcionu spektrometriju prema Direktivi Evropske Komisije (EC, 2002)

Specifični zahtevi za atomsko-apsorpcionu spektrofotometriju (AAS)

Atomska apsorpciona spektrofotometrija (AAS) je u principu, mono-elementna tehnika i zbog toga zahteva optimizaciju eksperimentalnih uslova u zavisnosti od elementa koji se kvantifikuje. Gde god je moguće, rezultati treba da se provere kvalitativno i kvantitativno preko alternativnih apsorpcionih linija (u najboljem slučaju treba odabrati dve različite linije).

Kalibracioni standard treba praviti u rastvoru što sličnijem rastvoru u kome se nalazi ispitivani uzorak. Da bi se smanjio uticaj „*blank*“ uzorka (rastvarača), svi reagensi moraju da budu najveće moguće čistoće. U zavisnosti od načina vaporizacije i atomiziranja uzorka mogu se razlikovati različiti tipovi AAS.

Specifični zahtevi za plamenu AAS

Instrument mora da se optimizuje za svaki element. Treba naročitu pažnju posvetiti sastavu i protoku gasa da bi se izbegle interference izazvane pozadinskom apsorpcijom. U slučaju nepoznatog matriksa mora da se proveri da li je neophodna pozadinska korekcija (*background correction*).

Specifični zahtevi za grafitnu AAS

Kontaminacija u laboratoriji uvek utiče na tačnost kada se radi sa grafitnom peći na ultra-niskim nivoima detekcije. Zbog toga moraju da se koriste reagensi visoke čistoće, dejonizovana voda i posuđe od inertne plastike za rad sa standardima i uzorcima. Instrument se mora optimizovati za svaki element posebno. Naročita pažnja se mora posvetiti pripremi uzoraka, uslovima atomizacije (temperatura, vreme) i modifikovanju matriksa. Rad u uslovima izotermalne atomizacije (grafitna kiveta), će smanjiti uticaj matriksa u pogledu atomizacije analiziranog uzorka. U kombinaciji sa modifikacijom matriksa i Zeeman-ovom korekcijom (*Zeeman correction*) dozvoljena je kvantifikacija uz pomoć kalibracione krive zasnovana na merenju standarda u vodenom rastvoru.

Specifični zahtevi za AAS-tehniku hladnih para

Tehnika hladnih para se koristi samo kod određivanja žive. Kompletnoj analizi se mora posvetiti posebna pažnja zbog isparavanja i apsorpcionih gubitaka elementarne žive. Posebno se mora izbegavati kontaminacija, bilo reagensima ili iz spoljašnje sredine.

Organska jedinjenja koja sadrže živu zahtevaju oksidativnu dekompoziciju da bi se dobio tačan sadržaj žive u uzorku. U ove svrhe treba koristiti zatvorene sisteme sa mikrotalasnom digestijom ili sisteme za formiranje pepela pod visokim pritiskom. Posebna pažnja mora da se posveti čišćenju opreme koja je dolazila u kontakt sa živom.

3. CILJ I ZADACI ISTRAŽIVANJA

Cilj istraživanja

Potreba za istraživanjem sadržaja teških metala iz životne sredine preko tkiva divljači se ogleda, pre svega, u činjenici da očuvanje kvaliteta životne sredine predstavlja jedan od strateških društvenih ciljeva, koji prevazilazi nacionalne okvire. Naša država predstavlja jedan od šest evropskih centara biološkog diverziteta na čijoj teritoriji se nalazi: 39% vaskularne flore, 51% faune riba, 49% faune gmizavaca i vodozemaca, 74% faune ptica i 67% faune sisara Evrope.

Obzirom da divljač i ptice čine osnovu industrije lova i da su prirodni resurs od izuzetnog značaja, naučno-istraživačka aktivnost koja za cilj ima naučni doprinos u sagledavanju trenutnog stanja, analizu postojećih i uvođenje novih pristupa u monitoringu teških metala u životnoj sredini u Srbiji ali i evropskim okvirima, predstavlja konkretan doprinos ukupnom fondu saznanja u naučnoj oblasti istraživanja i unapređenja stanja životne sredine kao i očuvanju flore i faune.

Na osnovu literaturnih podataka i koristeći teorijsko-eksperimentalni pristup postavljeni su sledeći ciljevi istraživanja:

- dobijanje podataka o regionalno specifičnoj kontaminaciji zeca teškim metalima;
- povezivanje dobijenih podataka sa lokalnim izvorima teških metala;
- procena biomonitorskog potencijala zeca iz lovišta Srbije, pre svega u pogledu akumulacije kadmijuma, žive i olova, a zatim i ostalih metala, na osnovu postojećih podataka za zečeve u Evropi i u odnosu na druge herbivorne divljači (jelenske, srneće i dr.);
- identifikacija mogućih zdravstvenih rizika od konzumiranja jestivih tkiva zečeva.

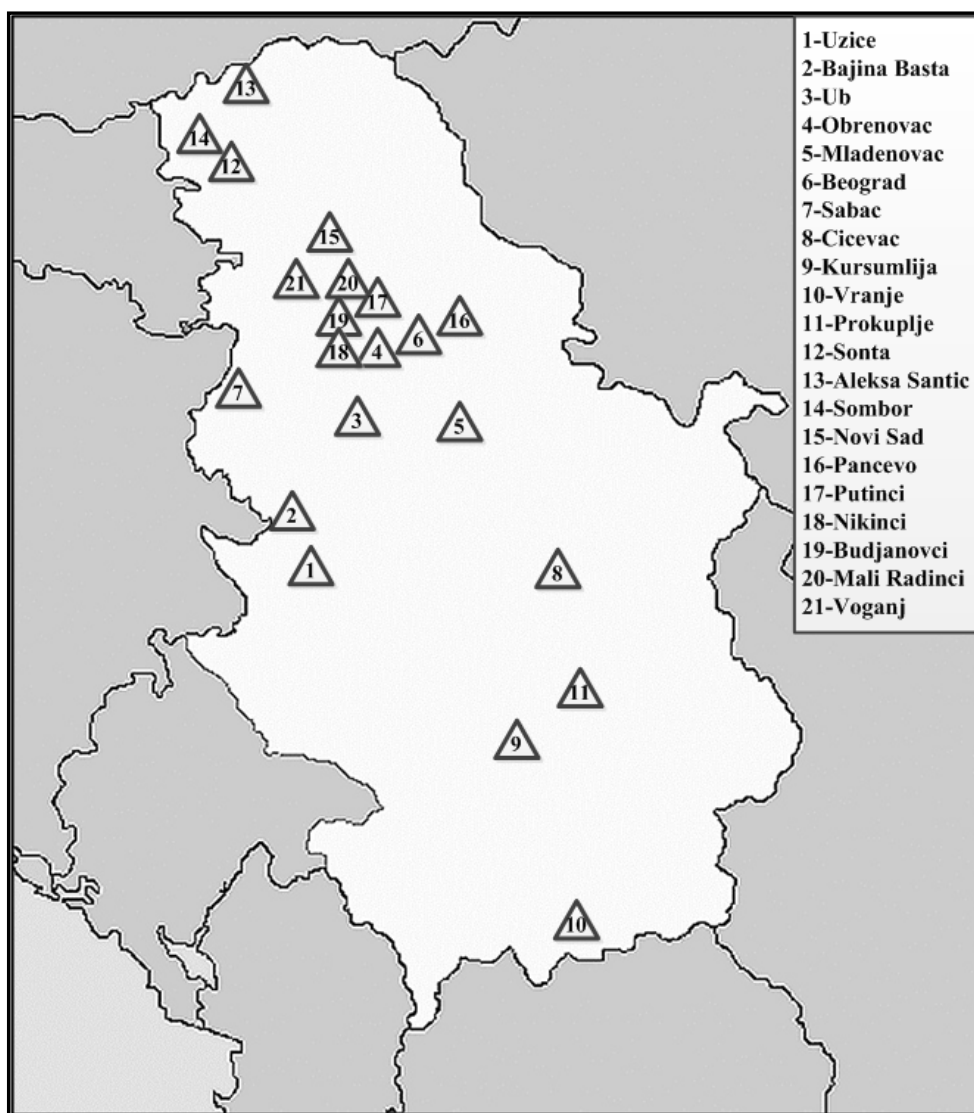
Zadaci istraživanja

1. Izvršiti sakupljanje, označavanje, transport i skladištenje uzoraka tkiva (bubrezi i jetre) od zečeva odstreljenih na terenu Lovačkog saveza Srbije;
2. Pripremiti uzorke za ispitivanje uključujući i duplikate uzoraka za moguće ponovljene analize;
3. Odrediti sadržaj žive korišćenjem atomske absorpcione spektrofotometrije (AAS) tehnikom hladnih para;
4. Odrediti sadržaje hemijskih elemenata (Cd, Pb, Fe, Zn, Mn, Cu, Cr i Ni) metodom AAS;
5. Uraditi uporednu analizu dobijenih rezultata sadržaja teških metala i lokaliteta, odnosno starosti životinja tamo gde je to moguće;
6. Izvršiti statističku obradu rezultata ispitivanja primenom deskriptivih statističkih parametara centralne tendencije, korelaciono-regresivne analize i analize varijanse upotrebom odgovarajućeg softverskog paketa.

4. MATERIJAL I METODE

4.1. Sakupljanje uzoraka

Uzorci tkiva divljeg zeca (*Lepus europaeus*) za ispitivanje su sakupljeni tokom regularne lovne sezone, jesen-zima 2010/2011. godine sa teritorija 21 lovačkog udruženja Republike Srbije (slika 3). Ukupno je bilo sakupljeno 156 divljih zečeva. Od ovog broja, 84 zeca su sakupljena iz centralne Srbije, sa teritorija 11 lovačkih udruženja (LU 1-11:Užice, Bajina Bašta, Ub, Obrenovac, Mladenovac, Beograd, Šabac, Čičevac, Kuršumlija, Vranje i Prokuplje), odnosno 72 zeca iz Vojvodine, sa teritorije 10 lovačkih udruženja (LU 12-21: Sonta, Aleksa Šantić, Sombor, Novi Sad, Pančevo, Putinci, Nikinci, Buđanovci, Mali Radinci, Voganj). Ukupno je bilo sakupljeno 156 uzoraka bubrega i 156 uzoraka jetri, što ukupno čini 312 uzoraka tkiva.



Slika 3. Mapa teritorija lovačkih udruženja iz Srbije sa kojih su sakupljeni uzorci tkiva divljeg zeca

Jedinke divljeg zeca su sakupljane sa različitih terena koji su njegova tipična staništa, pretežno poljoprivredna područja na nizijskim ili srednjim nadmorskim visinama, u neposrednoj blizini (4-7 km) ili srednjim vazdušnim rastojanjima od 20 do 30 km od značajnijih industrijskih objekata (termoelektrane, površinski kopovi uglja, rafinerijska postrojenja, toplane, saobraćajna infrastruktura) odnosno urbanih područja.

Lovci su, u skladu sa planom lova društava sa planiranih područja, sledili instrukcije koje su dobili u formi kratkog pisanog uputstva nakon obaveštavanja o terminu lova i lovnom terenu, nakon izvršenog odstrela obavili ekstrakciju bubrega i jetri kao i očnih jabučica koje su upotrebljene za određivanje starosti, koristeći dostavljeni pribor za terenski rad. Organi svake jedinke su pakovani u zasebne, označene, plastične polietilenske vrećice sa prethodno pripremljenim nalepticama koje su, u skladu sa unapred definisanim planom sakupljanja uzoraka, sadržavale oznake područja i redni broj životinje (npr. **1B1**-bubreg životinje br.1 iz regiona 1; **1J1**-jetra životinje br. 1 iz regiona 1, itd). Transportna ambalaža za uzorke očnih jabučica je označavana po sličnom principu kao i bubreg i jetra (npr. **1O1**- region 1, oko jedinke 1). Uzorci, pakovani u zasebne plastične vrećice, odnosno staklene teglice, smeštani su u prenosne frižidere od tvrde plastike i u najkraćem mogućem roku dostavljani u laboratoriju Lovačkog saveza Vojvodine u Novom Sadu, Jovana Đorđevića 4, gde je određivana starosti divljeg zeca. Broj sakupljenih jedinki divljeg zeca sa pojedinih terena kretao se između 6 i 10. Uzorci tkiva (bubrega i jetri) su, nakon ekstrakcije iz trupa zeca, pakovani u označene plastične vrećice, transportovani u ručnim frižiderima sa ohlađenim haldogelima u Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Kaćanskog 13, Beograd. Uzorci su skladišteni u zamrzivaču na temperaturi od -18 °C.

4.2. Određivanje starosti

Starost sakupljenih zečeva određivana je merenjem mase očnog sočiva (*Lens cristallina*). Nakon fiksiranja očnih jabučica u 5% formalinu u trajanju od 72 h, iz njih su ekstrahovana očna sočiva i sušena u laboratorijskom termostatu (Sutjeska-Srbija), na 37°C, u trajanju od 96 h. Nakon obavljenog sušenja, očna sočiva su merena na analitičkoj vagi (Mettler-Toledo AE 200 - Nemačka) sa preciznošću od 0,1 mg. Kriterijumi za svrstavanje u starosne grupe dati su u tabeli 7.

Tabela 7 . Određivanje starosti merenjem mase očnog sočiva (*Lens cristallina*)

masa očnog sočiva (mg)	starost zeca
100-200	3-6 meseci
200-280	1 godina
280-310	1-2 godine
310-370	2-3 godine
>370	3 godine +

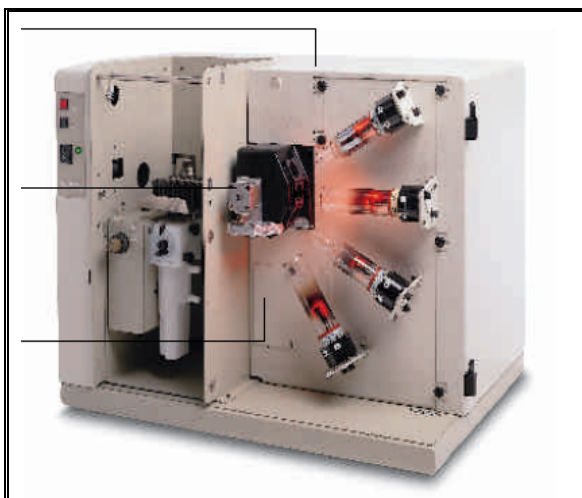
4.3. Analitičke metode

Instrumentalno određivanje teških metala je obavljeno u Odeljenju za ispitivanje rezidua, Instituta za higijenu i tehnologiju mesa iz Beograda. Konfiguracija uređaja za atomsku apsorpcionu spektrofotometriju (AAS), na kome su rađena ispitivanja teških metala, prikazana je na slici 4.

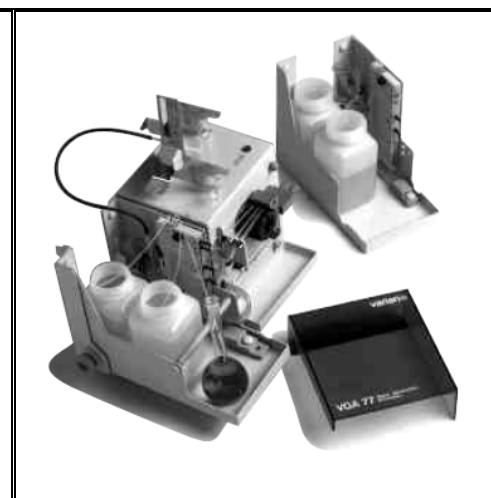


Slika 4. Konfiguracija atomskog apsorpcionog spektrofotometra Varian, SpektraAA 220, sa hidridnim generatorom VGA 77 grafitnom peći GTA 110 i autosemplerom (Institut za higijenu i tehnologiju mesa - Odeljenje za ispitivanje rezidua)

Izgled optičkog sistema atomskog apsorpcionog spektrofotometra (SPEKTRA A 220) i generatora hladnih para za određivanje žive (VGA 77) sa kontinualnim protokom je prikazan na slikama 5 i 6.



Slika 5. Izgled optičkog sistema



Slika 6. Izgled hidridnog generatora

4.3.1 Priprema uzoraka i mikrotalasna digestija

Za ispitivanje su korišćeni uzorci jetre i bubrega koji su do ispitivanja čuvani u zamrzivaču na temperaturi od -18°C , u komadu, upakovani u polietilenske kese i jasno označeni. Nakon vađenja iz zamrzivača, uzorci su defrostovani na sobnoj temperature od oko 20°C , do temperature "namrznutog" stanja (-4°C do -6°C) a zatim i pripremljeni za instrumentalno određivanje teških metala. Uzorci tkiva su nakon defrostracije, mleveni u miniblenderu PHILIPS HR 2860 (220W), a zatim homogenizovani u Ultraturax homogenizatoru. Nakon ove faze pripreme, kompletan homogenat svakog uzorka prenošen je u vegeglas sa šlifovanim poklopcem. Na analitičkoj vagi, model DENVER INSTRUMENTS 215D-USA, obavljeno je prethodno tariranje sa teflonskom kivetom, u koju je, sa tačnošću od $0,0001\text{g}$, odmeravano oko 1 g uzorka.

Spaljivanje uzoraka je obavljano metodom kisele mikrotalasne digestije, u zatvorenim teflonskim kivetama, pod pritiskom, uz korišćenje temperature kontrole mikrotalasnog zagrevanja sa automatskim podešavanjem snage i pritiska (US EPA METHOD 3052).

U teflonske kivete sa odmerenim uzorcima, zasebnim klipnim pipetama dodavano je najpre po 8 ml koncentrovane azotne kiseline (HNO_3 , 65%, Analytical grade, JT Baker, Center Valley, USA) a zatim 2 ml vodonik-peroksida (H_2O_2 , 30% Analytical grade, Kemika, Zagreb, Hrvatska), (odnos azotna kiselina/vodonik-peroksid je bio 4:1). Azotna kiselina rastvara većinu metala prevođenjem u rastvorne nitate, a dodatak vodonik peroksida sprečava stvaranje azotnih para i ubrzava digestiju uzoraka organskog porekla sa povećanjem temperature. Teflonske kivete su zatim zatvarane kompletom specijalnih zatvarača, plastičnih prstenova i opruga, ubacivani u pripadajuće rotorske segmente (slika 7) koji su pritezani specijalnim ključem sa fabrički podešenim momentom.



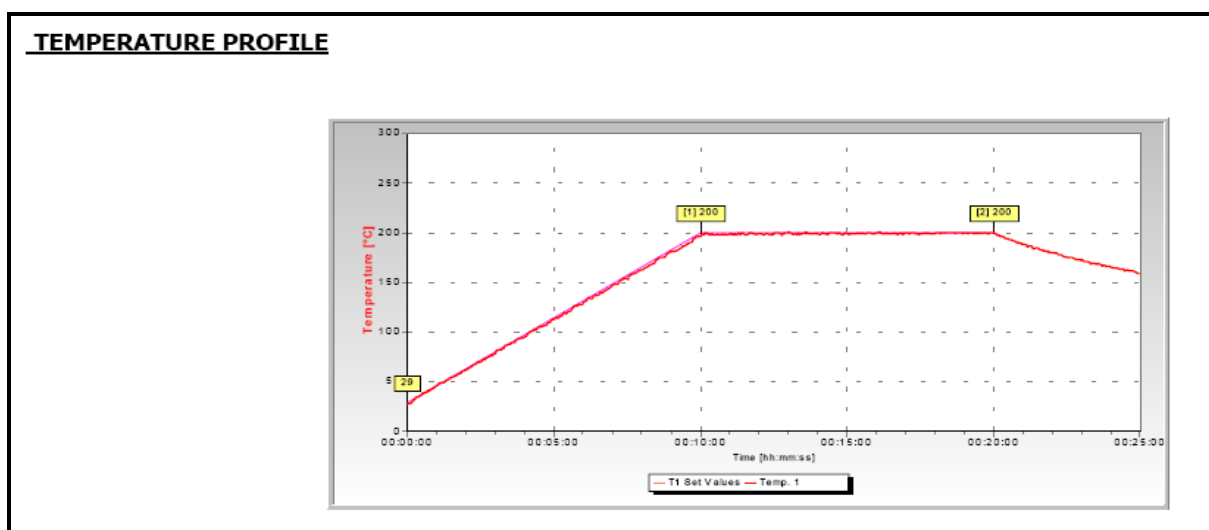
Slika 7. Izgled teflonske kivete i segmenta rotora za digestiju (Milestone Inc.)

Uzorci su razarani u uređaju MILESTONE TC (Touch Control, EVISA, EU), sa referentnom sondom za kontrolu temperature, uz korišćenje segmentnog rotora HPR-1000/10S. Program spaljivanja u uređaju bio je podešen u dva koraka (tabela 8).

Tabela 8. Program mikrotalasne digestije

KORAK	VREME min	TEMPERATURA °C	SNAGA PEĆI W
1	10	200	do 1000
2	20	200	do 1000
hlađenje	5-10	55	isključeno

- Prema uputstvu proizvođača MILESTONE Application Note HPR-CL-02 - Animal Tissue



Slika 8. Temperaturni i vremenski profil programa za digestiju

Nakon odrađenog programa digestije, ručno je uključivana dodatna ventilacija na uređaju, jedinica za digestiju je zatim otvarana, segmenti vađeni, kivete otvarane moment ključem u kontra smeru, a zatim je obavljeno kvantitativno prenošenje sadržaja iz kivete u normalne sudove od 50 ml koji su dopunjavani do crte dejonizovanom vodom. Dejonizovana voda je pripremana na uređaju ELGA Purelaboption DV 35, sa provodljivošću 0,067 ($\mu\text{S}/\text{cm}$).

4.3.2 Instrumentalno određivanje teških metala

Određivanje ukupne žive (Hg) je obavljeno tehnikom hladne pare, šifra metode 02R.01.035. Limit detekcije metode (LOD) je 0,005 mg/kg. Očitavanje apsorbanci je obavljeno je na uređaju VARIAN Inc. model, SpectrAA 220, na 253,7 nm u kombinaciji sa uređajem za generisanje hladne pare sa kontinualnim protokom VARIAN VGA-77, priključenog na gasnu instalaciju sa konstantnim protokom ekstra azota kao gasa nosioca.

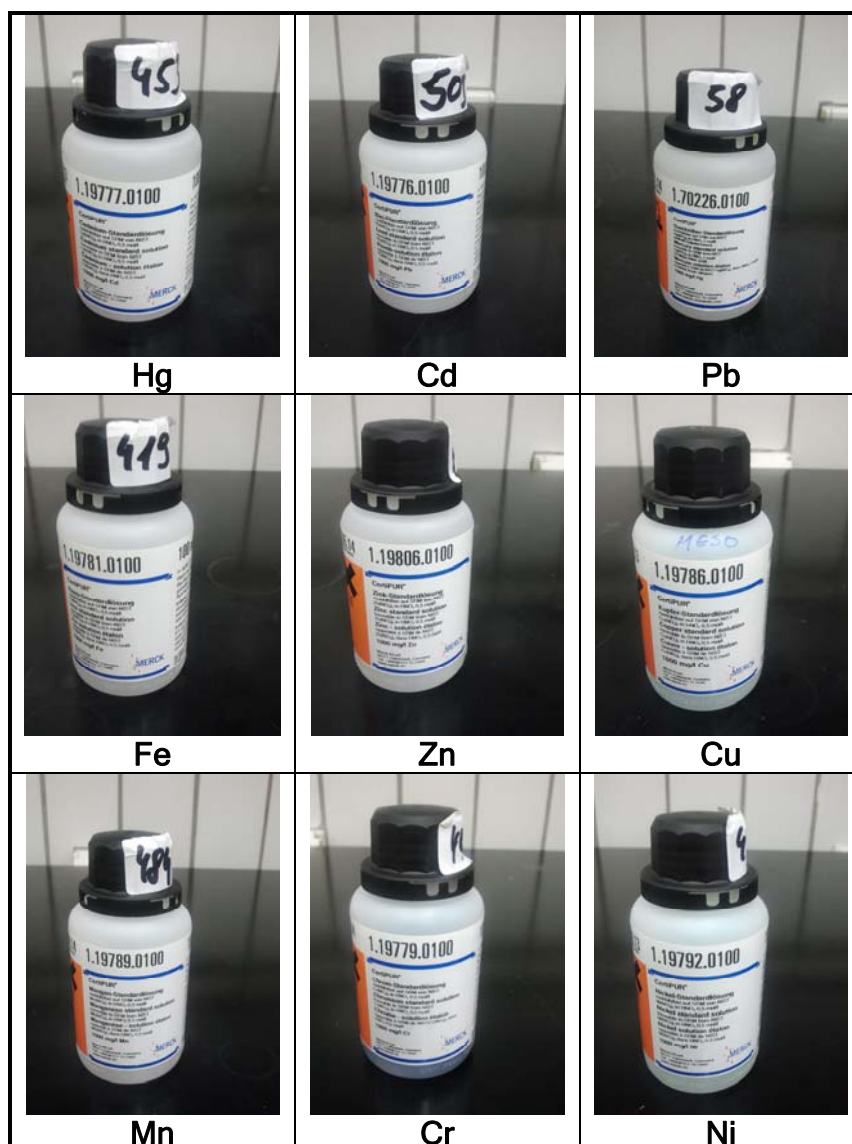
Za određivanje sadržaja olova (Pb) i kadmijuma (Cd) korišćena je atomska apsorpciona spektrometrija, grafitna tehnika-GFAAS (Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometry), šifra metode 02R.01.033, uz upotrebu autosemlera, na aparatu VARIAN SpectrAA 220 i grafitne peći, model VARIAN GTA 110. Olovo i kadmijum su očitavani na 283,3 nm, LOD (0,05 mg/kg) odnosno 228.8 nm, LOD (0,005 mg/kg).

Određivanje gvožđa (Fe), 248,3nm, LOD (1,0mg/kg); cinka (Zn) 213,9 nm, LOD (0,2 mg/kg); mangana (Mn) 279,5 nm, LOD (0,5 mg/kg); bakra (Cu) 324,8 nm, LOD (0,1 mg/kg); hroma (Cr) 357,9 nm, LOD (2,0 mg/kg); i nikla (Ni) 232,0 nm, LOD (0,5 mg/kg) je obavljeno atomskom apsorpcionom spektrofotometrijom, plamenom tehnikom-FAAS (Flame Atomic Absorption Spectrophotometry) u acetilenskom plamenu, na aparatu VARIAN SpectrAA 220 na, šifra metode 02R.01.033.

Sve korišćene instrumentalne metode određivanja teških metala su akreditovane od strane Akreditacionog tela Srbije (ATS).

Kalibracioni standardi za ispitivane elemente su pripremani od komercijalnih matičnih standarda (Merck KGaA, Germany) sledljivih do SRM materijala po NIST-u, koncentracije 1,000 mg/l u 0,2% rastvoru azotne kiseline (slika 9).

Matični standardi su čuvani u frižideru na 5 - 7 °C. Prelazni standardi su, nakon pripreme, čuvani na temperaturi frižidera do 5 dana, a kalibracioni standardi su pripremani od njih, neposredno pred određivanje, korišćenjem klipne mikropipete BRAND, zapreminskog opsega 100 - 1000µl.



Slika 9. Matični standardi korišćeni za pripremu prelaznih i kalibracionih standarda

4.4 Kontrola kvaliteta (QC)

Tačnost merenja je proveravana korišćenjem standardnog referentnog materijala i "rikaveri" (*recovery*) testa uz primenu fortifikovanih (spajkovanih) uzoraka.

Kvantifikacija je vršena korišćenjem kalibracionih standarda različitih koncentracija, odabranih na način da kalibraciona prava pokriva opseg koncentracija uzoraka koji su normalno ispitivani (linearni opseg registrovanih koncentracija), odnosno odgovarajućim razblaženjem. Kontaminacija instrumenta je kontrolisana analizom slepe probe u svakoj seriji ispitivanih uzoraka (20).

Slepe probe su sadržavale iste količine reagenasa, odnosno prolazili su ceo analitički postupak na isti način kao i uzorci.

Prinos pojedinačnih ispitivanih metala je određivan dodavanjem poznate količine standarda u slepe probe (analitički "spajk") radi provere interferenci matriksa sa merenim signalom uzorka. Obogaćeni uzorci su pripremani na dan ispitivanja, uz dodatak poznate količine standarda u prethodno ispitane uzorke ("matriks spajk"). Obogaćeni uzorak je analiziran u svakoj seriji ispitanih uzoraka sa sličnim matriksom (bubreg i jetra). Prinos, u različitim tkivima, za kadmijum je iznosio: 95-97% u jetri i 98-102% u bubregu; za olovo, 83-89% u jetri i 98-112% u bubregu; za živu, 98,5-101,2% u jetri i 100,2-103,8% u bubregu; za gvožđe, 91,1-93,3% u jetri i 94,1-97,3% u bubregu; za cink, 96-101% u jetri i 98-102% u bubregu; za bakar, 105-109% u jetri i 103-107% u bubregu; za mangan, 92,2-94,7% u jetri i 94,9-98,2% u bubregu; za hrom, 88-96% u jetri i 81-94% u bubregu; za nikal, 81-87% u jetri i 81,2-104% u bubregu.

Dobijeni rezultati prinosa za analizirane metale su bili u okviru preporučenih vrednosti (80-120%) za teške metale u analizi tkiva divljači, prema uputstvu kanadske službe za divljač i konzervaciju prirode (*Neugebauer i sar., 2000*).

Plan kontrole kvaliteta je predvideo i upotrebu sertifikovanog referentnog materijala BCR No.186 (liofilizovan bubreg svinje u formi homogenizovanog praha) sa sertifikovanim vrednostima datim u tabeli 9. Očitane vrednosti referentnog materijala su iznosile $\pm 10\%$ od sertifikovanih srednjih vrednosti. Čuvanje i postupanje sa sertifikovanim referentnim materijalom je bilo u skladu sa uputstvom za rukovanje. Za pripremu kontrolnih standarda odmeravano je 200 mg sertifikovanog referentnog materijala. Očitavanje standarda u okviru analize pojedinačnih metala vršeno je na kraju svake serije od 20 uzoraka.

Tabela 9. Sertifikovane vrednosti elemenata korišćenog CRM standarda (BCR No. 186 - Community Bureau of Reference)

element	sertifikovana vrednost	nesigurnost rezultata
Hg	1,97 $\mu\text{g/g}$	$\pm 0,04 \mu\text{g/g}$
Cd	2,71 $\mu\text{g/g}$	$\pm 0,15 \mu\text{g/g}$
Pb	0,306 $\mu\text{g/g}$	$\pm 0,011 \mu\text{g/g}$
Fe	299 $\mu\text{g/g}$	$\pm 10 \mu\text{g/g}$
Zn	128 $\mu\text{g/g}$	$\pm 3 \mu\text{g/g}$
Mn	8,5 $\mu\text{g/g}$	$\pm 0,3 \mu\text{g/g}$
Cu	31,9 $\mu\text{g/g}$	$\pm 0,4 \mu\text{g/g}$
Cr	58-142 $\mu\text{g/g}$	-
Ni	0,420 $\mu\text{g/g}$	-

RSD vrednosti (%) tri očitavanja za sve uzorke iznad limita detekcije korišćenih metoda je iznosila: Cd=3,9%, Pb=3,2%, Hg=2,5%, Fe= 1,8%, Zn=1.1%, Mn= 1,2% Cu=0.6%. Merna nesigurnost metoda je procenjivanja u skladu sa uputstvom U-034-00, dokumentovanog sistema kvaliteta Laboratorije za biotehnoška istraživanja i kontrolu bezbednosti i kvaliteta hrane, Instituta za higijenu i tehnologiju mesa, koja je akreditovana prema zahtevima SRPS ISO/IEC

17025:2006 i sertifikovana prema zahtevima standarda SRPS ISO 9001:2008. Proširena merna nesigurnost za ispitivane elemente je iznosila: Cd=17,4%, Pb=6,6%, Hg=7.6%, Fe= 26,8%, Zn=5.0%, Mn= 6,0% Cu=1.8%, Cr= 4,4% i Ni=11,2%.

Pored realizacije definisanog plana kontrole kvaliteta ispitivanja, Laboratorija redovno učestvuje u testovima provere osposobljenosti (PT- Proficiency Testing) u okviru definisanih pod-disciplina, sa ciljem eksterne provere kvaliteta ispitivanja i analitičkih performansi laboratorije. Rezultati u PT učešću za pod-disciplinu atomska absorpciona spektrofotometrija, metodama kojima su obavljena ispitivanja teških metala u tkivu divljeg zeca su bili uspešni, z skor <1 (IMEP-36, International Measurement Evaluation Programme) u organizaciji Evropskog Instituta za referentne materijale i merenja (Institute for Reference Materials and Measurements - IRMM, Geel - Belgija).

4.5. Statistička obrada

Statistička obrada rezultata je obavljena korišćenjem softverskog paketa MINITAB, verzija 16.1.0.0, Minitab Inc. © USA.

Podaci za ispitane teške metale su grupisani u skladu sa vrstom tkiva i teritorija sa kojih su uzorci sakupljeni, odnosno po starosnim grupama. Pre izbora odgovarajućeg statističkog testa, vršeno je određivanje najbolje individualne distribucije serija podataka (analizirano je 16 različitih distribucija) bazirano na najnižoj vrednosti *Anderson-Darling*-ovog koeficijenta i najvišom p vrednošću (iznad 0,05) za konačni izbor distribucije koja najbolje prati normalnu raspodelu. Nakon izbora najpogodnije distribucije, vršena je odgovarajuća transformacija podataka koja je najbolje sledila normalnu raspodelu (log-normalna, *Box-Cox*-ova, *Johnson*-ova i *Weibull*-ova).

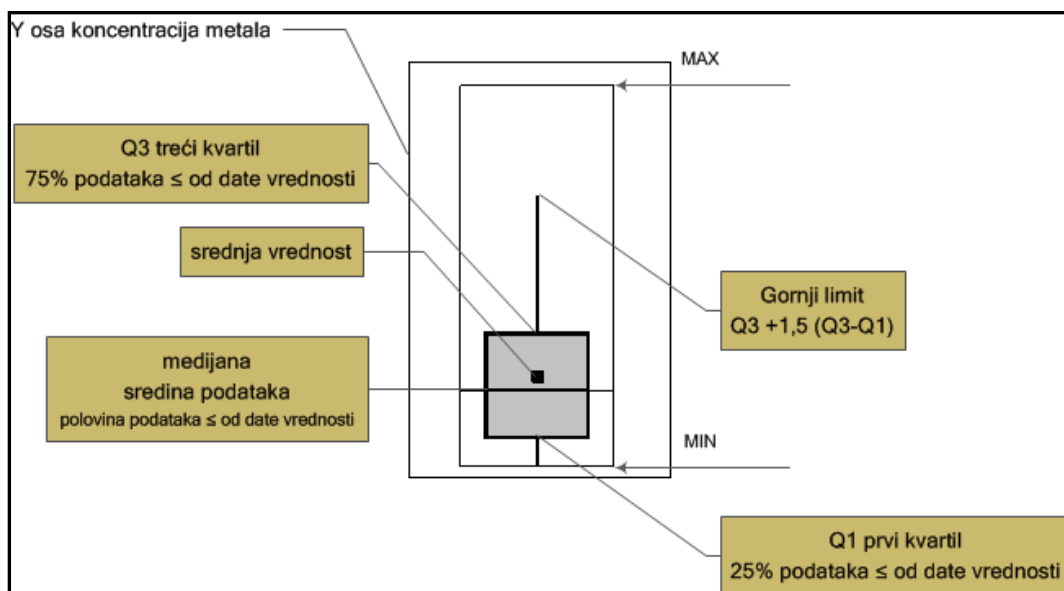
Analiza varijanse (*one way ANOVA*) je korišćena za određivanje značajnosti razlika srednjih vrednosti koncentracija metala u istom tkivu između lokaliteta kao i između različitih starosnih grupa, sa primenom *post hoc* testa (*post hoc Tukey HSD test*) u drugom stepenu, za poređenje svih parova uzoraka i definisanje statističkih razlika između konkretnih parova poređenih vrednosti. Za poređenje značajnosti razlika između srednjih vrednosti koncentracija metala u različitim tkivima, u okviru iste starosne grupe, korišćen je t-test za nezavisne uzorke (*two sample t-test*). Za poređenje podataka koji nisu sledili normalnu distribuciju korišćen je neparametrijski (*Kruskal Wallis test*) analize varijanse (*post hoc Mann-Whitney test*). Linearni regresioni model je korišćen za korelacije između elemenata. Značajnost korelacionih povezanosti između ispitanih metala u okviru istog ili različitog tkiva je određivana računanjem Pirsonovog (*Pearson*) korelacionog koeficijenta (P_s). Statistička značajnost je podešena za p vrednost manju od 0,05 (nivo poverenja od 95%). Za svaki ispitivani parameter dobijeni podaci su prikazani kroz srednje vrednosti, standardne devijacije, minimalne i maksimalne vrednosti. Za grafički prikaz dobijenih podataka, za sve ispitane uzorke po lokalitetima i starosnim grupama, korišćeni su pravougaoni (*box-plot*), odnosno matrix plot dijagrami. Za grafičku ilustraciju pojedinih linearnih zavisnosti između sadržaja metala u tkivima korišćeni su regresioni dijagrami sa matematičkom regresionom jednačinom između prikazanih varijabli (*Scatterplot diagram with fitted regression line*).

5. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

Rezultati dobijeni ispitivanjem teških metala u tkivima divljeg zeca prikazani su u tabelama 10 - 30.

Sadržaji teških metala u tkivima divljeg zeca: kadmijuma (Cd), olova (Pb), žive (Hg), gvožđa (Fe), cinka (Zn), mangana (Mn) i bakra (Cu) prikazani su po teritorijama lovačkih udruženja (LU 1-21) sa kojih su sakupljeni uzorci uključujući srednje vrednosti, standardne devijacije (SD), intervale nalaza (min-maks).

Distribucija vrednosti koncentracija pojedinačnih teških metala u tkivima, po teritorijama LU, odnosno starosnim grupama je grafički prikazana preko komponenti pravougaonih (box-plot) dijagrama (slika10.)



Slika 10. Komponente box-plot dijagrama

Svi rezultati su izraženi u mg/kg, računato na vlažnu masu uzorka.

5.1 Tabelarni prikazi sadržaja teških metala u tkivima divljeg zeca po teritorijama lovačkih udruženja

Tabela 10. Sadržaj teških metala* u tkivima zeca na teritoriji lovačkog udruženja LU Užice (n=10)

Tkivo bubreg/jetra	Teški metali (mg/kg)						
	Cd	Pb	Hg	Fe	Zn	Mn	Cu
min-maks.							
<i>Bubreg</i>	0,27-3,08	0,07**	0,008-0,062	29,5-186,4	20,46-30,79	0,99-4,12	2,75-4,40
<i>Jetra</i>	0,06-0,17	0,07-0,17	0,012-0,014	89,9-267,7	21,32-31,67	1,83-3,24	2,74-4,86
sr. vred.±SD							
<i>Bubreg</i>	1,50±0,84	0,07**	0,027±0,017	100,1±48,3	24,00±3,08	2,15±0,82	3,32±0,47
<i>Jetra</i>	0,12±0,04	0,11±0,06	0,013±0,001	144,7±51,7	26,01±2,99	2,45±0,57	3,72±0,60

* nije detektovano prisustvo Ni i Cr;

** detektovana samo jedna vrednost;

Tabela 11. Sadržaj teških metala* u tkivima zeca na teritoriji lovačkog udruženja LU - Bajina Bašta (n=6)

Tkivo bubreg/jetra	Teški metali (mg/kg)						
	Cd	Pb	Hg	Fe	Zn	Mn	Cu
min-maks.							
<i>Bubreg</i>	0,38-7,54	ND	0,027-0,074	39,6-155,1	19,32-31,50	0,92-2,10	2,35-3,71
<i>Jetra</i>	0,01-0,85	0,15**	0,008-0,020	89,5-273,8	18,62-26,36	0,16-3,46	0,38-7,54
sr. vred.±SD							
<i>Bubreg</i>	2,84±2,67	ND	0,054±0,017	103,1±45,6	22,94±4,40	1,62±0,53	3,00±0,49
<i>Jetra</i>	0,30±0,37	0,15**	0,013±0,005	171,8±61,9	23,40±3,47	1,64±1,47	2,84±2,67

* nije detektovano prisustvo Ni i Cr;

** detektovana samo jedna vrednost; ND-nije detektovano

Tabela 12. Sadržaj teških metala* u tkivima zeca na teritoriji lovačkog udruženja LU - Tamnavac - Ub (n=10)

Tkivo bubreg/jetra	Teški metali (mg/kg)						
	Cd	Pb	Hg	Fe	Zn	Mn	Cu
min-maks.							
<i>Bubreg</i>	0,64-4,97	0,25**	0,017-0,061	58,3-185,3	17,79-37,03	0,62-2,62	3,29-4,59
<i>Jetra</i>	0,05-0,45	0,06-0,30	0,006-0,018	81,5-258,4	17,30-33,48	1,82-4,13	3,24-4,68
sr. vred.±SD							
<i>Bubreg</i>	2,34±1,70	0,25**	0,032±0,014	104,2±45,8	24,95±6,02	1,24±0,63	3,90±0,40
<i>Jetra</i>	0,21±0,15	0,18±0,18	0,010±0,005	153,9±50,6	26,03±4,36	3,26±0,79	3,93±0,49

* nije detektovano prisustvo Ni i Cr;

** detektovana samo jedna vrednost;

Tabela 13. Sadržaj teških metala* u tkivima zeca na teritoriji lovačkog udruženja LU - Obrenovac - Grabovac (n=6)

Tkivo bubreg/jetra	Teški metali (mg/kg)						
	Cd	Pb	Hg	Fe	Zn	Mn	Cu
min-maks.							
<i>Bubreg</i>	0,18-5,12	0,08**	0,022-0,137	46,3-176,8	17,77-25,72	1,14-2,01	2,14-3,21
<i>Jetra</i>	0,05-0,32	0,17**	0,011-0,065	85,7-232,9	22,46-32,67	1,38-3,00	3,44-4,60
sr. vred.±SD							
<i>Bubreg</i>	2,94±1,66	0,08**	0,089±0,043	95,5±44,1	22,54±2,78	1,61±0,30	2,82±0,37
<i>Jetra</i>	0,23±0,11	0,17**	0,039±0,019	146,8±67,5	26,78±4,14	2,07±0,55	3,87±0,45

* nije detektovano prisustvo Ni i Cr;

** detektovana samo jedna vrednost;

Tabela 14. Sadržaj teških metala* u tkivima zeca na teritoriji lovačkog udruženja LU - Mladenovac (n=10)

Tkivo bubreg/jetra	Teški metali (mg/kg)						
	Cd	Pb	Hg	Fe	Zn	Mn	Cu
min-maks.							
<i>Bubreg</i>	0,15-2,97	ND	0,014-0,152	54,4-181,8	14,05-24,16	1,00-2,05	2,45-3,97
<i>Jetra</i>	0,02-0,33	0,06-0,43	0,011-0,065	89,0-269,2	18,73-28,04	1,36-3,67	2,66-5,17
sr. vred.±SD							
<i>Bubreg</i>	1,42±1,16	ND	0,052±0,047	120,1±36,9	18,52±3,41	1,46±0,31	3,14±0,41
<i>Jetra</i>	0,13±0,11	0,25±0,16	0,032±0,020	169,3±58,4	24,19±3,13	2,39±0,88	4,10±0,76

* nije detektovano prisustvo Ni i Cr;

** detektovana samo jedna vrednost;

Tabela 15. Sadržaj teških metala* u tkivima zeca na teritoriji lovačkog udruženja LU - Beograd (n=7)

Tkivo bubreg/jetra	Teški metali (mg/kg)						
	Cd	Pb	Hg	Fe	Zn	Mn	Cu
min-maks.							
<i>Bubreg</i>	0,50-5,36	0,06**	0,009-0,120	54,5-324,1	18,00-22,24	0,95-1,97	2,96-3,86
<i>Jetra</i>	0,08-0,32	0,06-0,28	0,009-0,029	62,1-313,1	15,47-26,89	0,98-3,30	0,92-6,13
sr. vred.±SD							
<i>Bubreg</i>	2,47±1,96	0,06**	0,044±0,045	144,2±88,2	20,70±1,47	1,60±0,38	3,42±0,28
<i>Jetra</i>	0,22±0,10	0,15±0,10	0,016±0,008	216,6±106,2	20,92±4,32	1,98±0,76	3,43±1,73

* nije detektovano prisustvo Ni i Cr;

** detektovana samo jedna vrednost;

Tabela 16. Sadržaj teških metala* u tkivima zeca na teritoriji lovačkog udruženja LU - Šabac (n=9)

Tkivo bubreg/jetra	Teški metali (mg/kg)						
	Cd	Pb	Hg	Fe	Zn	Mn	Cu
min-maks.							
<i>Bubreg</i>	0,66-5,30	ND	0,019-0,261	63,5-125,4	16,01-26,58	0,54-2,49	1,76-3,09
<i>Jetra</i>	0,04-0,35	ND	0,007-0,070	81,6-161,4	17,80-32,24	1,94-2,50	2,07-4,76
sr. vred.±SD							
<i>Bubreg</i>	2,27±1,54	ND	0,109±0,086	92,0±23,2	19,23±3,88	1,48±0,68	2,47±0,44
<i>Jetra</i>	0,18±0,10	ND	0,022±0,022	121,6±26,5	23,34±4,89	2,28±0,20	3,22±0,98

* nije detektovano prisustvo Ni i Cr;

** detektovana samo jedna vrednost;

Tabela 17. Sadržaj teških metala* u tkivima zeca na teritoriji lovačkog udruženja LU - Čičevac (n=7)

Tkivo bubreg/jetra	Teški metali (mg/kg)						
	Cd	Pb	Hg	Fe	Zn	Mn	Cu
min-maks.							
<i>Bubreg</i>	1,83-3,08	ND	0,014-0,051	53,3-91,5	19,59-23,83	1,40-2,23	3,16-4,23
<i>Jetra</i>	0,17-0,29	ND	0,009-0,020	153,1-164,7	22,00-28,75	1,50-2,06	2,90-4,02
sr. vred.±SD							
<i>Bubreg</i>	2,38±0,41	ND	0,035±0,015	64,83±16,52	22,13±1,55	1,83±0,30	3,71±0,37
<i>Jetra</i>	0,24±0,04	ND	0,013±0,004	153,59±8,15	24,87±2,27	1,77±0,20	3,36±0,36

* nije detektovano prisustvo Ni i Cr;

** detektovana samo jedna vrednost;

Tabela 18. Sadržaj teških metala* u tkivima zeca na teritoriji lovačkog udruženja LU - Kuršumlja (n=6)

Tkivo bubreg/jetra	Teški metali (mg/kg)						
	Cd	Pb	Hg	Fe	Zn	Mn	Cu
min-maks.							
<i>Bubreg</i>	0,16-2,00	ND	0,036-0,076	61,8-131,7	13,90-21,61	1,0-2,17	2,54-4,05
<i>Jetra</i>	0,01-0,14	0,06-0,23	0,009-0,015	48,3-213,5	23,62-27,65	2,22-3,14	3,42-4,80
sr. vred.±SD							
<i>Bubreg</i>	0,97±0,76	ND	0,061±0,016	93,3±23,6	16,95±2,64	1,61±0,45	3,08±0,59
<i>Jetra</i>	0,05±0,05	0,14±0,07	0,012±0,003	122,2±57,7	26,31±1,47	2,63±0,36	3,82±0,52

* nije detektovano prisustvo Ni i Cr;

** detektovana samo jedna vrednost;

Tabela 19. Sadržaj teških metala* u tkivima zeca na teritoriji lovačkog udruženja LU - Vranje (n=6)

Tkivo bubreg/jetra	Teški metali (mg/kg)						
	Cd	Pb	Hg	Fe	Zn	Mn	Cu
min-maks.							
<i>Bubreg</i>	0,53-5,07	0,06-0,15	0,016-0,075	42,0-155,1	17,91-22,88	0,66-2,42	2,52-3,64
<i>Jetra</i>	0,08-0,70	0,10-0,24	0,008-0,066	74,6-173,8	19,45-33,48	1,38-3,97	2,53-4,76
sr. vred.±SD							
<i>Bubreg</i>	3,11±2,10	0,11±0,06	0,051±0,027	88,4±38,5	21,48±1,94	1,85±0,66	2,98±0,37
<i>Jetra</i>	0,31±0,23	0,16±0,07	0,036±0,028	118,4±40,9	28,14±5,18	2,89±1,0	4,15±0,85

* nije detektovano prisustvo Ni i Cr;

Tabela 20. Sadržaj teških metala* u tkivima zeca na teritoriji lovačkog udruženja LU - Prokuplje (n=7)

Tkivo bubreg/jetra	Teški metali (mg/kg)						
	Cd	Pb	Hg	Fe	Zn	Mn	Cu
min-maks.							
<i>Bubreg</i>	0,09-0,95	0,06-0,09	0,009-0,027	37,6-101,2	12,56-20,39	1,45-4,28	1,34-4,36
<i>Jetra</i>	0,02-0,23	0,07-0,26	0,006-0,015	43,0-163,3	22,90-31,10	1,27-5,08	2,03-6,64
sr. vred.±SD							
<i>Bubreg</i>	0,44±0,36	0,07±0,01	0,020±0,007	74,9±24,9	21,48±1,94	2,16±0,95	2,81±1,10
<i>Jetra</i>	0,08±0,07	0,12±0,08	0,011±0,004	95,0±45,3	26,21±2,75	2,81±1,3	4,42±1,67

* nije detektovano prisustvo Ni i Cr;

Tabela 21. Sadržaj teških metala* u tkivima zeca na teritoriji lovačkog udruženja LU - Sonta - Apatin (n=7)

Tkivo bubreg/jetra	Teški metali (mg/kg)						
	Cd	Pb	Hg	Fe	Zn	Mn	Cu
min-maks.							
<i>Bubreg</i>	0,71-3,97	0,07-0,15	0,007-0,012	68,8-113,4	16,38-25,25	1,16-1,62	2,65-3,58
<i>Jetra</i>	0,22-0,38	0,39**	0,007-0,025	118,5-173,3	17,91-32,25	0,98-3,08	2,85-6,19
sr. vred.±SD							
<i>Bubreg</i>	2,76±1,15	0,12±0,04	0,010±0,002	88,2±14,9	21,0±2,81	1,46±0,16	3,27±0,36
<i>Jetra</i>	0,29±0,07	0,39**	0,014±0,006	138,8±18,5	23,14±6,11	1,73±0,85	4,02±1,37

* nije detektovano prisustvo Ni i Cr;

** detektovana samo jedna vrednost;

Tabela 22. Sadržaj teških metala* u tkivima zeca na teritoriji lovačkog udruženja LU - Aleksa Šantić - Sombor (n=9)

Tkivo bubreg/jetra	Teški metali (mg/kg)						
	Cd	Pb	Hg	Fe	Zn	Mn	Cu
min-maks.							
<i>Bubreg</i>	0,06-1,66	0,06-0,44	0,010-0,069	57,7-203,4	15,37-20,98	1,39-2,06	3,20-4,82
<i>Jetra</i>	0,01-0,19	0,06-0,35	0,007-0,059	44,8-253,3	14,72-27,88	0,90-3,26	1,36-5,81
sr. vred.±SD							
<i>Bubreg</i>	0,71±0,60	0,17±0,16	0,039±0,019	126,3±42,11	18,76±1,72	1,63±0,24	3,74±0,46
<i>Jetra</i>	0,05±0,06	0,23±0,16	0,017±0,018	149,3±68,1	21,89±4,44	1,98±0,78	3,90±1,39

* nije detektovano prisustvo Ni i Cr;

Tabela 23. Sadržaj teških metala* u tkivima zeca na teritoriji lovačkog udruženja LU - Sombor (n=9)

Tkivo bubreg/jetra	Teški metali (mg/kg)						
	Cd	Pb	Hg	Fe	Zn	Mn	Cu
min-maks.							
<i>Bubreg</i>	0,11-3,37	0,06-1,12	0,006-0,071	50,6-123,3	18,12-23,17	1,55-2,53	2,60-3,74
<i>Jetra</i>	0,01-0,25	0,07-1,72	0,015-0,057	64,4-186,3	15,54-31,09	0,93-4,11	0,73-5,28
sr. vred.±SD							
<i>Bubreg</i>	1,73±1,10	0,60±0,46	0,030±0,023	85,5±23,9	20,15±1,57	2,18±0,35	3,07±0,45
<i>Jetra</i>	0,12±0,08	0,51±0,66	0,038±0,019	110,4±40,2	24,67±4,92	2,65±0,90	3,74±1,39

* nije detektovano prisustvo Ni i Cr;

Tabela 24. Sadržaj teških metala* u tkivima zeca na teritoriji lovačkog udruženja LU - Novi Sad (n=6)

Tkivo bubreg/jetra	Teški metali (mg/kg)						
	Cd	Pb	Hg	Fe	Zn	Mn	Cu
min-maks.							
<i>Bubreg</i>	1,32-5,66	0,06-1,02	0,015-0,051	42,5-106,2	19,69-23,40	1,72-2,65	3,31-3,93
<i>Jetra</i>	0,16-0,35	0,10-0,51	0,010-0,068	65,2-122,7	25,66-35,18	1,70-3,77	5,98-9,34
sr. vred.±SD							
<i>Bubreg</i>	2,90±1,34	0,37±0,38	0,029±0,014	69,3±25,7	21,94±1,23	2,03±0,33	3,70±0,23
<i>Jetra</i>	0,25±0,06	0,23±0,16	0,030±0,023	99,9±21,6	29,98±3,84	2,77±0,74	7,49±1,38

* nije detektovano prisustvo Ni i Cr;

Tabela 25. Sadržaj teških metala* u tkivima zeca na teritoriji lovačkog udruženja LU - Pančevo (n=9)

Tkivo bubreg/jetra	Teški metali (mg/kg)						
	Cd	Pb	Hg	Fe	Zn	Mn	Cu
min-maks.							
<i>Bubreg</i>	0,56-3,72	0,06-0,24	0,006-0,086	69,0-141,5	14,53-19,52	1,14-1,60	2,25-3,60
<i>Jetra</i>	0,05-0,27	0,75**	0,006-0,033	78,0-160,6	19,18-32,87	1,35-3,65	2,75-6,94
sr. vred.±SD							
<i>Bubreg</i>	1,58±0,97	0,11±0,09	0,048±0,028	94,3±22,3	17,82±1,74	1,43±0,17	3,06±0,50
<i>Jetra</i>	0,16±0,08	0,75**	0,017±0,010	126,7±29,2	23,0±4,15	2,26±0,69	4,43±1,28

* nije detektovano prisustvo Ni i Cr;

** detektovana samo jedna vrednost;

Tabela 26. Sadržaj teških metala* u tkivima zeca na teritoriji lovačkog udruženja LU - Putinci (n=6)

Tkivo bubreg/jetra	Teški metali (mg/kg)						
	Cd	Pb	Hg	Fe	Zn	Mn	Cu
min-maks.							
<i>Bubreg</i>	0,29-2,23	0,06-0,20	0,013-0,137	74,2-163,6	18,48-26,23	1,21-2,04	3,46-4,43
<i>Jetra</i>	0,01-0,26	0,06-0,10	0,009-0,043	115,5-196,4	23,0-32,8	1,54-3,06	3,71-8,84
sr. vred.±SD							
<i>Bubreg</i>	1,41±0,69	0,12±0,07	0,061±0,047	119,3±32,0	21,9±2,51	1,87±0,32	3,84±0,36
<i>Jetra</i>	0,12±0,09	0,08±0,02	0,020±0,014	158,3±28,5	28,1±3,3	2,34±0,65	5,95±1,80

* nije detektovano prisustvo Ni i Cr;

Tabela 27. Sadržaj teških metala* u tkivima zeca na teritoriji lovačkog udruženja LU - Nikinci (n=9)

Tkivo bubreg/jetra	Teški metali (mg/kg)						
	Cd	Pb	Hg	Fe	Zn	Mn	Cu
min-maks.							
<i>Bubreg</i>	0,36-6,16	ND	0,018-0,128	100,1-178,4	19,51-22,63	0,65-4,50	2,99-4,07
<i>Jetra</i>	0,03-0,41	0,23**	0,014-0,040	76,0-177,9	19,62-30,40	1,06-2,43	3,18-4,07
sr. vred.±SD							
<i>Bubreg</i>	2,26±1,91	ND	0,055±0,036	138,9±29,4	21,5±1,0	1,62±1,15	3,41±0,32
<i>Jetra</i>	0,21±0,14	0,23**	0,026±0,010	116,1±34,9	25,1±3,2	1,67±0,41	3,64±0,34

* nije detektovano prisustvo Ni i Cr;

Tabela 28. Sadržaj teških metala* u tkivima zeca na teritoriji lovačkog udruženja LU - Buđanovci (n=6)

Tkivo bubreg/jetra	Teški metali (mg/kg)						
	Cd	Pb	Hg	Fe	Zn	Mn	Cu
min-maks.							
<i>Bubreg</i>	0,51-3,18	0,12-0,43	0,010-0,092	54,9-116,9	18,89-22,25	1,01-2,70	2,51-5,34
<i>Jetra</i>	0,04-0,29	0,15-0,43	0,007-0,022	87,5-166,9	22,44-28,83	1,69-2,95	3,87-6,74
sr. vred.±SD							
<i>Bubreg</i>	1,61±1,11	0,25±0,16	0,050±0,034	80,0±22,1	20,45±1,29	1,73±0,70	3,94±1,13
<i>Jetra</i>	0,14±0,10	0,28±0,12	0,014±0,007	122,1±32,0	25,77±2,72	2,42±0,51	4,89±0,98

* nije detektovano prisustvo Ni i Cr;

Tabela 29. Sadržaj teških metala* u tkivima zeca na teritoriji lovačkog udruženja LU - Mali Radinci (n=6)

Tkivo bubreg/jetra	Teški metali (mg/kg)						
	Cd	Pb	Hg	Fe	Zn	Mn	Cu
min-maks.							
<i>Bubreg</i>	0,09-1,30	ND	0,006-0,021	91,1-196,2	20,96-23,95	2,10-3,98	3,45-3,90
<i>Jetra</i>	0,01-0,21	0,15**	ND	105,7-165,0	24,96-29,91	2,51-4,38	4,01-8,06
sr. vred.±SD							
<i>Bubreg</i>	0,46±0,44	ND	0,012±0,07	140,9±33,8	22,41±1,17	3,04±0,81	3,73±0,18
<i>Jetra</i>	0,08±0,08	0,15**	ND	143,1±37,5	27,03±2,03	3,08±0,72	5,25±1,50

* nije detektovano prisustvo Ni i Cr;

** detektovana samo jedna vrednost;

Tabela 30. Sadržaj teških metala* u tkivima zeca na teritoriji lovačkog udruženja LU - Voganj (n=6)

Tkivo bubreg/jetra	Teški metali (mg/kg)						
	Cd	Pb	Hg	Fe	Zn	Mn	Cu
min-maks.							
<i>Bubreg</i>	0,20-1,59	0,07-0,49	0,012-0,071	80,9-176,9	20,59-22,37	1,16-2,12	3,11-3,72
<i>Jetra</i>	0,02-0,23	0,07-0,63	0,006-0,017	86,4-183,9	24,36-34,39	2,15-3,26	3,00-6,32
sr. vred.±SD							
<i>Bubreg</i>	0,60±0,58	0,16±0,18	0,034±0,022	134,9±35,2	21,84±0,70	1,69±0,38	3,33±0,22
<i>Jetra</i>	0,11±0,09	0,22±0,22	0,008±0,005	124,2±42,6	28,01±3,57	2,77±0,47	4,73±1,21

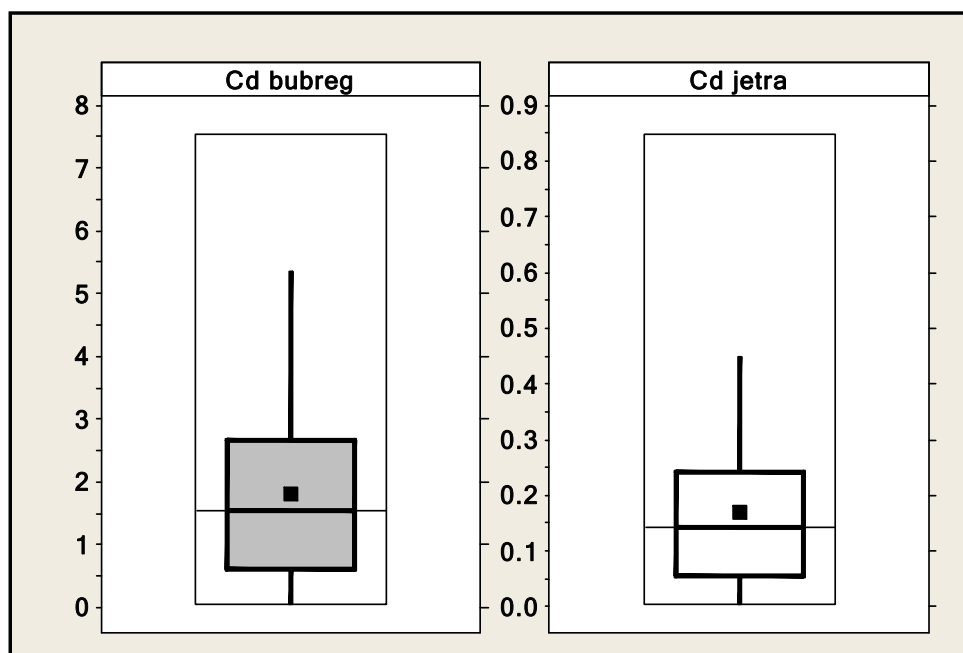
* nije detektovano prisustvo Ni i Cr;

5.2 Grafički prikaz i opis sadržaja kadmijuma u bubrezima i jetri divljeg zeca

Srednja vrednost sadržaja kadmijuma u bubrezima ispitanih jedinki (n =156) iznosila je 1,83 mg/kg (SD=1,48), (dijagram 1; Cd B). Maksimalna zabeležena koncentracija kadmijuma u bubrezima iznosila je 7,54 mg/kg, sa teritorije LU Bajina Bašta, jedinka starosti preko 3 godine (dijagram 2 - LU2) i dijagram 4. Minimalna vrednost koncentracije kadmijuma u bubrezima je iznosila 0,06 mg/kg, približno 12 puta viša od limita detekcije metode (Cd LOD: 0,005), zec starosti 3-6 meseci sa teritorije LU Aleksa Šantić (dijagram 2 - LU 13) i dijagram 4.

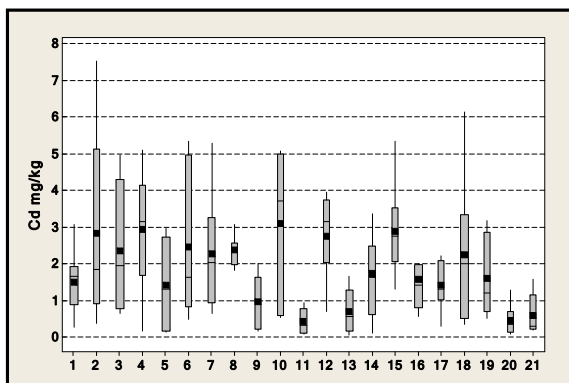
Srednja vrednost izmerenih koncentracija kadmijuma u jetri iznosila je 0,17 mg/kg (SD=0,14) (dijagram 1; Cd J). Maksimalna zabeležena koncentracija kadmijuma u jetri iznosila je 0,85 mg/kg, jedinka sa teritorije LU Bajina Bašta, starosti preko 3 godine (dijagram 3-LU2) u kojoj je takođe zabeležena najveća koncentracija kadmijuma u bubrezima. Minimalna vrednost koncentracije kadmijuma u jetri je iznosila 0,01 mg/kg, približno 2 puta viša od limita detekcije metode (Cd LOD: 0,005), zec starosti 24-36 meseci sa teritorije LU Ruma-Putinci (dijagram 3-LU17) i dijagram 5.

Kadmijum je registrovan u svim ispitanim uzorcima bubrega i jetre (100% ispitanih uzoraka).

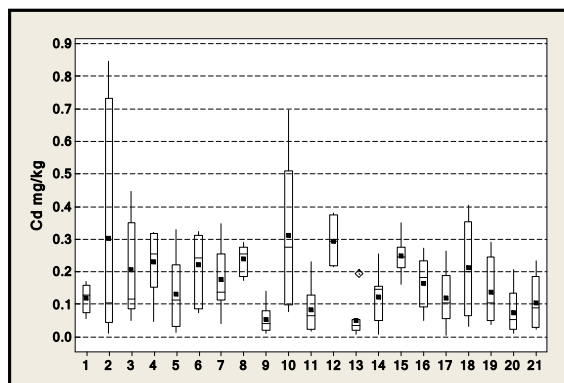


▪ srednja vrednost

Dijagram 1. Sadržaj kadmijuma u bubrezima (Cd B) i jetri (Cd J) ispitanih uzoraka tkiva divljeg zeca



■ srednja vrednost

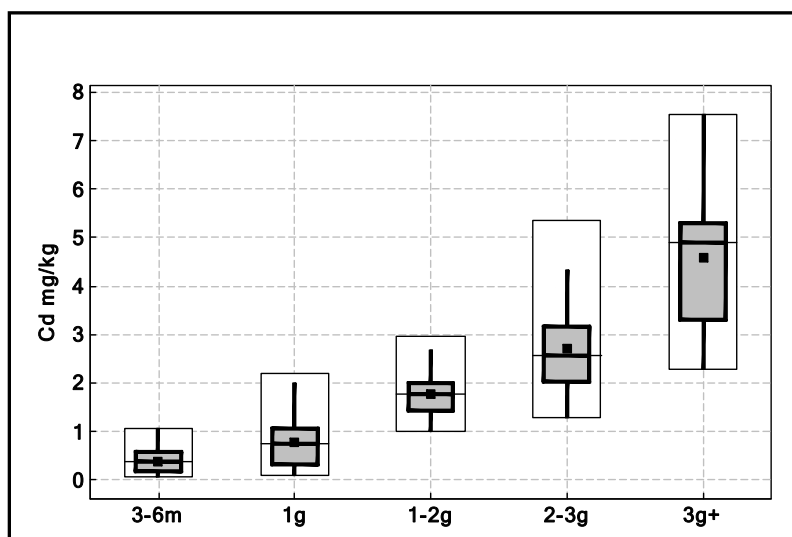


■ srednja vrednost

Dijagram 2. Sadržaj kadmijuma (Cd) u bubrezima zečeva (LU 1-21)

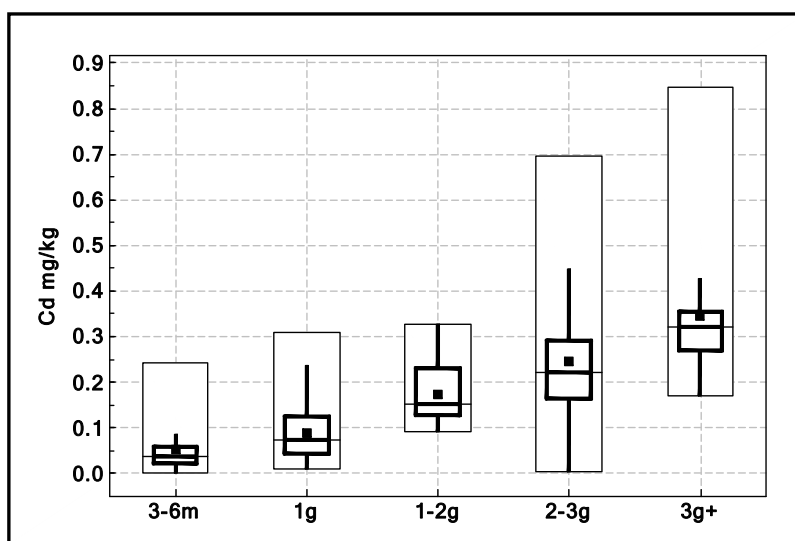
Dijagram 3. Sadržaj kadmijuma (Cd) u jetri zečeva (LU 1-21)

Koncentracije kadmijuma u bubrezima i jetri ispitanih jedinki po starosnim grupama (3-6 meseci, 1 godina, 1-2 godine, 3 godine i starijih od 3 godine) prikazane su u dijagramima 4 i 5. Srednje vrednosti sadržaja kadmijuma, gledano od najmlađih do najstarijih jedinki zeca, iznosile su za bubreg: 0,38 mg/kg; 0,79 mg/kg; 1,80 mg/kg; 2,72mg/kg i 4,58mg/kg, respektivno; za jetru: 0,05 mg/kg; 0,09 mg/kg; 0,18 mg/kg; 0,24mg/kg i 0,35mg/kg, respektivno.



■ srednja vrednost

Dijagram 4. Sadržaj kadmijuma (Cd) u bubrezima po starosnim grupama



▪ srednja vrednost

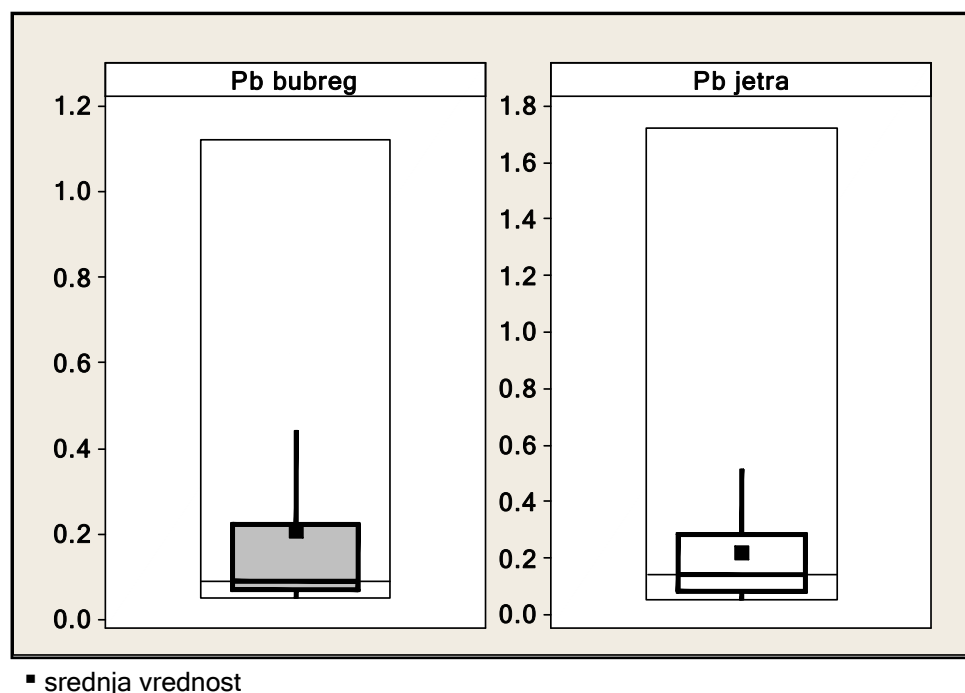
Dijagram 5. Sadržaj kadmijuma (Cd) u jetri po starosnim grupama

5.3 Grafički prikaz i opis sadržaja olova u bubrežima i jetri divljeg zeca

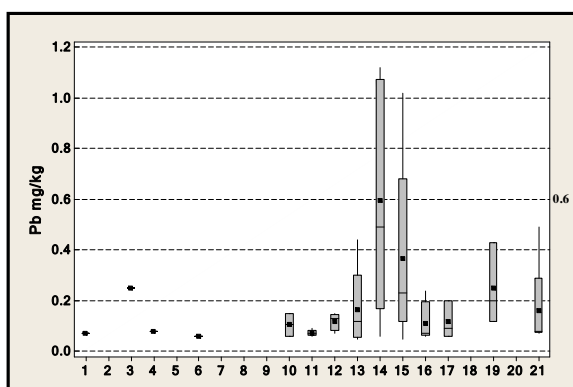
Srednja vrednost sadržaja olova u bubrežima ispitanih jedinki iznosila je 0,21 mg/kg (SD=0,26), (dijagram 6; PbB). Maksimalna koncentracija olova u bubrežima iznosila je 1,12 mg/kg, sa teritorije LU Sombor, jedinka starosti 2-3 godine (dijagram 7-LU14). Minimalna vrednost koncentracije olova u bubrežima je iznosila 0,06 mg/kg (Pb LOD: 0,05 mg/kg). Ove vrednosti koncentracija registrovane su u 2 jedinke, i to starosti 3-6 meseci sa teritorije LU Aleksa Šantić (dijagram 7 - LU13) i 2-3 godine sa teritorije LU Novi Sad (dijagram 7 - LU15).

Srednja vrednost izmerenih koncentracija olova u jetri iznosila je 0,22 mg/kg (SD=0,25), (dijagram 6; PbJ). Maksimalna koncentracija olova u jetri (1,72 mg/kg) registrovana je u jedinki divljeg zeca sa teritorije LU Sombor (dijagram 8-LU14), starosti između 2-3 godine, u kojoj je, takođe, zabeležena najveća koncentracija olova u bubrežima. Minimalna vrednost koncentracije kadmijuma u jetri je iznosila 0,06 mg/kg. Ova vrednost zabeležena je u jedinkama starosti između 3-6 meseci, 1 godinu i 2-3 godine, sa teritorija LU Tamnavac- Ub; LU Mladenovac; LU Aleksa Šantić i LU Putinci, respektivno (dijagram 9 - LU 3, LU 5, LU 13 i LU 17).

Olovo je registrovano u 45 uzoraka bubrega, što iznosi 29% od ukupnog broja ispitanih uzoraka, odnosno u 64 uzorka jetre (41%).

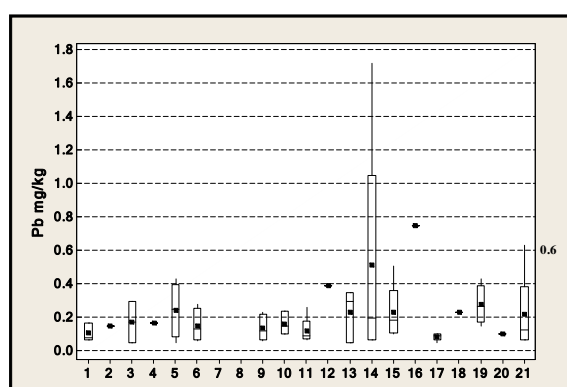


Dijagram 6. Sadržaj olova u bubrezima (Pb B) i jetri (Pb J) ispitanih uzoraka tkiva divljeg zeca



■ srednja vrednost

Dijagram 7. Sadržaj olova (Pb) u bubrezima zečeva (LU 1-21)

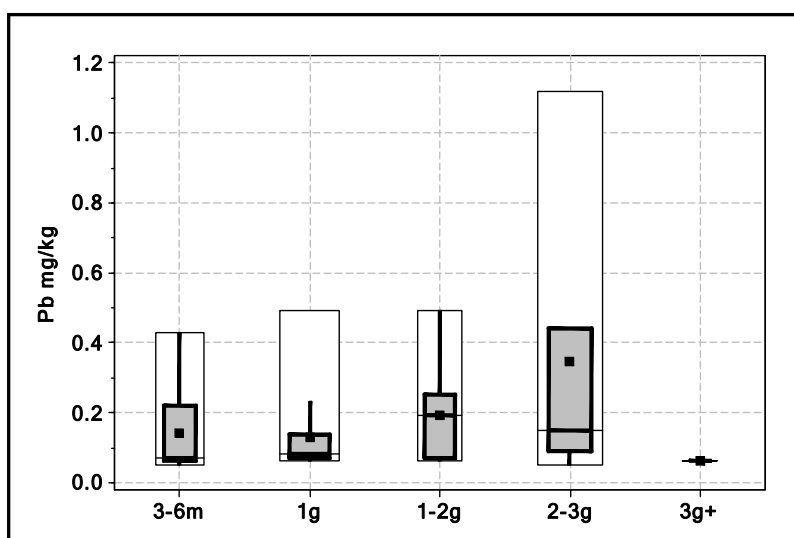


■ srednja vrednost

Dijagram 8. Sadržaj olova (Pb) u jetri zečeva (LU 1-21)

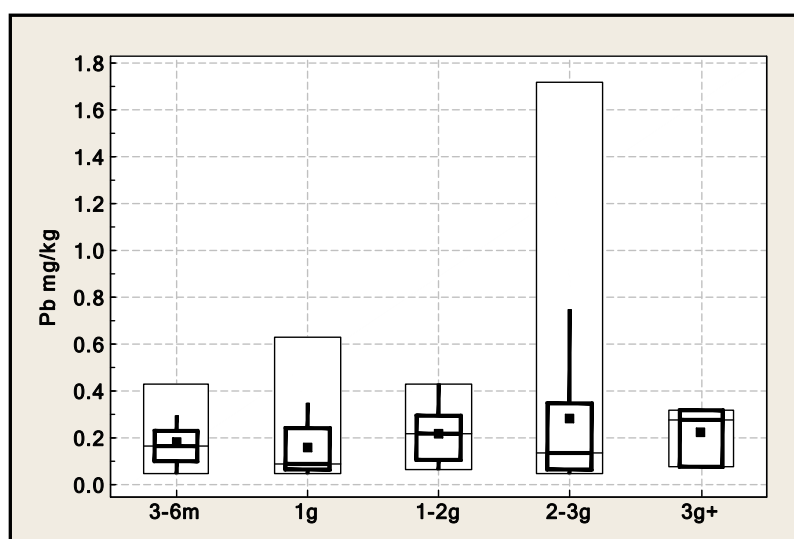
Koncentracije olova u bubrezima i jetri ispitanih jedinki po starosnim grupama (3-6 meseci, 1 godina, 1-2 godine, 3 godine i starijih od 3 godine) prikazane su u dijagramima 9 i 10. Gledano po starosnim grupama, udeo registrovanog olova u bubrezima iznosio je: u najmlađoj starosnoj grupi, 3-6 meseci, 32% uzoraka od ukupnog broja ($n=28$; $n_{\text{reg}}=9$); u grupi starosti do

godinu dana, 32% (n=41; n_{reg} =13); u grupi starosti od 1-2 godine, 27% (n=22; n_{reg} =6); u grupi starosti od 2-3 godine, 29% (n=51; n_{reg} =15); u najstarijoj grupi preko 3 godine starosti, od ukupno ispitanih 14 jedinki, olovo je registrovano samo u jednom uzorku divljeg zeca u koncentraciji 0,06 mg/kg (dijagram 9). Udeo registrovanog olova u jetri u odnosu na ukupan ispitan broj uzoraka iznosio je: u najmlađoj starosnoj grupi, 3-6 meseci, 39% (n=28; n_{reg} =11); u grupi starosti do godinu dana, 44% (n=41; n_{reg} =18); u grupi starosti od 1-2 godine, 46% (n=22; n_{reg} =10); u grupi starosti od 2-3 godine, 42% (n=51; n_{reg} =21); u najstarijoj grupi preko 3 godine starosti, od ukupno ispitanih 14 jedinki, olovo je registrovano u 3 uzorka jetre divljeg zeca u opsegu koncentracija od 0,08-0,32 mg/kg (dijagram 10).



▪ srednja vrednost

Dijagram 9. Sadržaj olova (Pb) u bubrezima po starosnim grupama



▪ srednja vrednost

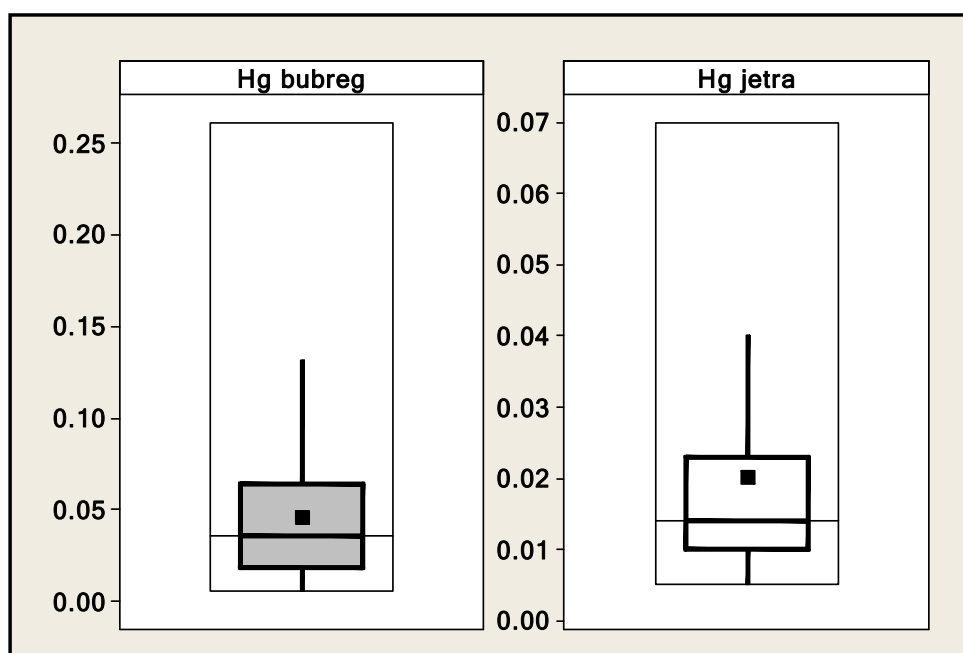
Dijagram 10. Sadržaj olova (Pb) u jetri po starosnim grupama

5.4 Grafički prikaz i opis sadržaja žive u bubrezima i jetri divleg zeca

Srednja vrednost sadržaja žive u bubrezima ispitanih jedinki iznosila je 0,046 mg/kg (SD=0,039), (dijagram 11; HgB). Maksimalna koncentracija žive u bubrezima iznosila je 0,261 mg/kg (dijagram 11) sa teritorije LU Šabac (dijagram 12-LU7), jedinka starosti 2-3 godine (dijagram 14). Minimalna vrednost koncentracije žive u bubrezima je iznosila 0,006 mg/kg (Hg LOD: 0,005) registrovana u zecu starosti 12 meseci sa teritorije LU Sombor i zecu starosti 2-3 godine sa teritorije LU Mali Radinci (dijagram 12 - LU 14, LU 20); (dijagram 15).

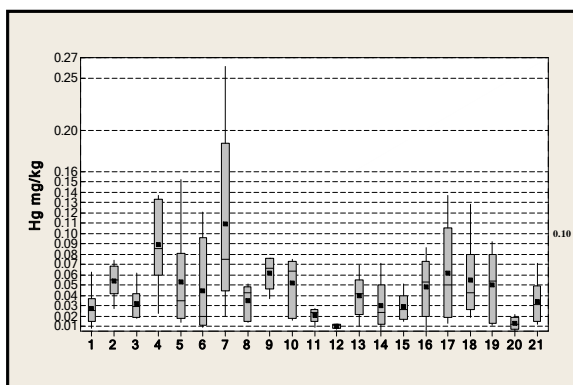
Srednja vrednost izmerenih koncentracija žive u jetri iznosila je 0,020 mg/kg (SD=0,016), (dijagram 11; HgJ). Maksimalna koncentracija žive u jetri iznosila je 0,068 mg/kg, jedinka starosti preko 3 godine sa teritorije LU Novi Sad, (dijagram 13-LU15). Minimalna vrednost koncentracije žive u jetri je iznosila 0,006 mg/kg i registrovana je kod zečeva različite starosne dobi i to: 1 godinu starosti sa teritorije LU Tamnavac-Ub i LU Prokuplje, 1-2 godine sa teritorije LU Pančevo i 2-3 godine sa teritorije LU Voganj (dijagram 14-LU3, LU11, LU16, LU21), (dijagram 15).

Živa je registrovana u 97% ispitanih uzoraka bubrega i 78% ispitanih uzoraka jetre.



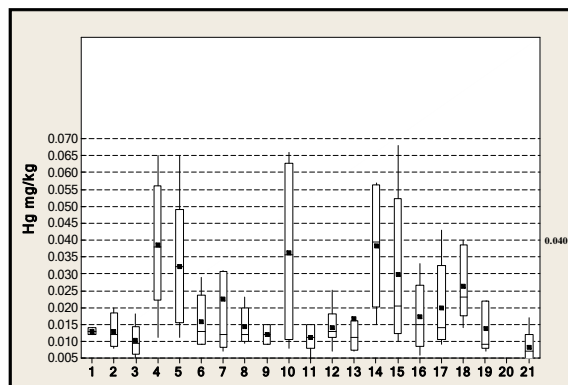
▪ srednja vrednost

Dijagram 11. Sadržaj žive u bubrezima (Hg B) i jetri (Hg J) ispitanih uzoraka tkiva divljeg zeca



▪ srednja vrednost

Dijagram 12. Sadržaj žive (Hg) u bubrezima zečeva (LU 1-21)

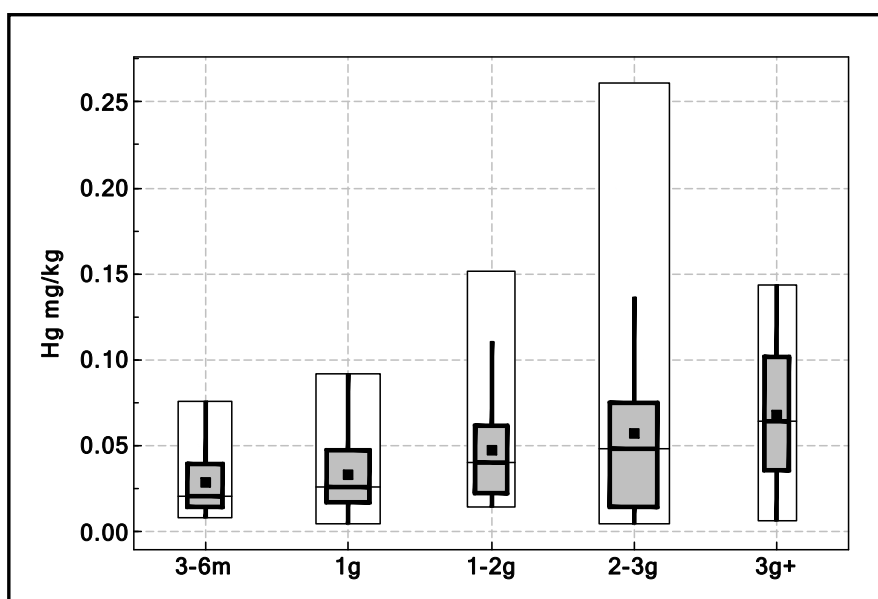


▪ srednja vrednost

Dijagram 13. Sadržaj žive (Hg) u jetri zečeva (LU 1-21)

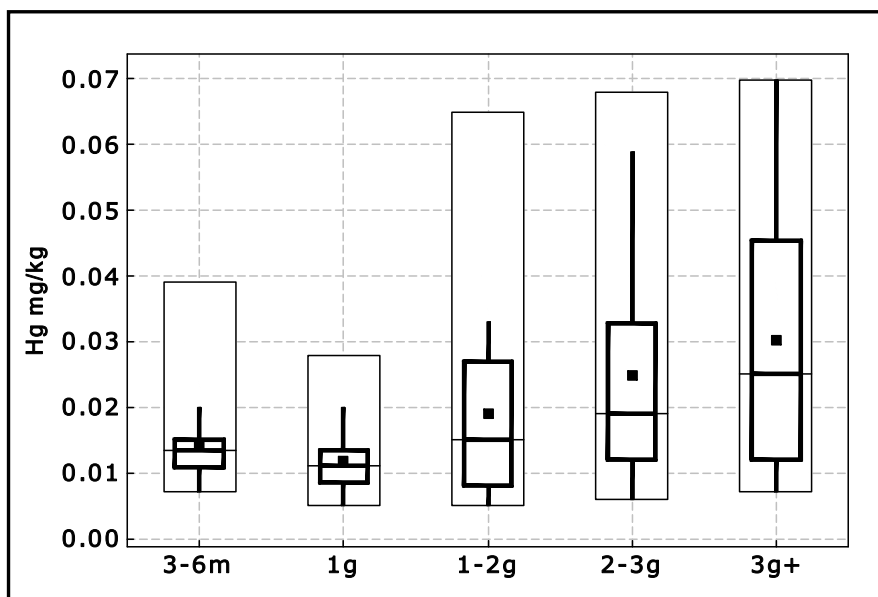
Gledano po starosnim grupama živa u bubrezima nije registrovana u svega tri jedinice zeca starosti 3-6 meseci i jednom zecu starosti godinu dana. Udeo registrovane žive u jetri, u odnosu na ukupan broj ispitanih uzoraka, iznosio je: u najmlađoj starosnoj grupi starosti 3-6 meseci, 64% ($n=28$; $n_{\text{reg}}=18$); u grupi starosti do godinu dana, 71% ($n=41$; $n_{\text{reg}}=29$); u grupi starosti od 1-2 godine, 73% ($n=22$; $n_{\text{reg}}=16$); u grupi starosti od 2-3 godine, 90% ($n=51$; $n_{\text{reg}}=46$). U najstarijoj grupi preko 3 godine starosti, od ukupno ispitanih 14 jedinki, živa je registrovana u svim uzorcima jetre, 100%.

Koncentracije žive u bubrezima i jetri ispitanih jedinki po starosnim grupama (3-6 meseci, 1 godina, 1-2 godine, 3 godine i starijih od 3 godine) prikazane su u dijagramima 15 i 16. Srednje vrednosti sadržaja žive gledano po starosnoj strukturi zeca, iznosile su za bubrege: 0,029 mg/kg; 0,034 mg/kg; 0,048 mg/kg; 0,057 mg/kg i 0,068 mg/kg, respektivno; za jetru: 0,014 mg/kg; 0,012 mg/kg; 0,020 mg/kg; 0,025 mg/kg i 0,030 mg/kg, respektivno.



▪ srednja vrednost

Dijagram 14. Sadržaj žive (Hg) u bubrezima zečeva po starosnim grupama



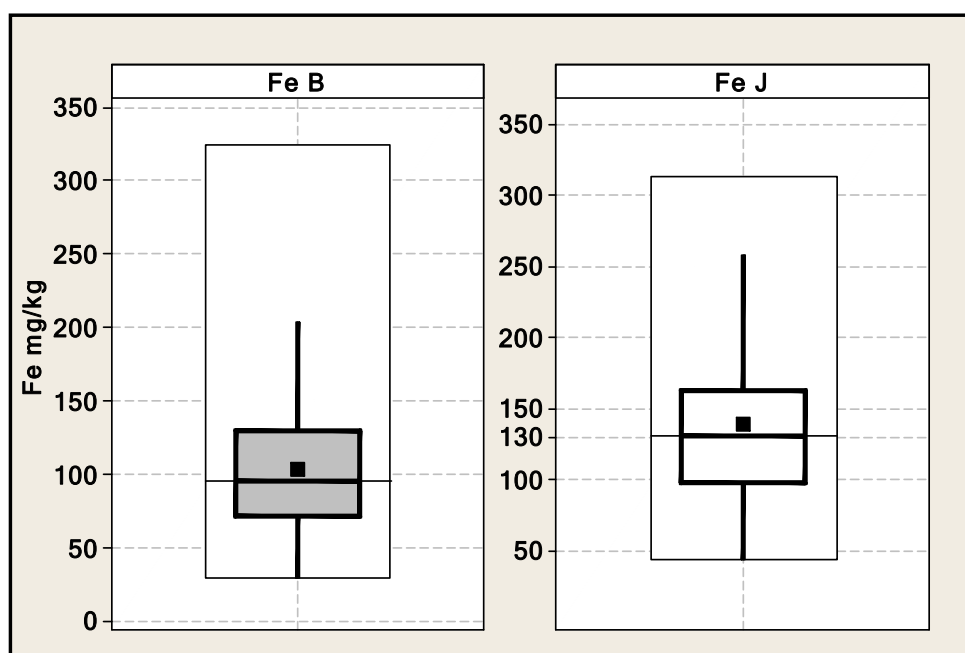
▪ srednja vrednost

Dijagram 15. Sadržaj žive (Hg) u jetri zečeva po starosnim grupama

5.5 Grafički prikaz i opis sadržaja gvožđa u bubrezima i jetri divljeg zeca

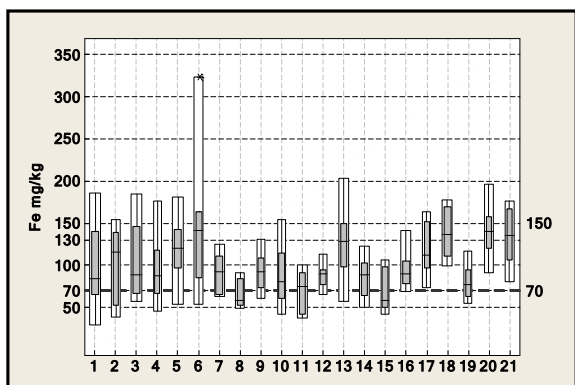
Srednja vrednost sadržaja gvožđa u bubrezima ispitanih jedinki iznosila je 103,32 mg/kg (SD=42,1), (dijagram 16; FeB). Maksimalna koncentracija gvožđa u bubrezima iznosila je 324,1 mg/kg (dijagram 16), u zecu sa teritorije LU Beograd (dijagram 17-LU6), jedinka starosti godinu dana (dijagram 19). Minimalna vrednost koncentracije gvožđa u bubrezima je iznosila 29,5 mg/kg (dijagram 16) i bila je registrovana u zecu starosti 3-6 meseci, sa teritorije LU Užice (dijagram 17 - LU1 i dijagram 19-B 3-6m).

Srednja vrednost izmerenih koncentracija gvožđa u jetri iznosila je 138,5 mg/kg (SD=52,7) (dijagram 16; FeJ). Maksimalna zabeležena koncentracija gvožđa u jetri iznosila je 313,1 mg/kg, jedinka starosti godinu dana sa teritorije LU Beograd, (dijagram 17-LU6). Minimalna vrednost koncentracije gvožđa u jetri je iznosila 43,0 mg/kg i registrovana je kod jedinke zeca starosti jedne godine sa teritorije LU Prokuplje (dijagram 18-LU11 i dijagram 19-J1g);

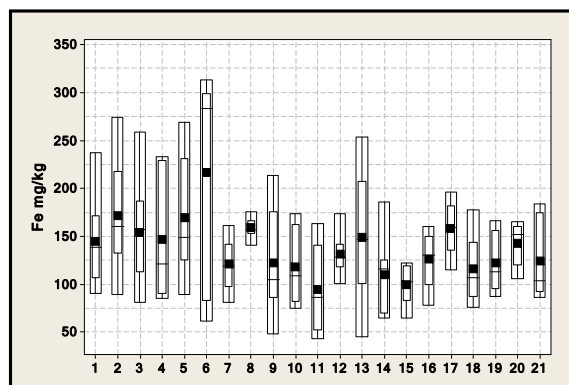


▪ srednja vrednost

Dijagram 16. Sadržaj gvožđa (Fe) u bubrezima (Fe B) i jetri (Fe J) ispitanih uzoraka tkiva divljeg zeca

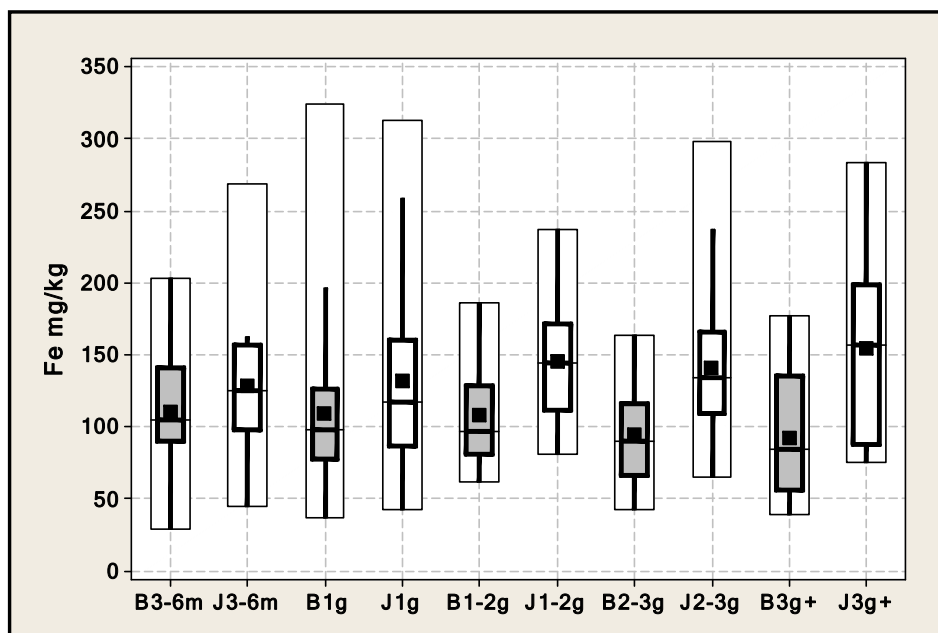


▪ srednja vrednost
Dijagram 17. Sadržaj gvožđa (Fe) u bubrežima zečeva (LU 1-21)



▪ srednja vrednost
Dijagram 18. Sadržaj gvožđa (Fe) u jetri zečeva (LU 1-21)

Koncentracije gvožđa u bubrežima i jetri ispitanih jedinki po starosnim grupama (3-6 meseci, 1 godina, 1-2 godine, 3 godine i starijih od 3 godine) prikazane su u dijagramu 19. Srednje vrednosti sadržaja gvožđa iznosile su za bubrege: 110,2 mg/kg; 109,2 mg/kg; 107,9 mg/kg; 94,5 mg/kg i 92,5 mg/kg, respektivno; za jetru: 128,7 mg/kg; 132,0 mg/kg; 145,6 mg/kg; 140,7 mg/kg i 155,0 mg/kg, respektivno.



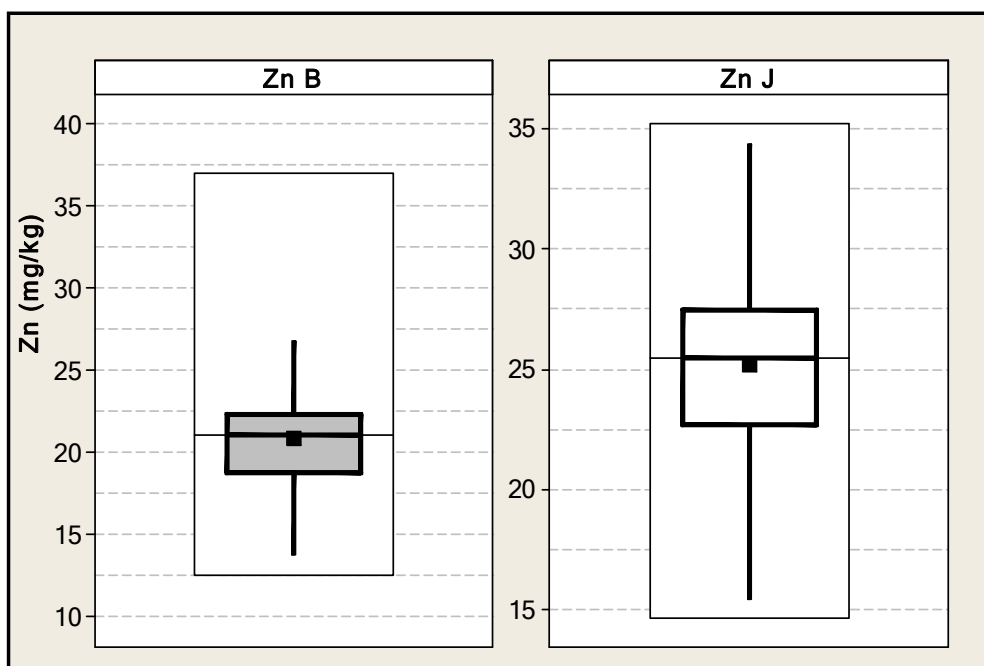
▪ srednja vrednost

Dijagram 19. Sadržaj gvožđa (Fe) u bubrežima i jetri zečeva po starosnim grupama

5.6 Grafički prikaz i opis sadržaja cinka u bubrezima i jetri divljeg zeca

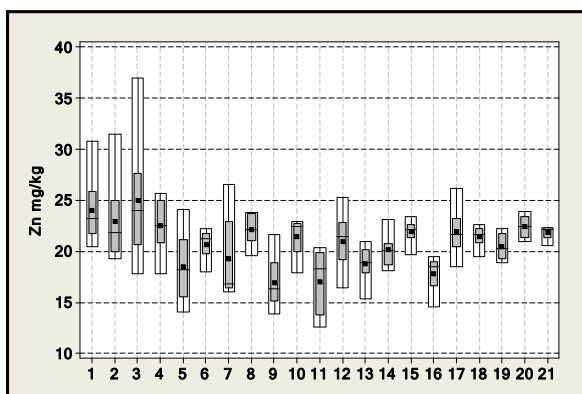
Srednja vrednost sadržaja cinka u bubrezima ispitanih jedinki iznosila je 20,85 mg/kg (SD=3,46), (dijagram 20; ZnB). Maksimalna koncentracija cinka u bubrezima iznosila je 37,03 mg/kg (dijagram 20), u zecu sa teritorije LU Tamnavac-Ub (dijagram 21-LU3), jedinka starosti preko 3 godine (dijagram 23). Minimalna vrednost koncentracije cinka u bubrezima je iznosila 12,56 mg/kg (dijagram 20; ZnB) i bila je registrovana u zecu starosti jedne godine, sa teritorije LU Prokuplje (dijagram 21 - LU11 i dijagram 23-B1g).

Srednja vrednost izmerenih koncentracija cinka u jetri iznosila je 25,18 mg/kg (SD=4,20) (dijagram 20; ZnJ). Maksimalna koncentracija cinka u jetri iznosila je 35,18 mg/kg, jedinka starosti 2-3 godine sa teritorije LU Novi Sad (dijagram 22-LU15). Minimalna vrednost koncentracije cinka u jetri je iznosila 14,72 mg/kg i registrovana je kod zeca starog 3-6 meseci sa teritorije LU Aleksa Šantić (dijagram 22-LU13 i dijagram 23-J 3-6m).



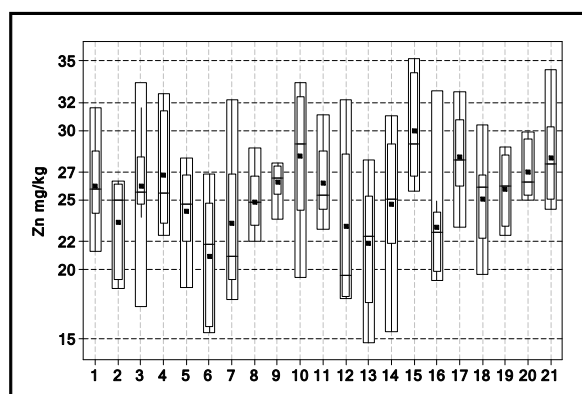
▪ srednja vrednost

Dijagram 20. Sadržaj cinka (Zn) u bubregu (Zn B) i jetri (Zn J) ispitanih uzoraka tkiva divljeg zeca



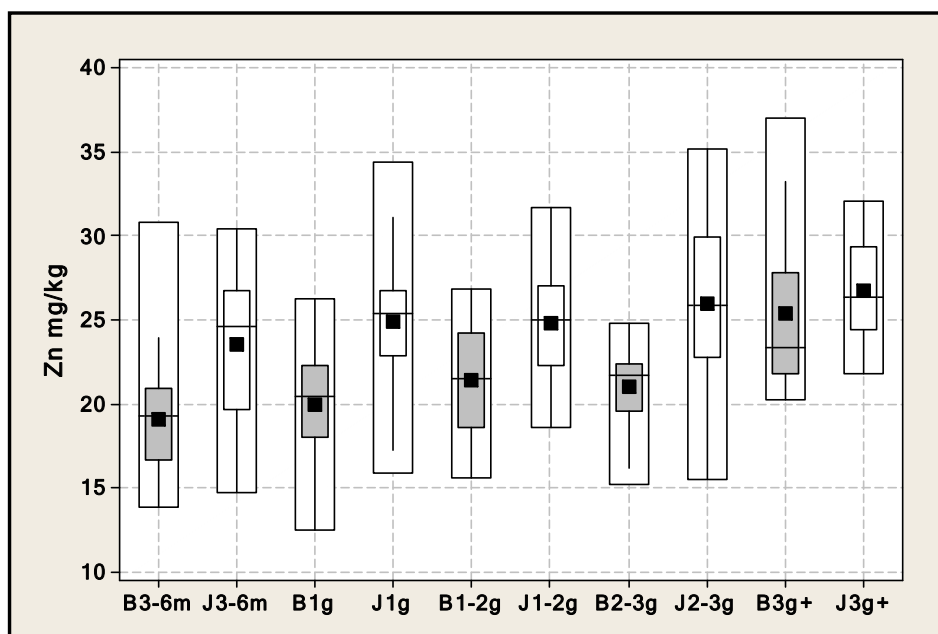
▪ srednja vrednost

Dijagram 21. Sadržaj cinka (Zn) u bubrežima zečeva (LU 1-21)



▪ srednja vrednost

Dijagram 22. Sadržaj cinka (Zn) u jetri zečeva (LU 1-21)



▪ srednja vrednost

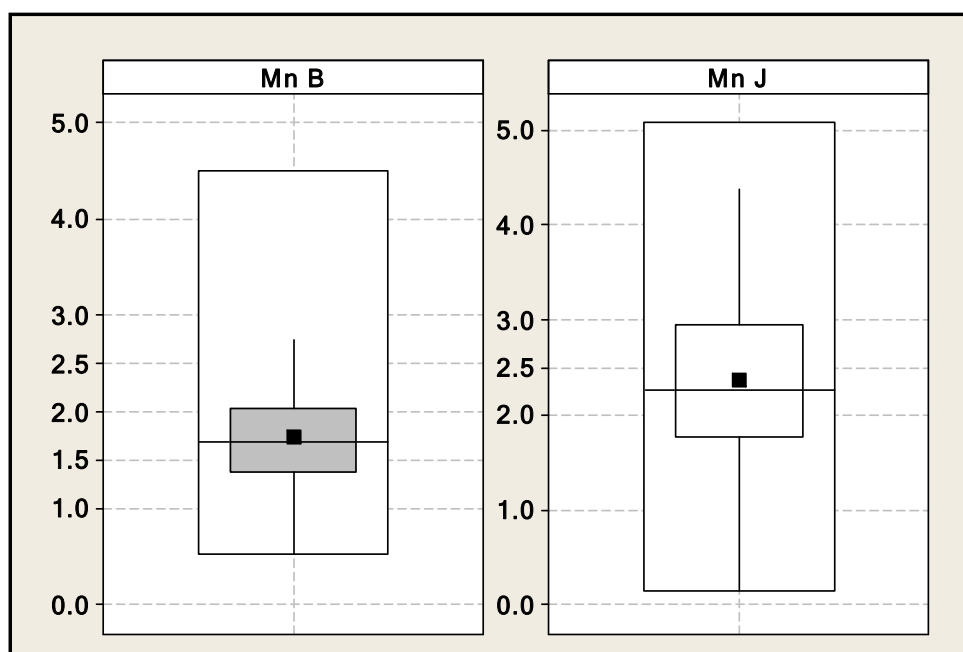
Dijagram 23. Sadržaj cinka (Zn) u bubrežima i jetri zečeva po starosnim grupama

Koncentracije cinka u bubrežima i jetri ispitanih jedinki po starosnim grupama (3-6 meseci, 1 godina, 1-2 godine, 3 godine i starijih od 3 godine) prikazane su u dijagramu 24. Srednje vrednosti sadržaja cinka iznosile su, za bubrež: 19,10 mg/kg; 19,95 mg/kg; 21,41 mg/kg; 21,0 mg/kg i 25,38 mg/kg, respektivno; za jetru: 23,52 mg/kg; 24,93 mg/kg; 24,78 mg/kg; 25,99 mg/kg i 26,76 mg/kg, respektivno.

5.7 Grafički prikaz i opis sadržaja mangana u bubrezima i jetri divljeg zeca

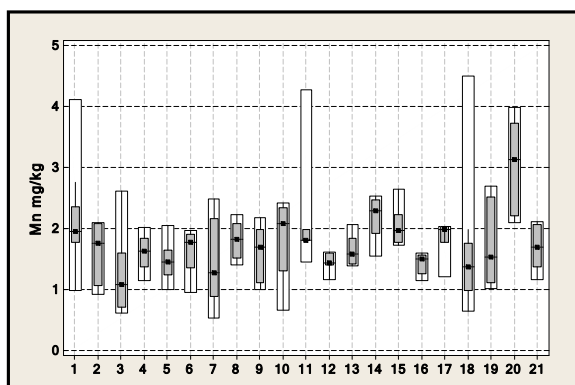
Srednja vrednost sadržaja mangana u bubrezima ispitanih jedinki iznosila je 1,75 mg/kg (SD=0,66), (dijagram 24; MnB). Maksimalna izmerena koncentracija mangana u bubrezima iznosila je 4,50 mg/kg (dijagram 24) u zecu sa teritorije LU Nikinci (dijagram 25-LU18), jedinka starosti 3-6 meseci (dijagram 27-B 3-6m). Minimalna izmerena vrednost koncentracije mangana u bubrezima je iznosila 0,54 mg/kg (dijagram 25; MnB) i bila je registrovana u zecu starosti 2-3 godine, sa teritorije LU Šabac (dijagram 26 - LU7 i dijagram 27-B 2-3g).

Srednja vrednost izmerenih koncentracija mangana u jetri iznosila je 2,36 mg/kg (SD=0,85), (dijagram 24; MnJ). Maksimalna zabeležena koncentracija mangana u jetri iznosila je 5,08 mg/kg, jedinka starosti godinu dana sa teritorije LU Prokuplje (dijagram 26-LU11 i dijagram 27-J1g). Minimalna vrednost koncentracije mangana u jetri je iznosila 0,16 mg/kg i registrovana je kod zeca starijeg od 3 godine sa teritorije LU Bajina Bašta (dijagram 26-LU2 i dijagram 27- J3g+).



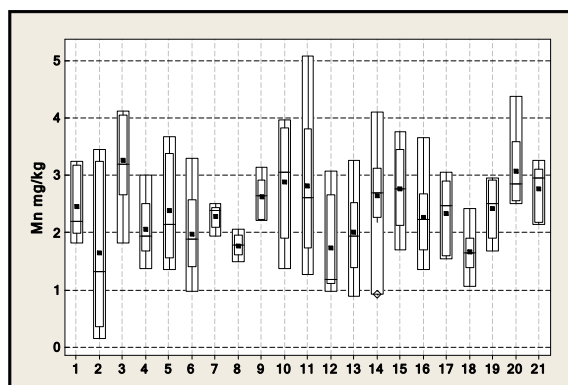
▪ srednja vrednost

Dijagram 24. Sadržaj mangana (Mn) u bubregu (Mn B) i jetri (Mn J) ispitanih uzoraka tkiva divljeg zeca



▪ srednja vrednost

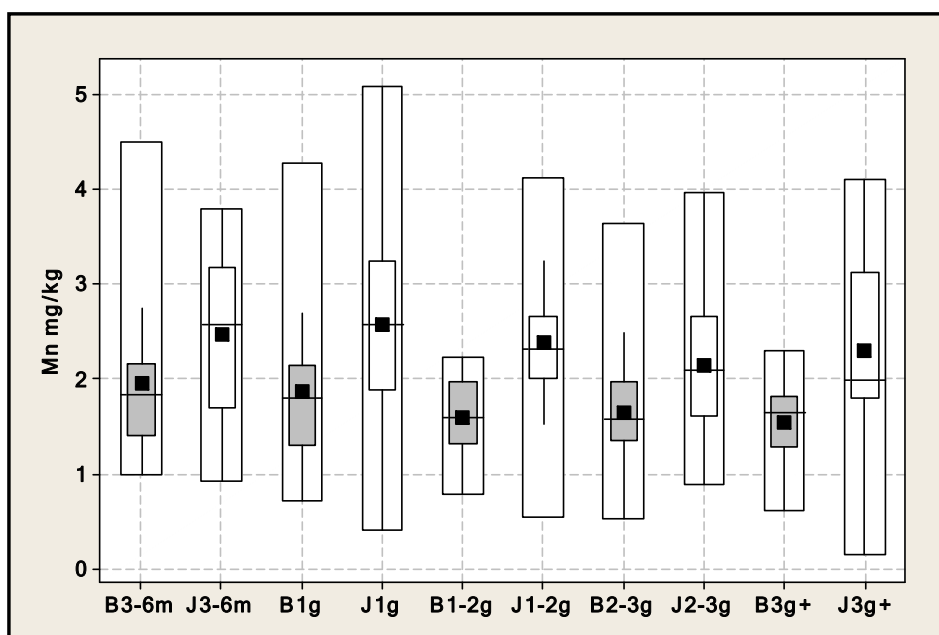
Dijagram 25. Sadržaj mangana (Mn) u bubrezima zečeva (LU 1-21)



▪ srednja vrednost

Dijagram 26. Sadržaj mangana (Mn) u jetri zečeva (LU 1-21)

Koncentracije mangana u bubrezima i jetri ispitanih jedinki po starosnim grupama (3-6 meseci, 1 godina, 1-2 godine, 3 godine i starijih od 3 godine) prikazane su u dijagramu 27. Srednje vrednosti sadržaja mangana iznosile su, za bubreg: 1,96 mg/kg; 1,88 mg/kg; 1,59 mg/kg; 1,65 mg/kg i 1,55 mg/kg, respektivno; za jetru: 2,47 mg/kg; 2,58 mg/kg; 2,39 mg/kg; 2,15 mg/kg i 2,30 mg/kg, respektivno.



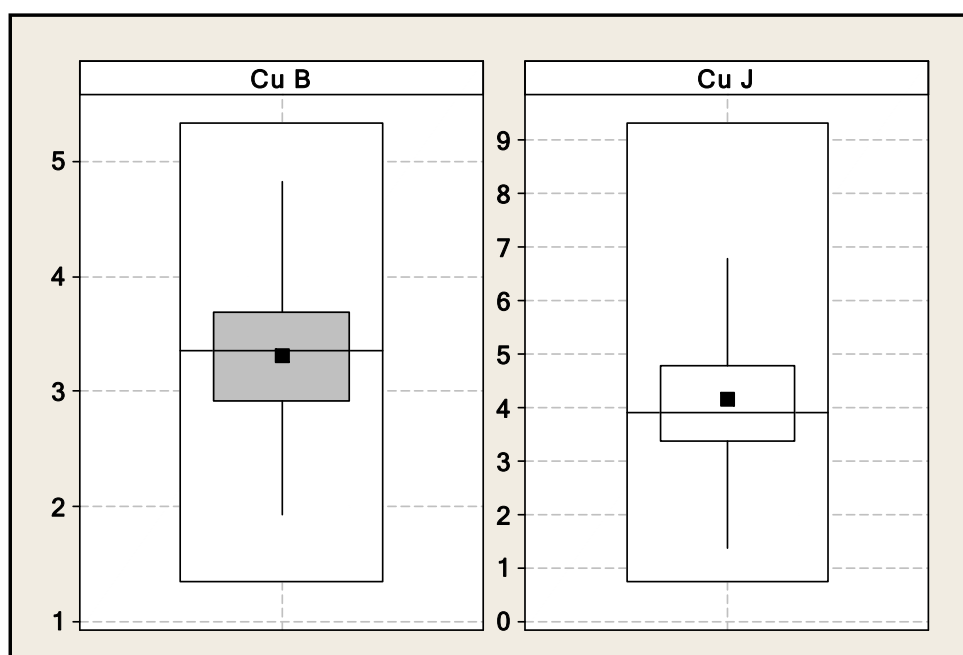
▪ srednja vrednost

Dijagram 27. Sadržaj mangana (Mn) u bubrezima i jetri zečeva po starosnim grupama

5.8 Grafički prikaz i opis sadržaja bakra u bubrezima i jetri divljeg zeca

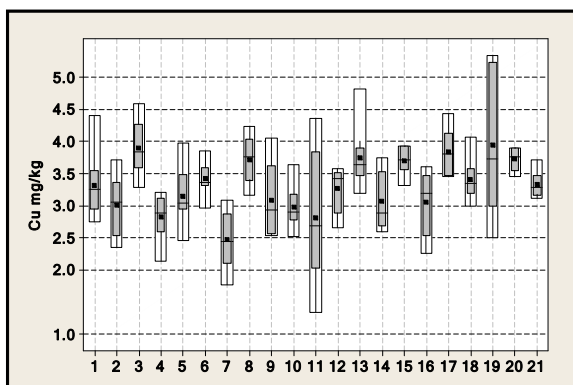
Srednja vrednost sadržaja bakra u bubrezima ispitanih jedinki iznosila je 3,32 mg/kg (SD=0,62) (dijagram 28; CuB). Maksimalna izmerena koncentracija bakra u bubrezima iznosila je 5,34 mg/kg (dijagram 28), u zecu sa teritorije LU Buđanovci (dijagram 29-LU19), jedinka starosti godinu dana (dijagram 31-B1g). Minimalna izmerena vrednost koncentracije bakra u bubrezima je iznosila 1,34 mg/kg (dijagram 28; CuB) i bila je registrovana u zecu starosti godinu dana, sa teritorije LU Prokuplje (dijagram 30-LU11 i dijagram 31-B1g).

Srednja vrednost izmerenih koncentracija bakra u jetri iznosila je 4,16 mg/kg (SD=1,40), (dijagram 28; MnJ). Maksimalna zabeležena koncentracija bakra u jetri iznosila je 9,34 mg/kg, jedinka starosti godinu dana sa teritorije LU Novi Sad (dijagram 30-LU15 i dijagram 31-J1g). Minimalna vrednost koncentracije bakra u jetri je iznosila 0,73 mg/kg i registrovana je kod zeca starosti 3-6 meseci sa teritorije LU Sombor (dijagram 30-LU14 i dijagram 31-J 3-6m).

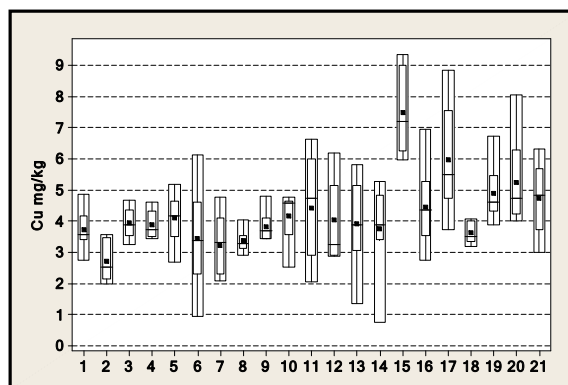


▪ srednja vrednost

Dijagram 28. Sadržaj bakra (Cu) u bubregu (Cu B) i jetri (Cu J) ispitanih uzoraka tkiva divljeg zeca

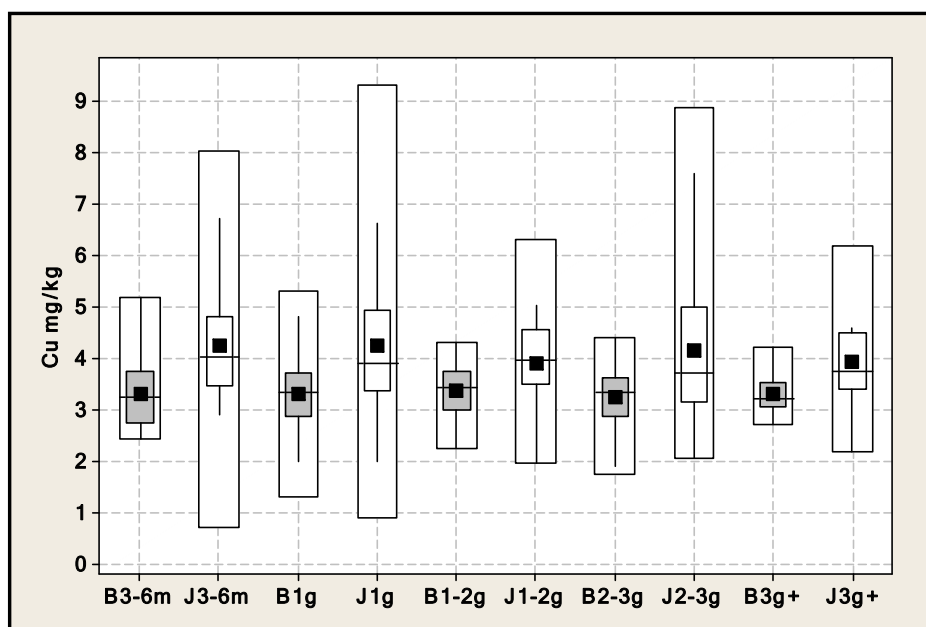


▪ srednja vrednost
Dijagram 29. Sadržaj bakra (Cu) u bubrežima zečeva (LU 1-21)



▪ srednja vrednost
Dijagram 30. Sadržaj bakra (Cu) u jetri zečeva (LU 1-21)

Koncentracije bakra u bubrežima i jetri ispitanih jedinki po starosnim grupama (3-6 meseci, 1 godina, 1-2 godine, 3 godine i starijih od 3 godine) prikazane su u dijagramu 32. Srednje vrednosti sadržaja mangana iznosile su, za bubrež: 3,31 mg/kg; 3,32 mg/kg; 3,41 mg/kg; 3,26 mg/kg i 3,34 mg/kg, respektivno; za jetru: 4,26 mg/kg; 4,27 mg/kg; 3,93 mg/kg; 4,16 mg/kg i 3,94 mg/kg, respektivno.



▪ srednja vrednost

Dijagram 31. Sadržaj bakra (Cu) u bubrežima i jetri zečeva po starosnim grupama

5.9 Tabelarni prikaz sadržaja teških metala u tkivima divljeg zeca po starosnim grupama

U tabeli 31, dat je pregled rezultata ispitanih teških metala u bubrezima i jetri svih ispitanih divljih zečeva po različitim starosnim grupama: 3-6 meseci, 1 godina, 1-2 godine, 2-3 godine i starijih od 3 godine.

Tabela 31. Pregled sadržaja ispitanih teških metala (mg/kg) u bubrezima (B) i jetri (J) po starosnim grupama

3-6 meseci (n=28)														
metal/ tkivo	Cd B	Cd J	Pb B	Pb J	Hg B	Hg J	Fe B	Fe J	Zn B	Zn J	Mn B	Mn J	Cu B	Cu J
sr.vred.	0,38	0,05	0,14	0,19	0,029	0,014	110,2	128,7	19,10	23,52	1,96	2,47	3,31	4,26
SD	0,24	0,05	0,13	0,11	0,020	0,007	39,4	50,5	3,48	4,29	0,80	0,78	0,66	1,48
min	0,06	0,01	0,05	0,05	0,008	0,007	29,5	44,8	13,90	14,72	1,0	0,93	2,45	0,73
max	1,07	0,24	0,43	0,43	0,076	0,039	203,8	269,2	30,79	30,40	4,50	3,79	5,20	8,06
1 godina (n=41)														
metal/ tkivo	Cd B	Cd J	Pb B	Pb J	Hg B	Hg J	Fe B	Fe J	Zn B	Zn J	Mn B	Mn J	Cu B	Cu J
sr.vred.	0,79	0,09	0,13	0,16	0,034	0,012	109,2	132,0	19,95	24,93	1,88	2,58	3,32	4,27
SD	0,51	0,07	0,12	0,15	0,023	0,005	51,3	62,5	3,01	3,83	0,79	0,99	0,79	1,60
min	0,09	0,01	0,06	0,05	0,005	0,005	37,6	43,01	12,56	15,88	0,72	0,42	1,34	0,92
max	2,21	0,31	0,49	0,63	0,092	0,028	324,1	313,1	26,23	34,39	4,28	5,08	5,34	9,34
1-2 godine (n=22)														
metal/ tkivo	Cd B	Cd J	Pb B	Pb J	Hg B	Hg J	Fe B	Fe J	Zn B	Zn J	Mn B	Mn J	Cu B	Cu J
sr.vred.	1,80	0,18	0,14	0,21	0,048	0,020	107,9	145,6	21,40	24,78	1,59	2,39	3,41	3,93
SD	0,52	0,07	0,08	0,11	0,034	0,015	36,2	41,8	3,11	3,53	0,42	0,73	0,48	0,99
Min	1,00	0,09	0,06	0,07	0,015	0,005	62,4	81,5	15,57	18,62	0,79	0,55	2,28	1,97
max	2,97	0,33	0,25	0,43	0,152	0,065	186,4	237,3	26,83	31,67	2,23	4,13	4,33	6,32
2-3 godine (n=51)														
metal/ tkivo	Cd B	Cd J	Pb B	Pb J	Hg B	Hg J	Fe B	Fe J	Zn B	Zn J	Mn B	Mn J	Cu B	Cu J
sr.vred.	2,72	0,24	0,35	0,29	0,057	0,025	94,5	140,7	21,01	26,00	1,65	2,15	3,26	4,16
SD	0,99	0,13	0,38	0,40	0,051	0,017	34,6	46,2	2,09	4,71	0,55	0,73	0,55	1,47
min	1,28	0,01	0,05	0,05	0,005	0,006	42,5	65,2	15,24	15,47	0,54	0,90	1,76	2,07
max	5,36	0,70	1,12	1,72	0,261	0,068	163,9	298,7	24,77	35,18	3,64	3,97	4,43	8,89
3 godine + (n=14)														
metal/ tkivo	Cd B	Cd J	Pb B	Pb J	Hg B	Hg J	Fe B	Fe J	Zn B	Zn J	Mn B	Mn J	Cu B	Cu J
sr.vred.	4,58	0,35	0,06*	0,23	0,068	0,030	92,5	155,01	25,38	26,76	1,55	2,30	3,34	3,94
SD	1,39	0,16	-	0,13	0,042	0,021	47,1	64,2	5,10	3,33	0,47	1,04	0,45	0,93
min	2,27	0,17	-	0,08	0,007	0,007	39,6	75,9	20,27	21,81	0,62	0,16	2,73	2,20
max	7,54	0,85	-	0,32	0,144	0,070	176,8	283,9	37,03	32,07	2,31	4,11	4,24	6,19

B - bubreg; J- jetra;

*-registrovana samo jedna vrednost

Tabela 32. Statistička značajnost razlika između sadržaja teških metala u bubrezima (B) i jetri (J) u okviru starosnih grupa

STAROST (meseci)	Cd B	Cd J	Pb B	Pb J	Hg B	Hg J	Fe B	Fe J	Zn B	Zn J	Mn B	Mn J	Cu B	Cu J
3-6 meseci	p<0.001*		p>0.05		p<0.001*		p>0.05		p<0.001*		p<0.001*		p<0.01**	
1 godina	p<0.001*		p>0.05		p<0.001*		p>0.05		p<0.001*		p<0.01**		p<0.001*	
1-2 godine	p<0.001*		p>0.05		p<0.001*		p<0.01**		p<0.001*		p<0.001*		p<0.05***	
2-3 godine	p<0.001*		p>0.05		p<0.001*		p<0.001*		p<0.001*		p<0.001*		p<0.001*	
3 godine +	p<0.001*		-		p<0.05***		p<0.01**		p>0.05		p<0.05***		p<0.05***	

* statistički veoma značajne razlike (p < 0.001); ** statistički vrlo značajne razlike (p < 0.01);

*** statistički značajne razlike (p < 0.05); nema statistički značajnih razlika (p > 0.05); - nije registrovano;

6. DISKUSIJA REZULTATA

6.1 Kadmijum u bubrezima i jetri divljeg zeca

Statističkom analizom dobijenih podataka o koncentraciji kadmijuma u tkivima divljeg zeca sa teritorija lovačkih udruženja sa kojih su sakupljeni uzorci, registrovane su statistički značajne razlike u pogledu sadržaja kadmijuma u bubrezima i jetri između pojedinih lokaliteta ($p < 0,001$). Razlike između lokaliteta date su u tabeli 33.

Tabela 33. Statistička značajnost razlika u pogledu sadržaja Cd u bubrezima (Cd B 1-21) i jetri (Cd J 1-21) između lokaliteta

Cd B 1-21 n			Cd J 1-21 n		
Cd B15	6	A	Cd J12	7	A
Cd B12	7	A B	Cd J10	6	A B
Cd B10	6	A B	Cd J15	6	A B C
Cd B4	6	A B C	Cd J8	7	A B C
Cd B8	7	A B C	Cd J4	6	A B C
Cd B2	6	A B C D	Cd J6	7	A B C
Cd B6	7	A B C D	Cd J18	9	A B C
Cd B7	9	A B C D	Cd J3	10	A B C
Cd B3	10	A B C D	Cd J2	6	A B C D
Cd B18	9	A B C D	Cd J7	9	A B C D
Cd B16	9	A B C D	Cd J16	9	A B C D
Cd B19	6	A B C D	Cd J19	6	A B C D
Cd B14	8	A B C D	Cd J1	10	A B C D
Cd B1	10	A B C D	Cd J14	8	A B C D
Cd B17	6	A B C D	Cd J5	10	A B C D
Cd B5	10	A B C D	Cd J17	6	A B C D
Cd B9	6	A B C D	Cd J21	6	A B C D
Cd B13	9	B C D	Cd J11	8	B C D
Cd B21	6	A B C D	Cd J20	5	A B C D
Cd B20	6	C D	Cd J9	6	C D
Cd B11	7	D	Cd J13	9	D

($p < 0,001$);

($p < 0,001$);

n-broj uzoraka sa registrovanim sadržajem;

*srednje vrednosti sadržaja kadmijuma u bubregu i jetri između lokaliteta koje ne dele zajedničko slovo su statistički značajne (ONE WAY ANOVA/post hoc Tukey HSD test);

Kada se razmatraju koncentracije kadmijuma u bubrezima i jetri, gledano po starosnoj strukturi ispitanih jedinki divljeg zeca, uočava se direktna zavisnost akumuliranog kadmijuma u bubrezima i jetri od starosti zeca. Registrovane su statističke značajne razlike između sadržaja kadmijuma u bubrezima između svih starosnih grupa ($p < 0,001$) sa izuzetkom između jedinki starosti 3-6 meseci i godinu dana ($p > 0,05$). Ove razlike u jetri bile su izražene između najstarijih jedinki (preko 3 godine) i svih ostalih grupa ($p < 0,001$) kao i jedinki starosti 1-2 godine i 2-3 godine u odnosu na mlađe (3-6 meseci i godinu dana; $p < 0,001$). Statističke razlike između nivoa kadmijuma u bubrezima i jetri po starosnim grupama prikazane su u tabeli 34.

Tabela 34. Statistička značajnost razlika u pogledu sadržaja Cd u bubrežima (Cd B) i jetri (Cd J) između starosnih grupa (meseci)

n sr.vredn.				n sr.vredn.			
Cd B 3g+	14	4.58	A	Cd J 3g+	14	0.35	A
Cd B 2-3g	51	2.72	B	Cd J 2-3g	51	0.25	B
Cd B 1-2g	22	1.80	C	Cd J 1-2g	22	0.18	B
Cd B 1g	40	0.79	D	Cd J 1g	41	0.09	C
Cd B 3-6m	28	0.38	D	Cd J 3-6m	27	0.05	C

($p < 0.001$);

($p < 0.001$);

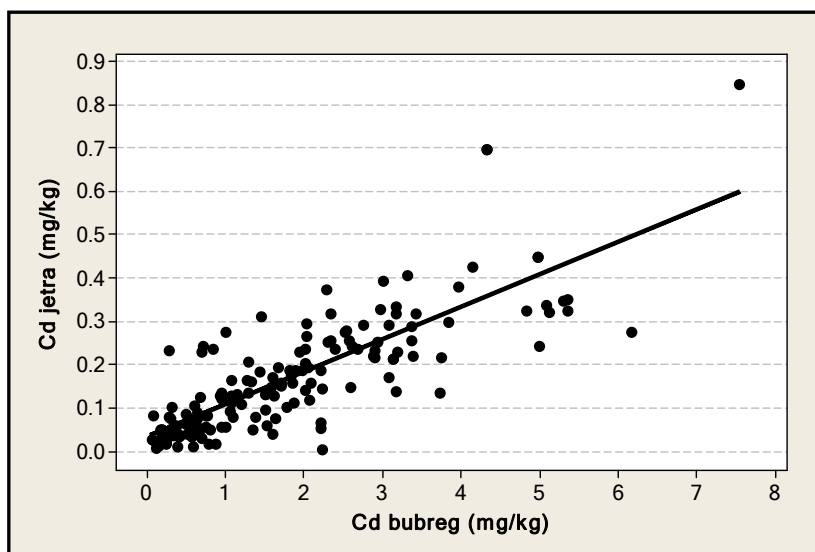
n-broj uzoraka sa registrovanim sadržajem;

*srednje vrednosti sadržaja kadmijuma u bubregu i jetri između starosnih grupa koje ne dele zajedničko slovo su statistički značajne (ONE WAY ANOVA/post hoc Tukey HSD test);

Unutar svih starosnih grupa registrovane su statistički značajne razlike između sadržaja kadmijuma u bubregu u odnosu na jetru ($p=0,001$).

Posmatrano na sve ispitane uzorke, utvrđena je jaka, statistički značajna, pozitivna korelaciona povezanost između sadržaja kadmijuma u bubregu i jetri ($P_s=0,81$; $p=0,001$; P_s -Pearson-ov korelacioni koeficijent). Po starosnim grupama korelacioni koeficijent je iznosio: za zeca starosti 3-6 meseci ($P_s=0,63$; $p=0,001$); za zeca starosti godinu dana ($P_s=0,34$; $p < 0,01$), za zeca starosti 1-2 godine ($P_s=0,60$; $p=0,01$) za zeca starosti 2-3 godine ($P_s=0,69$; $p < 0,001$) i za zečeve starije od 3 godine ($P_s=0,61$; $p < 0,05$). Uočava se da je za starosnu grupu od jedne godine, iako statistički značajna, korelaciona povezanost slaba, što ukazuje da u ovoj starosnoj grupi sadržaj kadmijuma u bubregu i jetri nije u potpunoj korelaciji sa konkretnom starosnom dobi, što je u literaturi opisano kao moguće, kada se u obzir ne uzimaju ostali faktori od uticaja na bioakumulaciju, što u krajnjem ishodu ima za posledicu smanjenje korelacionog koeficijenta (*Danielsson i Frank, 2009*).

Na dijagramu 32 je grafički prikazana zavisnost sadržaja kadmijuma u jetri i bubrežima. Regresiona jednačina modela je data kao: $Cd_{jetra} = 0,0751 Cd_{bubreg} + 0,0316$ (r^2 -koeficijent determinacije; $r^2 = 65,2\%$; $p < 0,001$). Pokrivenost modela je vrlo dobra i iznosi 65%, a uzajamna zavisnost ove dve koncentracije je statistički značajna.



Dijagram 32. Regresiona linija zavisnosti sadržaja kadmijuma u jetri i bubrežima

Razlike koje se pojavljuju, odnosno ne pojavljuju, direktno između lovnih područja, a uzimajući u obzir one koje su registrovane između pojedinih starosnih grupa, primarno mogu biti objašnjene kao direktna posledica različite starosne strukture i broja uzoraka sa pojedinog lovnog područja, a zatim i kroz različito regionalno prisustvo kadmijuma. Srednje vrednosti kadmijuma iz pojedinih područja su poredive pod uslovima jednake ili bliske starosne distribucije jedinki.

Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa istraživanjima *Wolkers-a i sar (1994)* koji su konstatovali da su registrovani povišeni nivoi sadržaja kadmijuma u bubregu u odnosu na jetru u direktnoj vezi sa funkcijom ekskrecije i detoksikacije koju renalni korteks ima u telu životinja. Dobijeni rezultati pokazuju i da je registrovani renalni sadržaj kadmijuma **8-13 puta** viši u odnosu na hepatici kod ispitanih divljih zečeva različite starosne dobi. Povišene vrednosti u bubregu u odnosu na jetru su utvrđene i kod drugih autora (*Holm, 1984; Rimkus i Wolf, 1987; Bukovjan, 1991; Krelowska i sar., 1994; Massányi i sar., 1995; Toman i Massányi, 1996; Venäläinen i sar., 1996; Slamecka i sar., 1997; Massányi i sar., 2003; Kramárová i sar., 2005; Myslek i Kalisińska, 2006; Pedersen i Lierhagen, 2006; Kolesarova i sar., 2008; Skrivanko i sar., 2008*).

Prema Tataruch-u (1994) treba uzeti u obzir i polnu strukturu zeca, gde je, na primer, viša koncentracija kadmijuma u organima registrovana u mužjacima (u jetri statistički značajna). Povišene vrednosti akumuliranog kadmijuma u bubrezima divljeg zeca u odnosu na jetru utvrdili su i portugalski istraživači (*Eiraa i sar., 2005*), koji su ispitivali sadržaj kadmijuma u organima divljih zečeva sakupljenih iz poljoprivrednih oblasti koje su bile locirane na oko 50 km vazdušne linije od industrijskog hemijskog kompleksa. Poređenja radi, srednje vrednosti izmerenih koncentracije kadmijuma u bubrezima i jetri zečeva iz različitih lovnih područja Srbije (1,83 mg/kg i 0,17 mg/kg, respektivno) pokazuju sličnost u bioakumuliranim koncentracijama kadmijuma sa onim, registrovanim u evropskom divljem zecu sa područja Slovačke (1,57 mg/kg i 0,16 mg/kg), (*Kramárová i sar., 2005*).

U odnosu na druga istraživanja, srednja vrednost kadmijuma u organima zečeva (bubreg i jetra) iz lovnih područja Srbije je bliska vrednostima zabeleženim dvadestogodišnjim monitoringom u nezagađenim područjima Finske (1,46 mg/kg i 0,17 mg/kg) i do dva puta niža od onih iz industrijskih regiona Finske (3,83 mg/kg i 0,33 mg/kg), (*Venalainen i sar., 1996*). Srednje vrednosti kadmijuma u tkivu zeca iz Srbije su dva puta niže od vrednosti zabeleženih u Poljskoj (4,77 mg/kg i 0,45 mg/kg), (*Myslek i Kalisinska 2006*). U isto vreme, podaci iz Srbije pokazuju duplo veće vrednosti od onih zabeleženih u Portugaliji (1,02 mg/kg i 0,07 mg/kg), (*Eiraa i sar., 2005*).

Dobijeni rezultati ukazuju na to da, geografski gledano, akumulacija teških metala, u ovom slučaju kadmijuma, je lokalno, odnosno regionalno specifična, tj. zavisna od prisustva specifičnog izvora emisije kadmijuma (*Landis i Wieggers, 1997*), odnosno njegove aerodepozicije u zemljištu i prisutnosti u biljkama koje su izvor hrane za divlje zečeve (*Rous i Jelinek, 2000*).

Posmatrano po teritorijama lovačkih područja najviše srednje vrednosti koncentracija kadmijuma u bubrezima i jetri su zabeležene na teritoriji LU Vranje - rejon Gornje Žepsko (3,11 mg/kg i 0,31 mg/kg), u čijoj neposrednoj okolini nije registrovano prisustvo značajnije antropogene aktivnosti, odnosno značajnijeg izvora kadmijuma, zatim LU Obrenovac-Grabovac (2,94 mg/kg i 0,23 mg/kg) koje je udaljeno od termoelektrane Nikola Tesla Obrenovac 7 km u vazdušnoj liniji i oko 3 km od pepelišta, LU Novi Sad (2,90 mg/kg i 0,25 mg/kg) u neposrednoj blizini rafinerije nafte i centralne gradske toplane Novog Sada, region Kaća, udaljenost oko 5,3 km, LU Bajina Bašta (2,84 mg/kg i 0,30 mg/kg) rejon Okletac, u kome nije registrovano prisustvo industrijskih objekata, LU Beograd (2,47 mg/kg i 0,22 mg/kg), rejonu po obodu grada (Surčin, Boljevci, Banjica) i LU Nikinci u blizini vojnog poligona (2,26 mg/kg i 0,21 mg/kg). Ove vrednosti ukazuju da lokacije sa kojih su sakupljani uzorci koji se nalaze u blizini gradskih i industrijskih zona pokazuju više vrednosti od onih iz nezagađenih ili pretežno poljoprivrednih područja, npr. LU Prokuplje, LU Aleksa Šantić, odnosno područja Srema (LU Mali Radinci i LU Voganj). Povišene srednje vrednosti kadmijuma u poređenju sa drugim, pretežno poljoprivrednim rejonima, registrovane su u bubrezima i jetri zečeva (2,76 mg/kg i 0,29 mg/kg) iz oblasti LU Sonta.

Povišene vrednosti kadmijuma u tkivima zečeva iz poljoprivrednih područja, mogu biti indikator prisutnosti kadmijuma u zemljištu i biljkama, uglavnom, kao posledica primene fosfatnih đubriva, koja sama po sebi sadrže značajne količine kadmijuma (*Oosterhuis i sar., 2004*). Za ove rejone bi se moglo konstatovati da su lokalno specifične, bez poznate veze, odnosno geografske blizine poznatog izvora zagađenja i kao takve treba da budu predmet detaljnijeg uzorkovanja i proučavanja u budućnosti, uzimajući u obzir i druge elemente životne sredine (zemljište, voda, biljke, određivanje prisustva radionuklida itd.).

Prema *Veltman-u i sar. (2007)*, postoji značajna veza između akumulacije kadmijuma u bubrezima i jetri malih sisara sa ukupnim sadržajem kadmijuma u zemljištu. U svom istraživanju, u kome su ispitivali unos kadmijuma u organe životinja čija je ishrana zasnovana na ispaši u prirodi, *Brekken i Steinnes (2004)* konstatuju da postoje individualne varijacije unutar same vrste, ali su povezane i sa sezonskim varijacijama u ishrani, odnosno da li je ishrana zasnovana npr. na korišćenju grančica ili lisnatih delova biljaka. Po ovim autorima, varijacije u svarljivosti pojedinih biljnih vrsta koje su akumulirale kadmijum su uticajni parametri konačnog unosa kadmijuma u organizam. *Massanyi i sar. (2003)*, takođe, konstatuju sezonske varijacije u akumuliranom kadmijumu u tkivu divljeg zeca.

Treba napomenuti da absorpcija kadmijuma može biti pod uticajem prisustva drugih elemenata, npr. cinka, ali pre svega, na osnovu dobijenih rezultata, ona je pretežno uslovljena neravnomerno zastupljenom starosnom strukturom zeca sa određenih područja, obzirom da je bioakumulacija kadmijuma u direktnoj vezi sa starosnom dobi.

Kada se uporede izmerene minimalne i maksimalne vrednosti kadmijuma u bubrežima (0,06-7,54 mg/kg) i jetri (0,01-0,85 mg/kg) evropskog divljeg zeca sa sadržajem ovog metala u organima jelenske divljači iz drugih lovišta Srbije (Bački Monoštor, Ristovača, Erdevik, Klenak, Tupižnica), koje je autor ove disertacije prikazao u svojoj magistarskoj tezi (*Petrović, 2007*), a koje su se za bubrege i jetru kretale u intervalu od 0,05-8,65 mg/kg, odnosno 0,08-0,79 mg/kg, respektivno, može se konstatovati da je tkivo divljeg zeca, imajući u vidu veličinu organa, težinu životinje, način ishrane, životni vek, vernost lokaciji, rasprostranjenost u raznim tipovima staništa Srbije veoma dobar indikator prisustva ovog metala u životnoj sredini. Poređenja radi, srednje vrednosti kadmijuma u jelenskoj divljači iz drugih evropskih područja, a koji se odnose na izmerene koncentracije u jetri i bubrežima iz Slovačke su iznosile 0.26 mg/kg i 2.39 mg /kg (*Gasparik i sar., 2004*) odnosno iz dva regiona iz Poljske (*Falandysz i sar., 2005*) zabeleženo je 0.10 mg/kg (u jetri) i 2.2 mg/kg (u bubrežima). Vrednost medijan koncentracije kadmijuma u bubrežima jelenske divljači iz regiona Baranje - Istočna Hrvatska, u graničnom području sa Srbijom, bila je 0.099 mg/kg (*Lazaruš i sar., 2005*). Koncentracije kadmijuma u bubrežima divljih zečeva iznad maksimalno dozvoljene vrednosti od 1,0 mg/kg (*Pravilnik RS, 1992*) su bile povišene u 75,6 % ispitanih uzoraka, dok za jetru procenat uzoraka koji prelazi dozvoljenu granicu od 0,5 mg/kg iznosi svega 2%.

6.2 Olovo u bubrežima i jetri divljeg zeca

Statističkom analizom dobijenih podataka o koncentraciji olova u tkivima divljeg zeca sa teritorija lovačkih udruženja sa kojih su sakupljeni (Kruskal-Wallis neparametrijski test) nisu registrovane statistički značajne razlike ($p > 0,05$) u pogledu sadržaja olova u bubrežima i jetri između pojedinih lokaliteta (tabela 35).

Tabela 35. Statistička značajnost razlika u pogledu sadržaja Pb u bubrežima (Pb B 1-21) i jetri (Pb J 1-21) između lokaliteta

Pb B 1-21	n	A	Pb J 1-21	n	A
Pb B14	5	A	Pb J1	3	A
Pb B3	1	A	Pb J10	3	A
Pb B19	3	A	Pb J11	5	A
Pb B15	5	A	Pb J12	1	A
Pb B12	4	A	Pb J13	3	A
Pb B21	5	A	Pb J14	6	A
Pb B17	3	A	Pb J15	6	A
Pb B13	5	A	Pb J16	1	A
Pb B10	2	A	Pb J17	6	A
Pb B16	4	A	Pb J18	1	A
Pb B4	1	A	Pb J19	4	A
Pb B11	4	A	Pb J2	1	A
Pb B1	1	A	Pb J20	1	A
Pb B6	2	A	Pb J21	6	A
Pb B2	nr		Pb J3	2	A
Pb B5	nr		Pb J4	1	A
Pb B7	nr		Pb J5	4	A
Pb B8	nr		Pb J6	4	A
Pb B9	nr		Pb J9	6	A

n-broj uzoraka sa registrovanim sadržajem;
(Kruskal-Wallis test; $p=0.32$); (Kruskal-Wallis test; $p=0.57$);

Između starosnih grupa, nisu registrovane statistički značajne razlike sadržaja olova u bubrezima i jetri (Tabela 36), kao ni razlike između sadržaja olova u bubrezima u odnosu na jetru unutar iste starosne grupe ($p > 0,05$).

Tabela 36. Statistička značajnost razlika u pogledu sadržaja Pb u bubrezima (Pb B) i jetri (Pb J) između starosnih grupa

	n sr.vredn.				n sr.vredn.		
Pb B 2-3g	15	0.35	A	Pb J 2-3g	21	0.29	A
Pb B 1-2g	6	0.14	A	Pb J 3g+	3	0.23	A
Pb B 3-6m	9	0.14	A	Pb J 1-2g	10	0.21	A
Pb B 1g	13	0.13	A	Pb J 3-6m	11	0.19	A
Pb B 3g+	1	0.06	A	Pb J 1g	18	0.16	A

n-broj uzoraka sa registrovanim sadržajem;

($p > 0,05$); nisu registrovane značajne razlike; ($p > 0,05$); nisu registrovane značajne razlike;

Posmatrano na sve ispitane uzorke, utvrđena je statistički značajna srednja pozitivna korelaciona povezanost između sadržaja olova u bubregu i jetri ($P_s = 0,65$; $p = 0,001$; P_s -Pearson-ov korelacioni koeficijent). Po starosnim grupama on je iznosio: za zeca starosti 3-6 meseci ($P_s = 0,96$; $p < 0,05$; *jaka povezanost), za zeca starosti godinu dana - nije utvrđena, za zeca starosti 1-2 godine ($P_s = 0,93$; $p = 0,01$; *jaka povezanost) za zeca starosti 2-3 godine ($P_s = 0,70$; $p < 0,001$; srednja povezanost) i za zečeve starije od 3 godine-nije utvrđena (*olovo je registrovano samo u tri uzorka jetre, a u bubrezima ni u jednom).

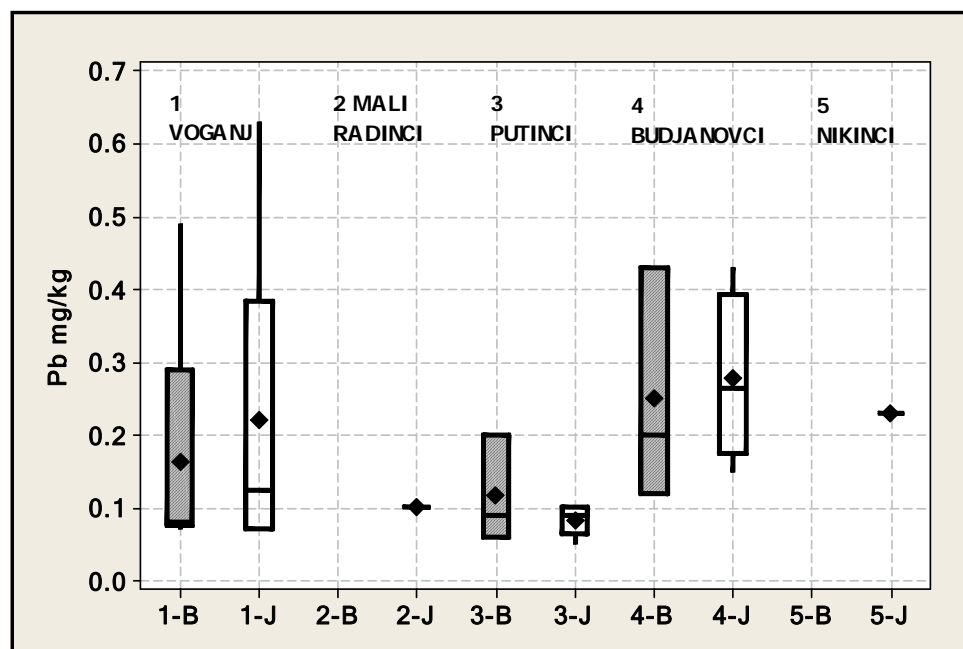
Dobijene srednje vrednosti za olovo (tamo gde je registrovano) u jetri, po starosnim grupama su iznosile: 0,19 mg/kg, 0,16 mg/kg, 0,21 mg/kg, 0,29 mg/kg i 0,23 mg/kg. Uočavaju se veće vrednosti sadržaja olova u jetri u odnosu na bubrege, po starosnim grupama: 0,14 mg/kg, 0,13 mg/kg, 0,14 mg/kg, izuzev u grupi zečeva starih između 2-3 godine (0,35 mg/kg), gde je nešto veći sadržaj olova u bubrezima ali ove razlike, kao što je konstatovano, nisu statistički značajne. U pregledanim radovima koji razmatraju olovo u tkivu divljeg zeca može se konstatovati saglasnost sa podacima dobijenim u ovoj tezi. Na primer, *Tataruch (1984)*, odnosno *Kleiminger i Holm (1985)* dokazuju veći sadržaj olova u jetri, uglavnom kod starijih jedinki, i procenjuju da nema razlike između sadržaja olova u bubrezima između mlađih i starijih životinja što je u saglasnosti sa dobijenim rezultatima iz Srbije, uz napomenu da je u najstarijoj grupi (3 godine i stariji) od 14 zečeva, olovo registrovano u svega tri slučaja, i to samo u jetri.

U istraživanju, nivoa toksičnih metala u organima divljeg zeca sa teritorije zapadne, ravničarske Slovačke, *Massány i sar. (2003)* su prikazali sezonske varijacije sadržaja olova, u bubrezima i jetri. Takođe je izvršeno poređenje sadržaja olova u zavisnosti od starosne dobi i saopšteno je da su koncentracije olova u jetri i bubrezima bile slične, bez statistički značajnih razlika, što je u saglasnosti sa rezultatima iz Srbije. Nivo srednjih vrednosti akumuliranog olova u odnosu na pol jedinki koje su ovi autori saopštili iznosio je u jetri mužjaka (0.22 mg/kg) i bio viši u odnosu na jetru ženki (0.13 mg/kg).

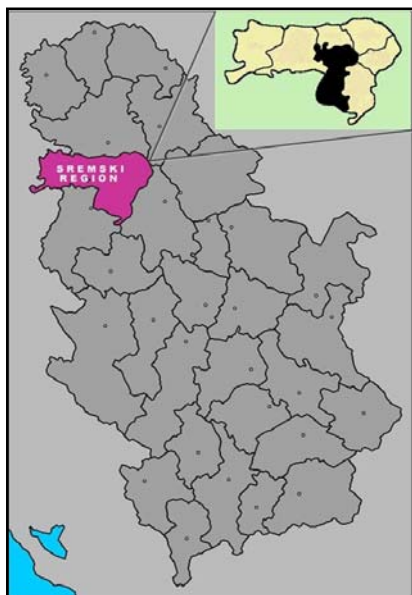
Druga grupa autora iz Slovačke (*Kramarova i sar., 2005*) saopštila je podatke za olovo u tkivu divljači i poredila bioakumulaciju olova u jetri evropskog divljeg zeca (0,221 mg/kg) i jelenske divljači (1,904 mg/kg), odnosno u bubrežima divljeg zeca (0.115mg/kg) i jelenske divljači (0.561 mg/kg). Saopšteni rezultati koji se odnose na divlje zečeve iz Slovačke su u saglasnosti sa srednjom vrednošću olova u bubrežima zečeva sa teritorije Srbije, dok su srednje vrednosti olova u jetri evropskog divljeg zeca sa teritorije Srbije približno duplo veće.

U bubrežima i jetri, olovo nije registrovano u gotovo - 2/3 trećine ispitanih uzoraka (71% i 59%, respektivno). Drugo zapažanje koje proizilazi iz dobijenih rezultata je, da u slučaju olova, ne postoji jasna distinkcija srednjih vrednosti akumuliranih koncentracija olova u ispitanim organima sa starošću zeca (nisu registrovane statistički značajne razlike), već se, na osnovu rezultata može spekulirati da je njihov nalaz posledica lokalne izloženosti olovu na pojedinim područjima.

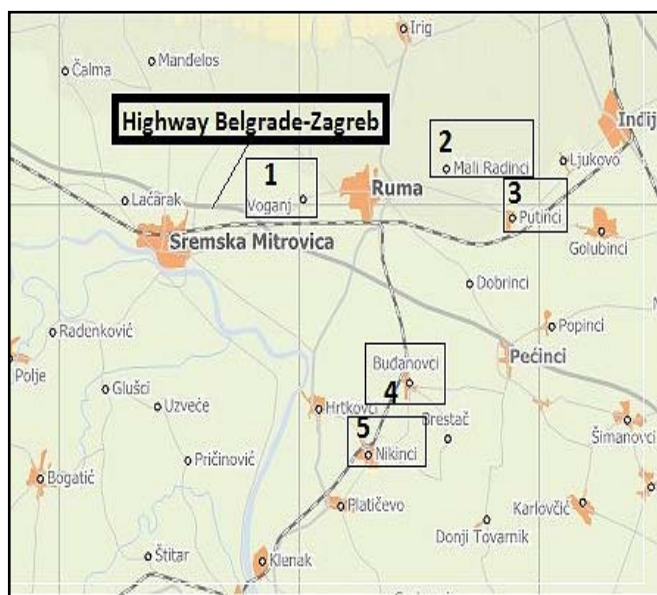
Ilustracija ove pretpostavke može se sagledati razmatranjem rezultata izmerenih vrednosti olova (dijagram 33) u tkivu zečeva sakupljenih u Sremskom regionu - Voganj, Mali Radinci, Putinci, Budjanovci i Nikinci (slika 10) u neposrednoj blizini Autoputa E70 Beograd-Zagreb I u blizini gradova Sremska Mitrovica i Ruma (slika 11), sa vazдушnim distancama od autoputa izračunatih pomoću Google Earth aplikacije. Lokacija LU Voganj se nalazi u vazdušnoj liniji udaljena oko 7,3 km od čeličane „Sirmium Steel“, odnosno 8,3 km od postrojenja fabrike hartije „Matroz“, lociranih u industrijskoj zoni Sremske Mitrovice.



Dijagram 33. Sadržaj olova u organima divljih zečeva-Sremski region



Slika 10. Ruma - Srem

Portal Vojvodina na dlanu (www.vojvodinacafe.rs).

Slika 11. Lokaliteti u zoni autoputa E70 sa kojih su sakupljeni uzorci

LU 21 Voganj	(1)	3,2 km
LU 19 Buđanovci	(4)	4,7 km
LU 17 Putinci	(3)	7,6 km
LU 20 Mali Radinci	(2)	8,8 km
LU 18 Nikinci	(5)	11 km

Pregledom rezultata prikazanih u tabeli 37, primećuje se da je procenat registrovanog olova u bubrezima i jetri najveći u zečevima sakupljenih u rejonu Vognja, a takođe i maksimalne izmerene vrednosti olova u oba organa, ali bez registrovanih statistički značajnih razlika između lokaliteta.

Kako se povećava vazдушna udaljenost od autoputa primećuje se trend smanjenja broja uzoraka u kojima je registrovano olovo kao i sniženja vrednosti maksimalno izmerenih koncentracija, izuzev u slučaju LU17-Putinci (3) gde je olovo registrovano u svim uzorcima jetri, ali su srednja i maksimalna izmerena vrednost u oba organa sa teritorije ovog lovačkog područja manje u odnosu na lokacije 1 (LU-21 Voganj) i 4 (LU-19 Buđanovci) koje su u vazdušnoj liniji najbliže autoputu. U tkivu zečeva sakupljenih sa područja, označenih lokacijskim brojevima 2 (LU 20- Mali Radinci) i 5 (LU 18-Nikinci) koja su najudaljenija od Autoputa, i u kojima je od ukupno 6, odnosno 9 ispitanih uzoraka tkiva, olovo registrovano samo u po jednom uzorku jetre, dok u bubrezima nije registrovano.

Tabela 37. Sadržaj olova i distribucija registrovanih vrednosti u tkivu zeca sakupljenih sa područja lovačkih udruženja uz autoput E70

n=33	N	N _{reg}	N*	%	sr.vred.	Min	Max
1 Pb B	6	5	1	83.3	0.16	0.07	0.49
1 Pb J	6	6	0	100	0.22	0.07	0.63
4 Pb B	6	3	3	50.0	0.25	0.12	0.43
4 Pb J	6	4	2	66.7	0.28	0.15	0.43
3 Pb B	6	3	3	50.0	0.12	0.06	0.20
3 Pb J	6	6	0	100.0	0.08	0.06	0.10
2 Pb B	6	nije registrovano u bubrežima					
2 Pb J	6	1	5	16.7	0.10	0.10	0.10
5 Pb B	9	nije registrovano u bubrežima					
5 Pb J	9	1	8	11.1	0.23	0.23	0.23

n-ukupan broj uzoraka; N- broj uzoraka po lokalitetu;
 N_{reg}- broj uzoraka sa registrovanim olovom na lokalitetu;
 N*-broj uzoraka u kojima nije registrovano olovo;
 %-procenat uzoraka sa registrovanim olovom;

Herbivore, konzumacijom biljaka koje su kontaminirane olovom, u organizam unose olovo preko probavnog trakta, pri čemu se resorbuje 5-10% neorganskih jedinjenja olova prisutnih u hrani biljnog porekla. Olovo prisutno u obliku sitnih čestica i aerosola u vazduhu se unosi u disajni trakt, gde je moguća resorpcija i do 40% (*Djurić i Petrović, 1996*). Dobijene rezultati iz regiona Srema, ali i ostalih regiona gde je olovo registrovano, se mogu dovesti u vezu sa aerodepozicijom olova na biljke koje zečevi koriste za ishranu i zemljište na kome one rastu, kao rezultat atmosferskog transporta, što predstavlja glavni izvor unosa olova za herbivornu divljač (*Kalas i sar., 2000*). Većina biljnih vrsta kojom se herbivore hrane akumulira veoma malu količinu olova iz zemljišta (*Kabata-Pendias, 1984; Sheppard i Sheppard, 1991; Manninen i Tanskanen, 1993; Underwood i Suttle, 1999; Rous i Jelinek, 2000*).

Incidentni unos olova prisutnog u zemljištu ingestijom je malo verovatan, odnosno postoji očekivanje da u područjima u kojima nema značajnije aerodepozicije olova, herbivore pokažu nizak nivo akumulacije u ispitanim tkivima (*Mulvey i Diamond, 1991*) što je i bio slučaj na područjima lovačkih udruženja LU-2 Bajina Bašta, LU-4 Obrenovac-Grabovac, LU-7 Šabac, LU-8 Čičevac, LU-18 Nikinci. Do sličnih saznanja došli su i *Krelowska i sar. (2006)* koji su poredili sadržaj olova u bubrežima i jetri divljih zečeva koji su vodili poreklo iz industrijskih i nezagađenih oblasti, pri čemu je uočeno da je sadržaj olova nekoliko puta veći u tkivu zečeva prikupljenih u blizini industrijskih zagađivača.

Na osnovu dobijenih rezultata olova i literaturnih podataka konstatuje se da, bez obzira na nepostojanje statističkih razlika u sadržaju olova, a pre svega zbog činjenice da se sporadično pojavljuje i da je registrovano u približno 1/3 ukupnog broja uzoraka bubrežima i jetre, može se reći da postoji bioindikacija njegovog prisustva na određenim terenima. Generalno, nivo olova u ispitanom uzorcima tkiva divljeg zeca u Srbiji je na niskom nivou.

Koncentracije olova u bubrežima divljih zečeva veće od maksimalno dozvoljene vrednosti od 0,5 mg/kg (*Pravilnik RS, 1992*) su bile registrovane u 3 uzorka bubrega, što čini svega 1,9% u odnosu na ukupan broj ispitanih uzoraka, odnosno 6,8% od broja uzoraka u kome je olovo registrovano (44 uzorka ili 28,2% od ukupnog broja). U jetri koncentracije su bile povišene u 4 uzorka jetre, što čini 2,5% u odnosu na ukupan broj ispitanih uzoraka, odnosno 6,3% od broja uzoraka jetre u kojima je olovo registrovano (63 uzorka ili 40% od ukupnog broja).

6.3 Živa u bubrežima i jetri divljeg zeca

Statističkom analizom dobijenih podataka o koncentraciji žive u tkivima divljeg zeca sa teritorija lovačkih udruženja sa kojih su sakupljeni uzorci, registrovane su statistički značajne razlike u pogledu sadržaja žive u bubrežima i jetri između pojedinih lokaliteta ($p < 0,001$). Razlike između lokaliteta date su u tabeli 38.

Tabela 38. Statistička značajnost razlika u pogledu sadržaja Hg u bubrežima (Hg B1-21) i jetri (Hg J 1-21) između lokaliteta

Hg B 1-21 n			Hg J 1-21 n		
Hg B7	9	A	Hg J21	5	A
Hg B4	6	A B	Hg J3	8	A B
Hg B9	6	A B	Hg J11	7	A B C
Hg B2	6	A B C	Hg J13	8	A B C
Hg B18	9	A B C	Hg J19	5	A B C
Hg B17	6	A B C	Hg J9	6	A B C
Hg B10	6	A B C D	Hg J2	4	A B C
Hg B5	10	A B C D	Hg J12	7	A B C
Hg B16	9	A B C D	Hg J1	3	A B C
Hg B19	6	A B C D	Hg J8	7	A B C
Hg B13	9	A B C D	Hg J6	6	A B C
Hg B8	7	A B C D	Hg J16	8	A B C
Hg B3	10	A B C D	Hg J7	8	A B C
Hg B21	6	A B C D	Hg J17	5	A B C
Hg B6	7	A B C D	Hg J15	6	B C
Hg B15	6	A B C D	Hg J10	4	A B C
Hg B1	10	B C D	Hg J18	9	C
Hg B14	8	B C D	Hg J5	5	B C
Hg B11	7	B C D	Hg J4	6	C
Hg B20	4	C D	Hg J14	6	C
Hg B12	5	D	Hg J20	*nr.	

($p < 0,001$);

($p < 0,001$)

n-broj uzoraka sa registrovanim sadržajem;

*srednje vrednosti sadržaja žive u bubregu i jetri između lokaliteta koje ne dele zajedničko slovo su statistički značajne;

(ONE WAY ANOVA/post hoc Tukey HSD test); *nr-nije registrovano;

Koncentracije žive izmerene u bubrežima zeca su veće nego u jetri ($p < 0,001$). Statistički značajne razlike između sadržaja žive u bubrežima u odnosu na jetru su registrovane i unutar svih starosnih grupa ($p < 0,001$ za sve starosne grupe do 3 godine starosti; $p < 0,05$ za starije od 3 godine).

Kada se razmotre koncentracije žive u bubrežima, gledano po starosnoj strukturi ispitanih jedinki divljeg zeca uočava se porast srednjih vrednosti sadržaja žive u bubrežima po starosti. Kod jetre zečeva starosti od 3-6 meseci nešto je viša srednja vrednost (0,014 mg/kg) u odnosu na jedinke starosti godinu dana (0,012 mg/kg) pri čemu ova razlika nije statistički značajna ($p > 0,05$). Nakon prve godine života izmerene vrednosti žive u jetri pokazuju rast. Statistički značajne razlike između sadržaja žive u bubrežima i jetri između pojedinih starosnih grupa date su u tabeli 39.

Tabela 39. Statistička značajnost razlika u pogledu sadržaja Hg u bubrežima (Hg B) i jetri (Hg J) između starosnih grupa (meseci)

n sr.vredn.				n sr.vredn.			
Hg B 3g+	14	0.068	A	Hg J 3g+	13	0.030	A
Hg B 2-3g	50	0.057	A	Hg J 2-3g	46	0.025	A B
Hg B 1-2g	22	0.048	A B	Hg J 1-2g	16	0.020	A B C
Hg B 1g	40	0.034	B	Hg J 3-6m	18	0.014	B C
Hg B 3-6m	25	0.029	B	Hg J 1g	29	0.012	C

($p < 0,001$);

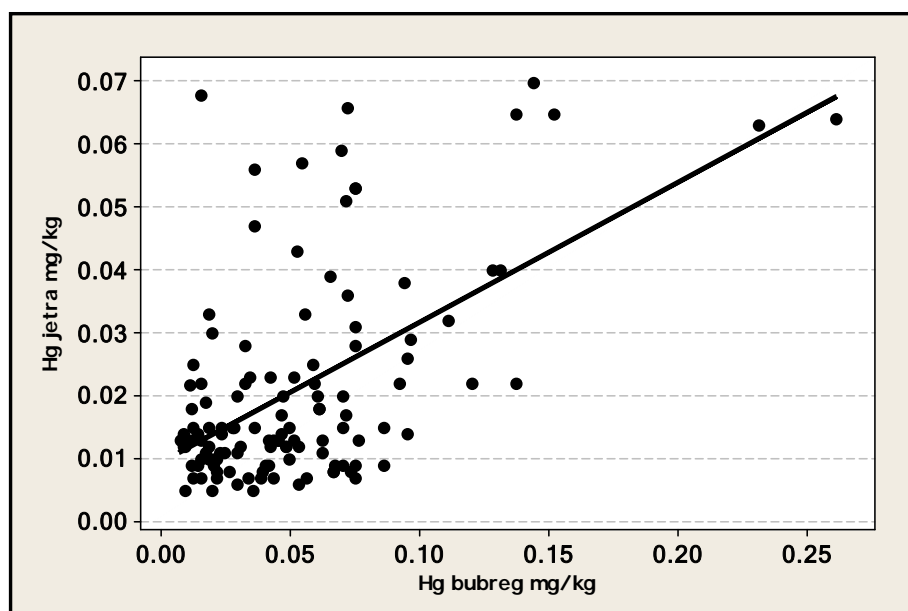
($p < 0,001$);

n - broj uzoraka sa registrovanim sadržajem;

*srednje vrednosti sadržaja žive u bubregu i jetri između starosnih grupa

koje ne dele zajedničko slovo su statistički značajne (ONE WAY ANOVA/post hoc Tukey HSD test);

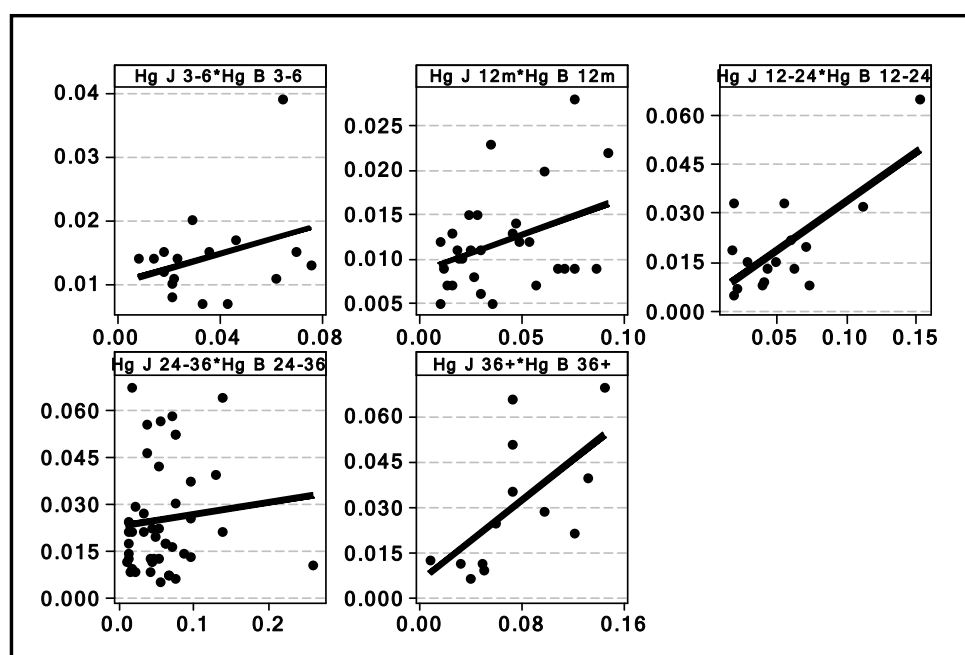
U dijagramu 34 je grafički prikazana zavisnost sadržaja žive u jetri i bubrežima. Regresiona jednačina modela je data kao: $Hg_{jetra} = 0.223 Hg_{bubreg} + 0.00947$; (r^2 -koeficijent determinacije; $r^2 = 31,2\%$; $p < 0,001$). Pokrivenost modela je umereno dobra i iznosi 31%, a uzajamna zavisnost ove dve koncentracije je statistički značajna.



Dijagram 34. Regresiona linija zavisnosti sadržaja žive u jetri i bubrežima

Posmatrano na sve ispitane uzorke, utvrđena je statistički značajna slaba pozitivna korelaciona povezanost između sadržaja žive u bubregu i jetri ($P_s=0,38$; $p<0,001$; P_s -Pearson-ov korelacioni koeficijent). Po starosnim grupama koeficijenti korelacije i statistička značajnost povezanosti su bili: za zeca starosti 3-6 meseci korelaciona povezanost nije registrovana; za zeca starosti godinu dana ($P_s=0,37$; $p<0,05$; slaba pozitivna povezanost); za zeca starosti 1-2 godine ($P_s=0,72$; $p<0,001$; srednja pozitivna povezanost); za zeca starosti 2-3 godine (korelaciona povezanost nije registrovana); za zečeve starije od 3 godine ($P_s=0,64$; $p<0,05$; srednja pozitivna povezanost).

U dijagramu 35 prikazane su regresione linije zavisnosti sadržaja žive u jetri sa povećanjem koncentracije u bubrezima po starosnim grupama. Jednačine modela i regresioni koeficijenti su prikazani u tabeli 40.



Dijagram 35. Regresione linije zavisnosti sadržaja žive u jetri (Y osa) i bubregu (X osa) po starosnim grupama

Tabela 40. Regresione jednačine modela po starosnim grupama

STAROST	$Y_{(Hg J)} = k X_{(Hg B)} + b$	koeficijenti determinacije
3-6 meseci	$Y = 0,1127 X + 0,01022$	$r^2 = 10,8\%$
1 godina	$Y = 0,08327 X + 0,00856$	$r^2 = 14,1\%$
1-2 godine	$Y = 0,2993 X + 0,003797$	$r^2 = 51,2\%$
2-3 godine	$Y = 0,03879 X + 0,02316$	$r^2 = 1,0\%$
3 godine+	$Y = 0,3324 X + 0,006296$	$r^2 = 40,7\%$

Može se izvesti zaključak da, generalno, sa povećanjem starosti raste i bioakumulacija žive u bubrezima i jetri ispitanih divljih zečeva, pri čemu su vrednosti zabeležene u bubrezima duplo veće u odnosu na jetru i ova razlika je statistički značajna, gledano na sve ispitane uzorke, odnosno i unutar svih starosnih grupa ($p<0,001$). Regresione linije (dijagram 35) pokazuju oštiji trend povećanja sadržaja žive u jetri sa povećanjem koncentracija u bubrezima u starosnim grupama zečeva

starih od 1-2 godine i preko 3 godine. Starije jedinke divljeg zeca (2-3 i preko 3 godine starosti) pokazuju statistički značajnu razliku u pogledu sadržaja žive u bubregu u odnosu na mlađe (3-6 meseci i godinu dana stare jedinke), dok su u jetri statistički značajne razlike registrovane između najstarije (3 godine i starije) u odnosu na mlađe grupe (3-6 meseci i godinu dana).

Sadržaj žive u jelenskoj divljači različite starosti iz lovišta Srbije (*Petrović, 2007*) u jetri se kretao između 0,005-0,030 mg/kg, a u bubregu između 0,005-0,104 mg/kg. Koncentracije žive u jetri zeca bile su između 0,007-0,070 mg/kg, a u bubregu su se kretale u intervalu 0,005-0,261 mg/kg. Primećuje se da su maksimalne izmerene koncentracije žive u jetri zeca više od dva puta veće nego u jetri jelena, odnosno maksimalne koncentracije žive u bubrezima zeca i do 8 puta veće u odnosu na bubreg jelena. U srnećoj divljači sadržaj žive je bio na daleko nižem nivou. U jetri nije registrovan, dok se u bubregu kretao u opsegu koncentracija 0,008-0,021 mg/kg.

Dobijeni rezultati ukazuju da se za poređenje akumuliranih količina žive u određenom vremenskom periodu, na određenom lovnom području, preko tkiva divljeg zeca mogu koristiti jedinke stare oko 3 godine i godinu dana. Ova konstatacija je u saglasnosti sa završnim razmatranjima koje navodi *Mayack (2012)* koji je analizirajući sadržaj žive, olova i kadmijuma u jetri kanadske lasice, konstatovao da, osim odgovarajućeg broja uzoraka sa određenog područja od interesa, treba koristiti životinje starosti 2-3 godine. Prema istom autoru, pogodnim odabirom starosti životinja sa kojih se uzima i analizira tkivo postiže se bolja preciznost u dugoročnijem monitoringu žive akumulirane kroz lanac ishrane u određenom području preko njenog sadržaja u hepatičnom tkivu (interval uzorkovanja jedinki od npr. 5 - 10 godina). Imajući u vidu kompleksnost dinamike kruženja žive u prirodi i njenog unosa putem atmosfere deponicije u lanac ishrane (*Mason i sar., 2005*) ovaj pristup može biti primenjen u praćenju žive u tkivu jedinki zeca koje žive u različitim ekosistemima.

Zadržavanje žive u tkivu, je u suštini, dinamička ravnoteža unutar organizma i može biti rezultat izloženosti ovom toksičnom elementu unutar tkiva jedinke i nakon što je neki konkretni izvor žive prestao da bude aktivan. Prema *Wren-u i sar. (1986a, 1986b, 1988)* koji su ispitivali sadržaj žive u jetri lasica ulovljenih u rečnom području, koje je niz godina zagađivano ispuštanjem žive u vodotok iz hlor-alkalnog postrojenja, 15-22 godine nakon prestanka rada postrojenja ispitani sadržaj žive u jetri lasica sa tog područja se kretao između 0,6 - 6,9 mg/kg. Prema *Milhollen-u i sar. (2006)* folijarne koncentracije žive u lisnatim delovima biljaka, uglavnom nisu u korelaciji sa koncentracijama žive u zemljištu, a najveća prisutnost žive u biljkama je u korenu biljke, što ukazuje da je glavni unos žive u tkivo zeca povezan sa sezonskim varijacijama kroz lanac ishrane (resorpcija žive iz zemljišta u biljke) i globalnim kruženjem žive (aerodepozicija). Resorpcija žive u biljke opada sa porastom organskih materija u zemljištu, tako da se intervali nalaza bioakumuliranih količina žive u okvirima starosnih grupa zečeva mogu tumačiti i razlikama u biodostupnosti žive na pojedinim terenima u toku životnog veka (*Fairbrother i sar., 2007*). Analizom podataka o izmerenim koncentracijama žive u renalnom i hepatičnom tkivu zeca iz različitih oblasti drugih zemalja sa sličnim prirodnim uslovima kao u Srbiji, primećuje se da su srednje vrednosti žive u bubrezima i jetri dobijene iz lovišta Srbije, uglavnom na niskom nivou (bubreg: 0,046 mg/kg; jetra: 0,020 mg/kg) sa intervalima nalaza koji su iznosili: za bubreg od 0.005 mg/kg do 0.261 mg/kg, odnosno za jetru između 0,006 mg/kg i 0,070 mg/kg.

Poređenjem rezultata iz lovišta Srbije sa podacima iz Hrvatske (*Spirić i sar., 2012*) koji su dobijeni ispitivanjem koncentracije žive u bubrezima (0,022-0,126 mg/kg) i jetri (0,007-0,045 mg/kg) divljih zečeva ulovljenih u blizini postrojenja za rafinerijsku proizvodnju zemnog gasa, kao i onih iz ravničarskih poljoprivrednih predela istočne Slavonije (*Skrivanko i sar., 2008*) gde je srednja vrednost u bubrezima iznosila 0,030 mg/kg, primetan je viši nivo žive u bubrezima zečeva iz Srbije, kako u pogledu srednjih vrednosti, tako i maksimalno zabeleženih vrednosti u oba organa. *Massanyi i sar. (2003)* su prikazali vrednosti medijane žive u bubrezima evropskog divljeg zeca sa teritorije Slovačke (0,068 mg/kg) koja je skoro duplo veća od vrednosti medijane zabeležene u Srbiji (0,036 mg/kg), dok je vrednost medijane za jetru (0,023 mg/kg) takođe veća od one iz Srbije (0,014 mg/kg).

Koncentracije žive u bubrezima i jetri arktičkog zeca (mladi zečevi: 0,201 mg/kg i 0,016 mg/kg; stariji zečevi: 0,541 mg/kg i 0,172 mg/kg, respektivno) iz Kanadske polarne oblasti Nunavut (*Pedersen i Lierhagen, 2006*) su bile višestruko iznad vrednosti koje su dobijene za evropskog divljeg zeca iz Srbije i posledica su prisutnog zagađenja teškim metalima u polarnom krugu (*AMAP, 1998*).

Ova poređenja ukazuju da se preko tkiva divljeg zeca mogu uočiti vidljive razlike u sadržaju žive između pojedinih regiona i zemalja, ali da bi oni bili direktno poredivi starosna struktura zečeva u nezavisnim istraživanjima mora biti podjednako zastupljena ili poznata.

Koncentracije žive u bubrezima divljih zečeva veće od maksimalno dozvoljene vrednosti od 0,100 mg/kg (*Pravilnik RS, 1992*) su bile povećane u 10 uzorka bubrega, što čini 6,4% u odnosu na ukupan broj ispitanih uzoraka, odnosno 6,6 % od broja uzoraka u kome je živa registrovana (151 uzorak ili 96,8% od ukupnog broja). U jetri povišene koncentracije iznad propisane granice nisu bile zabeležene.

6.4 Gvožđe u bubrezima i jetri divljeg zeca

Statističkom analizom dobijenih podataka o koncentraciji gvožđa u tkivima divljeg zeca sa teritorija lovačkih udruženja sa kojih su sakupljeni uzorci, registrovane su statistički značajne razlike u pogledu sadržaja gvožđa u bubrezima između LU6-Beograd i LU8-Ćićevac ($p < 0,001$). U jetri, statistički značajne razlike su registrovane između LU6-Beograd i LU11-Prokuplje ($p < 0,001$). Između ostalih teritorija lovačkih udruženja, u bubregu i jetri, osim pomenutih nije bilo značajnih razlika u pogledu sadržaja gvožđa. Posmatrano na sve ispitane uzorke, srednje vrednosti gvožđa izmerene u jetri zeca su veće nego u bubrezima i ta razlika je statistički značajna ($p < 0,001$). Razlike između sadržaja gvožđa u bubrezima i jetri između lokaliteta date su u tabeli 41.

Tabela 41. Statistička značajnost razlika u pogledu sadržaja Fe u bubrežima (Fe B1-21) i jetri (Fe J 1-21) između lokaliteta

Fe B 1-21	n	Fe J 1-21	n
Fe B6	7	Fe J6	7
Fe B20	6	Fe J2	6
Fe B18	9	Fe J5	10
Fe B21	6	Fe J8	7
Fe B13	9	Fe J17	6
Fe B5	10	Fe J3	10
Fe B17	6	Fe J20	6
Fe B3	10	Fe J1	10
Fe B2	6	Fe J4	6
Fe B1	10	Fe J13	9
Fe B4	6	Fe J12	7
Fe B16	9	Fe J16	9
Fe B9	6	Fe J7	9
Fe B7	9	Fe J19	6
Fe B10	6	Fe J21	6
Fe B12	7	Fe J10	6
Fe B14	8	Fe J18	9
Fe B19	6	Fe J9	6
Fe B11	7	Fe J14	8
Fe B15	6	Fe J15	6
Fe B8	7	Fe J11	8

(p<0.001);

(p<0.01)

n-broj uzoraka sa registrovanim sadržajem;
 *srednje vrednosti sadržaja gvožđa u bubrežima i jetri između lokaliteta koje ne dele zajedničko slovo su statistički značajne (ONE WAY ANOVA/post hoc Tukey HSD test);

Statistički značanje razlike između sadržaja gvožđa u bubrežima i jetri nisu registrovane unutar starosnih grupa zečeva od 3-6 meseci i godinu dana (p>0,05). Koncentracije gvožđa izmerene u jetri zečeva u ostalim starosnim grupama (1-2 godine, 2-3 godine i starijih od 3 godine) su veće nego u bubrežima i razlika u sadržaju gvožđa između ova dva organa je statistički značajna (p<0,001). Između starosnih grupa nisu registrovane statistički značajne razlike u sadržaju gvožđa u bubrežima i jetri (tabela 42).

Tabela 42. Statistička značajnost razlika u pogledu sadržaja Fe u bubrežima (Fe B) i jetri (Fe J) između starosnih grupa

	n	sr.vredn.			n	sr.vredn.	
Fe B 3-6	28	110.2	A	Fe J 3g+	14	155.0	A
Fe B 1g	41	109.2	A	Fe J 1-2g	22	145.6	A
Fe B 1-2g	22	107.9	A	Fe J 2-3g	51	140.7	A
Fe B 2-3g	51	94.5	A	Fe J 1g	41	132.0	A
Fe B 3g+	14	92.5	A	Fe J 3-6m	28	128.7	A

n-broj uzoraka sa registrovanim sadržajem;

(p>0.05); nisu registrovane značajne razlike;

(p>0.05); nisu registrovane značajne razlike;

Srednje vrednosti gvožđa u bubrežima i jetri između starosnih grupa ne pokazuju značajne razlike (p>0,05). Dobijene srednje vrednosti za sadržaj gvožđa u bubrežima po teritorijama lovačkih udruženja (64,8-144,2 mg/kg, LU8 Čičevac i LU6-Beograd, min-max, respektivno) odnosno jetri (95,0-216,6 mg/kg, LU11-Prokuplje, LU6-Beograd, min-max, respektivno) evropskog divljeg zeca sa teritorije

Srbije su niže od onih iz Slovačke (*Czajkowska i sar., 2011*) koji su ispitivali sadržaj gvožđa u jetri i bubrezima divljih zečeva slične starosti sakupljenih sa devet različitih područja jugozapadne Slovačke (bubreg:139,7-186,6 mg/kg; jetra:136,6 - 196,7 mg/kg). Izuzetak od ovog poređenja je teritorija LU6 Beograd, i to u pogledu srednje vrednosti koncentracije gvožđa u jetri (216,6 mg/kg) s tim što treba uzeti u obzir da su na teritoriji ovog lovačkog područja zabeležene i maksimalne pojedinačne vrednosti gvožđa u bubregu i jetri (324,1 i 313,1 mg/kg) što podiže srednju vrednost gvožđa za ovo područje. Poljski autor *Falandysz (1987)* je prikazao sadržaj gvožđa u bubrezima i jetri domaćih životinja (interval nalaza uključuje farmski gajenog zeca) iz klanica lociranih u severnoj Poljskoj, i to: za bubreg između 27-83 mg/kg; za jetru između 50-180 mg/kg.

Poređenjem dobijenih podataka za srednji nivo gvožđa u bubrezima i jetri evropskog divljeg zeca sa područja Srbije sa starijim literaturnim podacima (*Ferguson i sar., 1962*) koji su dobijeni spektrofotometrijskom analizom gvožđa u raznim tkivima (pluća, bubreg, jetra, slezina) kako su autori naveli "normalnog", odnosno farmski gajenog zeca u čijoj ishrani je preovladavala namenska proizvođačka smeša za zeca, šargarepa i kelj, dobijeni su rezultati koji su se kretali, za bubreg između 36-300 mg/kg, srednja vrednost ($123 \pm 68,8$ mg/kg), odnosno za jetru između 43-540 mg/kg, srednja vrednost ($246,3 \pm 180,6$ mg/kg). Registrovani nivo gvožđa u bubrezima i jetri nije od značaja što se tiče izloženosti divljeg zeca ovom metalu u lovištima Srbije, a rezultati su u granicama fizioloških vrednosti za gvožđe kao esencijalnog elementa u renalnom i hepatičnom tkivu divljeg zeca. Treba pomenuti da nisu registrovane korelacione povezanosti između sadržaja gvožđa u bubrezima i jetri sa sadržajem ispitanih toksičnih elemenata (kadmijuma, olova i žive) u ovim organima, gledano na sve ispitane uzorke tkiva.

6.5 Cink u bubrezima i jetri divljeg zeca

Statističkom analizom dobijenih podataka o koncentraciji cinka u tkivima divljeg zeca sa teritorija lovačkih udruženja sa kojih su sakupljeni uzorci, registrovane su statistički značajne razlike ($p < 0,001$) u pogledu sadržaja cinka u bubrezima između različitih teritorija lovačkih udruženja. U jetri, statistički značajne razlike su registrovane između LU15-Novi Sad u odnosu na LU13-Aleksa Šantić i LU6-Beograd ($p < 0,001$). Između ostalih teritorija lovačkih udruženja u jetri, osim pomenutih, nije bilo značajnih razlika u pogledu sadržaja cinka. Razlike između lokaliteta date su u tabeli 43.

Gledano na sve ispitane uzorke, srednje vrednosti koncentracija cinka u ispitanim uzorcima bubrega zečeva (20,83 mg/kg) su niže od onih u jetri (25,17 mg/kg), a razlika u sadržaju ovog metala između dva organa je statistički značajna ($p < 0,001$). Statistički značajne razlike između sadržaja cinka u bubrezima u odnosu na jetru su registrovane i unutar starosnih grupa do 3 godine starosti ($p = 0,001$), dok kod zečeva starijih od 3 godine razlike u srednjim vrednostima sadržaja cinka u ova dva organa nisu bile statistički značajne ($p > 0,05$).

Između starosnih grupa registrovana je statistički značajna razlika u pogledu sadržaja cinka u bubrezima zečeva starijih od 3 godine u odnosu na sve ostale. Nije utvrđeno postojanje značajnih razlika u sadržaju cinka u bubrezima između starosnih grupa 6 meseci, godinu dana, 1-2 godine i 2-3 godine. Razlike između sadržaja cinka u jetri između starosnih grupa nisu bile statistički značajne (tabela 44).

Tabela 43. Statistička značajnost razlika u pogledu sadržaja Zn u bubrezima (Zn B1-21) i jetri (Zn J 1-21) između lokaliteta

Zn B 1-21	n		Zn J 1-21	n	
Zn B3	10	A	Zn J15	6	A
Zn B1	10	A	Zn J10	6	A B
Zn B2	6	A B	Zn J17	6	A B
Zn B4	6	A B C	Zn J21	6	A B
Zn B20	6	A B C	Zn J20	6	A B
Zn B8	7	A B C	Zn J4	6	A B
Zn B15	6	A B C	Zn J9	6	A B
Zn B17	6	A B C	Zn J11	8	A B
Zn B21	6	A B C	Zn J3	10	A B
Zn B18	9	A B C	ZnJ1	10	A B
Zn B10	6	A B C	Zn J19	6	A B
Zn B12	7	A B C	Zn J18	9	A B
Zn B6	7	A B C	Zn J8	7	A B
Zn B19	6	A B C	Zn J14	8	A B
Zn B14	8	A B C	Zn J5	10	A B
Zn B7	9	B C	Zn J2	6	A B
Zn B13	9	B C	Zn J7	9	A B
Zn B5	10	B C	Zn J12	7	A B
Zn B16	9	B C	Zn J16	9	A B
Zn B11	7	C	Zn J13	9	B
Zn B9	6	C	Zn J6	7	B

(p<0.001); (p<0.001)

n-broj uzoraka sa registrovanim sadržajem;
*srednje vrednosti sadržaja kadmijuma u bubregu i jetri između lokaliteta koje ne dele zajedničko slovo su statistički značajne (ONE WAY ANOVA/post hoc Tukey HSD test);

Tabela 44. Statistička značajnost razlika u pogledu sadržaja Zn u bubrezima (Zn B) i jetri (Zn J) između starosnih grupa

	n	sr.vredn.			n	sr.vredn.	
Zn B 3g+	14	25.38	A	Zn J 3g+	14	26.76	A
Zn B 1-2g	22	21.01	B	Zn J 2-3g	51	26.00	A
Zn B 2-3g	51	21.40	B	Zn J 1g	41	24.93	A
Zn B 1g	41	19.95	B	Zn J 1-2g	22	24.78	A
Zn B3-6m	28	19.10	B	Zn J 3-6m	28	23.52	A

n-broj uzoraka sa registrovanim sadržajem;
(p<0.001);

(p>0.05); nisu registrovane značajne razlike;

Dobijene srednje vrednosti za sadržaj cinka u bubrezima zeca po teritorijama lovačkih udruženja su se kretale u intervalu 16,95-24,95 mg/kg (LU9-Kuršumlja i LU3-Tamnavac-Ub, min-max, respektivno) odnosno jetri 20,92-29,98 mg/kg (LU6-Beograd i LU15-Novi Sad).

Poređenjem srednjih vrednosti sadržaja cinka u bubrezima i jetri evropskog divljeg zeca iz Srbije (20,9 i 25,18 mg/kg, respektivno) sa rezultatima srednjih vrednosti sadržaja cinka iz Finske i Poljske, koje su date u tabeli 45, konstatuju se niže vrednosti u oba organa evropskog divljeg zeca iz Srbije u odnosu na divlje zečeve iz nezagađenih oblasti severne Finske i centralne Poljske, odnosno industrijskih oblasti Finske kao i onih koje su izmerene u organima planinskog divljeg zeca (*Lepus timidus*).

Tabela 45. Srednje vrednosti sadržaja cinka u bubrezima i jetri divljih zečeva iz Finske i Poljske

	bubreg	jetra	zemlja	autori
Koncentracija cinka (mg/kg, vlažna masa) <i>Lepus europaeus</i> evropski divlji zec	28,8 ^a /28,9 ^b	37,1 ^a /42,8 ^b	Finska	Venäläinen i sar., 1996
	26,5 ^a	31,3 ^a	Poljska	Myslek i Kalisińska, 2006
Koncentracija cinka (mg/kg, vlažna masa) <i>Lepus timidus</i> planinski divlji zec	27,5 ^a /34,8 ^b	31,4 ^a /31,7 ^b	Finska	Venäläinen i sar., 1996

a-nezagađene oblasti, b-industrijske oblasti;

Podaci saopšteni od autora koji su se bavili eksperimentalnim istraživanjima, sadržaja cinka u jetri laboratorijskih zečeva (beli novozelandski zec) kojima su administrirani stabilni cinkovi izotopi su iznosili, za gravidne ženke 33,5 mg/kg (*McIntosh i Lutwak-Mann, 1972*), 28,0 mg/kg u jetri zečeva koji su koristili ishranu sa veoma niskim sadržajem cinka (7 mg/kg) u trajanju od 12 nedelja i 20,3 mg/kg u jetri zečeva sa ishranom u kojoj je cink bio u velikom deficitu (2 mg/kg) (*Bentley i Grubb, 1991*).

Uočene razlike u sadržaju cinka u ispitanim tkivima zeca između pojedinih lokaliteta, su vidljivije kada se poredе vrednosti u bubregu, a manje izražene kada se poredi sadržaj cinka u jetri i mogu ukazivati na određeni deficit cinka u ishrani zečeva sa područja koja se statistički razlikuju od većine ostalih, odnosno na ujednačen unos cinka kroz ishranu na teritorijama ostalih lovačkih udruženja.

Dobijene vrednosti cinka u ispitanim tkivima divljeg zeca iz Srbije se nalaze u okvirima fizioloških granica (*Puls, 1994*) i ukazuju na odsustvo cinka u rejonima lovačkih udruženja kao zagađivača okoline. Prisustvo cinka u okolini karakteristično je, uglavnom, za blizinu topionica obojenih metala (*Sileo i Beyer, 1985*) odnosno rudnika, drugih metalurških postrojenja, odlagališta otpada, industrije elektronskih komponenti i proizvodnje pesticida (*Sparks, 2005*). Takođe, ne treba isključiti i određeni, ograničeni, ali prisutan uticaj na razlike u izmerenim koncentracijama cinka koje mogu imati pozitivne ili negativne statistički značajne korelacione povezanosti sa drugim toksičnim elementima (Hg i Cd) i esencijalnim metalima (npr. Fe) unutar pojedinih starosnih grupa.

Gledano na sve ispitane uzorke, registrovana je slaba, statistički značajna negativna korelaciona zavisnost između sadržaja cinka u jetri i gvožđa (ZnJ-FeJ: Ps=-0,38, p=0,001; Ps-Pearson-ov korelacioni koeficijent). Ova korelaciona povezanost je bila najuočljivija u najstarijoj grupi zečeva, preko 36 meseci (ZnJ-FeJ: Ps=-0,68, p=0,007). Unutar starosne grupe 3-6 meseci registrovana je slaba pozitivna korelaciona povezanost sadržaja cinka i žive u jetri (ZnJ-HgJ: Ps=0,52, p=0,028). Unutar starosne grupe od 12 meseci, registrovane su slabe negativne

korelaciona povezanosti između sadržaja cinka i kadmijuma odnosno žive u jetri (ZnJ-CdJ: $P_s = -0,37$, $p < 0,05$; ZnJ-HgJ: $P_s = -0,36$, $p < 0,05$). Postojanje brojnih, sličnih korelacionih povezanosti sadržaja cinka u bubrezima i jetri sa sadržajem drugih metala, slabih do umereno jakih, u tkivu herbivorne divljači i stoke zabeležene su i od strane drugih autora (Goyer, 1997; Medvedev, 1999; Lopez i sar., 2002; Brekken i Steinnes, 2004; Myslek i Kalisińska, 2006; Fairbrother, 2007).

Objašnjenje gore pomenutih korelacionih zavisnosti, povezuje sa sa sličnim homeostatskim mehanizmom grupe tzv. „katjonskih metala“, odnosno esencijalnih elemenata bitnih za zdravstveno stanje organizma u koje spadaju: cink, gvožđe, mangan, bakar i hrom (Fairbrother, 2007).

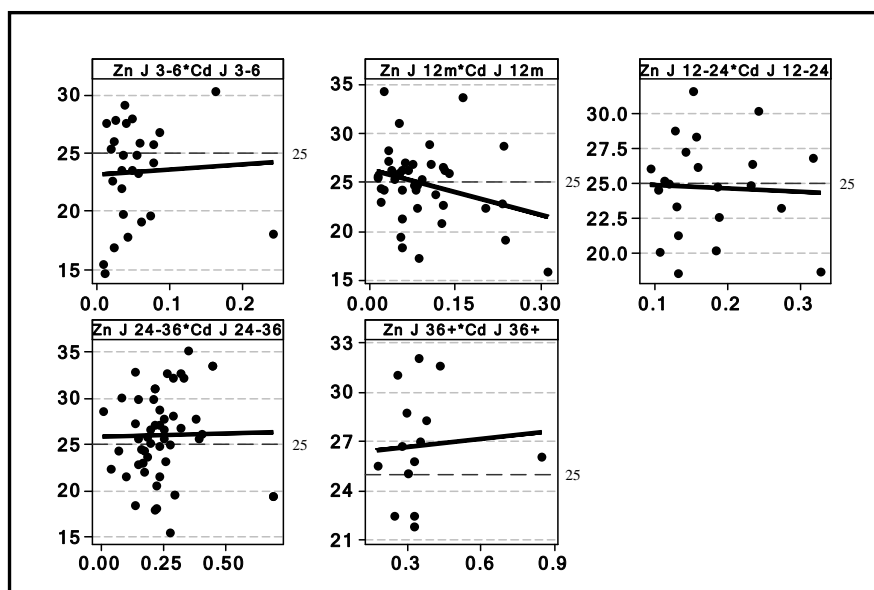
Postoje brojni naučni radovi koji definišu ključnu ulogu metalotioneina (MT) u homeostatskom mehanizmu (unos, akumulacija, distribucija i ekskrecija) „katjonskih elemenata“ (Bremner 1987; Nordberg i Nordberg 2000; Vašak i Hasler 2000; Tapia i sar., 2004; Petering i sar., 2009). Metalotioneini predstavljaju proteine bogate cisteinom koji su prisutni u različitim tkivima sisara (bubreg, jetra, mozak). Glavnu fiziološku funkciju obavljaju uspostavljanjem homeostaze (održavanje optimalnog nivoa elementa) pre svega cinka i bakra, radi sprečavanja citotoksičnosti koju izaziva na primer, kadmijum, ali i drugi toksični elementi (živa), odnosno sakupljaju slobodne radikale nastale tokom oksidativnog stresa (Sabolić i sar., 2010).

Kao ilustracija ove tvrdnje mogu poslužiti regresione linije zavisnosti sadržaja cinka (Y-osa) i kadmijuma (X-osa) u jetri, dobijene od podataka o izmerenim koncentracijama cinka u bubrezima i jetri po starosnim grupama divljeg zeca (dijagram 36). Iz njih se zapaža da postoji tendencija održavanja koncentracije cinka na približnom nivou vrednosti koje se kreću oko 25 mg/kg (presek regresione linije sa Y osom), sa porastom akumulacije kadmijuma nakon prve godine starosti. Na ovaj način se indirektno, može pratiti reakcija organizma divljeg zeca starosti godinu dana na povećanje vrednosti akumuliranog kadmijuma u jetri. Uočava se da vidljiva akumulacija kadmijuma počinje u starosnoj dobi od 1 godine. Istovremeno, sa povećanjem bioakumulacije kadmijuma, zapaža se tendencija pada sadržaja cinka u jetri u ovoj starosnoj grupi (negativan koeficijent nagiba regresione linije).

Jednačina regresionog modela za starosnu grupu od 1 godine (12 meseci) glasi: $Zn J_{12m} = - 18.9 Cd J_{12m} + 26.2$ ($p < 0,001$; koeficijent determinacije $r^2 = 12,5\%$).

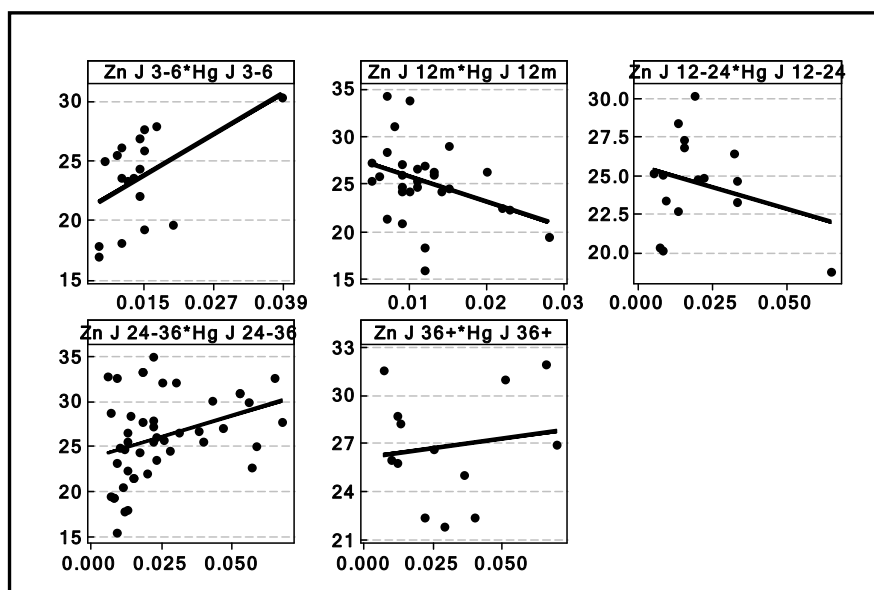
Sa povećanjem starosti zeca, nakon 1 godine, raste akumulacija kadmijuma i registruje se tendencija porasta nagiba regresionih linija (dijagram 36) usled povećanja koncentracija cinka u jetri, što bi se moglo protumačiti kao odgovor organizma divljeg zeca na toksično delovanje rastućih koncentracija kadmijuma.

Uporednom analizom međuzavisnosti vrednosti cinka i kadmijuma u jetri zapaža se da starosna grupa od 1 godine starosti može poslužiti kao osnova za praćenje promene sadržaja kadmijuma u tkivu zeca na određenom lokalitetu, poređenjem sa životinjama starim 2-3 godine i preko 3 godine radi postizanja bolje preciznosti monitoringa kadmijuma, na šta ukazuju i registrovane značajne statističke razlike sadržaja kadmijuma u oba organa između starosnih grupa (tabela 34).



Dijagram 36. Regresione linije zavisnosti sadržaja cinka (Zn J) i kadmijuma (Cd J) u jetri po starosnim grupama

Slične regresione tendencije se mogu videti u dijagramu 37 u kome su date međuzavisnosti sadržaja cinka i žive u jetri po starosnim grupama.



Dijagram 37. Regresione linije zavisnosti sadržaja cinka (Zn J) i žive (Hg J) u jetri po starosnim grupama

Uočene regresione tendencije međuzavisnosti sadržaja cinka i kadmijuma odnosno žive u jetri su u saglasnosti sa radovima *Onosake i Cherian-a (1981, 1982)* odnosno *Onosake i sar. (1984)* koji su zaključili da je cink glavni inicijator sinteze metalotioneina (MT) u mekim tkivima, a da se drugi unešeni metali, kao kadmijum i živa jednostavno transportuju do mesta povezivanja sa MT u skladu sa njihovim afinitetom, uz istiskivanje cinka sa tih mesta unutar pojedinih tkiva (u ovom slučaju bubrega i jetre). Prema ovim autorima, metalotionein je privremeni rezervoar cinka koji služi u svrhe razvoja i rasta sisara, analogno feritinu (FT) u metabolizmu gvožđa.

Uloga metalotioneina i cinka je univerzalna u esencijalnim procesima kao što su DNA, RNA i sinteza proteina. Obzirom da cink ne spada u redoks aktivne elemente, on u tkivu obavlja ulogu indirektnog antioksidanta u kompeticiji sa prooksidirajućim elementima na mestima gde se vezuje za MT kao što je npr. gvožđe (Reiterer i sar., 2004; Jenner i sar., 2007, Abdelhalim, 2010). Sa ovim u vezi mogu biti protumačene korelacione povezanosti sadržaja cinka i gvožđa u jetri.

6.6 Mangan u bubrezima i jetri divljeg zeca

Statističkom analizom dobijenih podataka o koncentraciji mangana u tkivima divljeg zeca sa teritorija lovačkih udruženja sa kojih su sakupljeni uzorci, registrovane su statistički značajne razlike u pogledu sadržaja mangana u bubrezima i jetri između pojedinih lokaliteta ($p < 0,001$). Razlike između lokaliteta date su u tabeli 46.

Srednje vrednosti koncentracija mangana u ispitanim uzorcima bubrega zečeva (1,75 mg/kg) su niže od onih u jetri (2,36 mg/kg), odnosno razlika u sadržaju ovog metala između dva organa je statistički značajna ($p < 0,001$). Statistički značajne razlike između sadržaja mangana u bubrezima u odnosu na jetru su registrovane i unutar svih starosnih grupa ($p < 0,001$ do $p < 0,05$). Između starosnih grupa nisu registrovane statistički značajne razlike u pogledu sadržaja mangana u bubrezima i jetri zečeva (tabela 47).

Tabela 46. Statistička značajnost razlika u pogledu sadržaja Mn u bubrezima (Mn B1-21) i jetri (Mn J 1-21) između lokaliteta

Mn B 1-21	n		Mn J 1-21	n	
Mn B20	6	A	Mn J3	10	A
Mn B14	8	A B	Mn J20	6	A B
Mn B11	7	A B	Mn J10	6	A B
Mn B1	10	A B	Mn J11	8	A B
Mn B15	6	A B C	Mn J15	6	A B
Mn B17	6	A B C	Mn J21	6	A B
Mn B8	7	A B C	Mn J14	8	A B
Mn B10	6	A B C	Mn J9	6	A B
Mn B21	6	A B C	Mn J1	10	A B
Mn B13	9	A B C	Mn J19	6	A B
Mn B19	6	A B C	Mn J5	10	A B
Mn B4	6	A B C	Mn J17	6	A B
Mn B6	7	A B C	Mn J7	9	A B
Mn B9	6	A B C	Mn J16	9	A B
Mn B2	6	A B C	Mn J4	6	A B
Mn B12	7	B C	Mn J6	7	A B
Mn B5	10	B C	Mn J13	9	B
Mn B16	9	B C	Mn J8	7	B
Mn B18	9	B C	Mn J12	7	B
Mn B7	9	B C	Mn J18	9	B
Mn B3	10	C	Mn J2	6	B

($p < 0,001$);

($p < 0,001$)

n-broj uzoraka sa registrovanim sadržajem;

*srednje vrednosti sadržaja kadmijuma u bubregu i jetri između lokaliteta koje ne dele zajedničko slovo su statistički značajne (ONE WAY ANOVA/post hoc Tukey HSD test);

Tabela 47. Statistička značajnost razlika u pogledu sadržaja Mn u bubrežima (Mn B) i jetri (Mn J) između starosnih grupa

N sr.vredn.				N sr.vredn.			
Mn B3-6m	28	1.96	A	Mn J 1g	41	2.58	A
Mn B 1g	41	1.88	A	Mn J 3-6m	28	2.47	A
Mn B 2-3g	51	1.65	A	Mn J 1-2g	22	2.39	A
Mn B 1-2g	22	1.59	A	Mn J 3g+	14	2.30	A
Mn B 3g+	14	1.55	A	Mn J 2-3g	51	2.15	A

n-broj uzoraka sa registrovanim sadržajem;

(p>0.05);nisu registrovane značajne razlike; (p>0.05); nisu registrovane značajne razlike;

Dobijene srednje vrednosti za sadržaj mangana u bubrežima zeca po teritorijama lovačkih udruženja su se kretale u intervalu 1,24 - 3,04 mg/kg (LU3-Tamnavac-Ub i LU20-Mali Radinci, min-max, respektivno) odnosno jetri 1,64-3,26 mg/kg (LU2-Bajina Bašta i LU3-Tamnavac-Ub).

U dostupnoj literaturi nema puno podataka o sadržaju mangana u bubrežima i jetri evropskog divljeg zeca iz životne sredine. Dobijene srednje vrednosti mangana u organima zeca iz Srbije su nešto niže od onih u organima evropskog divljeg zeca iz Poljske, koje su iznosile za bubrež 2,0 mg/kg, odnosno jetru 2,51 mg/kg (*Myslek i Kalisińska, 2006*). Koncentracije mangana u tkivima uobičajeno hranjenih, pitomih zečeva su ispitali *Fore i Morton (1952)*. "Normalne" vrednosti za bubrež i jetru u njihovom istraživanju su iznosile 1,2 mg/kg i 2,1 mg/kg, respektivno, izraženo na vlažnu masu. Podaci o sadržaju mangana u tkivu krupne herbivorne divljači iz centralne i severne Evrope (Poljska, Nemačka, Estonija, Švedska) čiji je pregled dao *Falandysz (1994)* su za bubrež i jetru iznosili: za srndaća (1,9 - 2,4 mg/kg i 1,5-2,8 mg/kg); za odraslog mužjaka jelena (1,1 - 5 mg/kg i 1,3-8,6 mg/kg); za losa (1,2-3,2 mg/kg i 0,8-2,7 mg/kg); za bizona (1,1 i 3,6 mg/kg). Poređenjem vrednosti, uviđa se manja ili veća sličnost podataka za tkivo divljeg zeca iz Srbije sa sadržajem mangana u bubrežima i jetri krupne herbivorne divljači iz drugih oblasti Evrope, sa tim što su primetne veće srednje vrednosti mangana u bubrežima i jetri odraslog mužjaka jelena (5,0 i 8,6 mg/kg).

Srednja vrednost mangana u tkivu evropskog divljeg zeca je bliska fiziološkoj i nije od značaja kada se date vrednosti posmatraju u kontekstu izloženosti ovom metalu u životnoj sredini, odnosno potencijalne toksičnosti registrovanih količina mangana po same jedinke. Od ukupno ispitanih organa sa 21 lovnog područja, u 18 područja srednje vrednosti koncentracija mangana u bubrežima su se nalazile između 1,0 -2,0 mg/kg. Srednje vrednosti mangana u bubrežima zečeva sa teritorije 2 udruženja (LU10-Vranje i LU14-Sombor) su bile između 2-2,5mg/kg, dok je najviša srednja vrednost mangana (preko 3,0 mg/kg) zabeležena u bubrežima zeca sa teritorije ovačkog udruženja LU20-Mali Radinci. Što se tiče sadržaja mangana u jetri, u 19 lovnih područja on je iznosio između 1,60 - 2,90 mg/kg. Od ovog broja, u 6 lovnih područja sadržaj mangana je iznosio između 1,6-2,0 mg/kg, a u ostalih 13 između 2,0 - 2,90 mg/kg. Preko 3 mg/kg u jetri je zabeleženo na teritoriji LU3-Tamnavac-Ub i LU20-Mali Radinci. Iz tabele 46 se može primetiti da se najveći broj statistički značajnih razlika u pogledu sadržaja mangana u bubrežima, odnosno jetri odnosi na zečeve sa teritorije ova dva udruženja. Generalno, između većine rejona razlika u sadržaju mangana u bubrežima iznosi do 1mg/kg, dok u jetri ova razlika između iznosi do 1,3 mg/kg.

Ujednačene vrednosti mangana u bubrezima i jetri unutar svih starosnih grupa kao i nepostojanje statistički značajnih razlika između njih mogu biti protumačene i kao posledica jake homeostatske kontrole koju organizam vrši na količinu oralno unešenog mangana, čime se telo i tkiva štite od toksičnih efekata koje bi izazvalo njegovo pojačano prisustvo (ATSDR, 2012). Dobijene vrednosti za sadržaj mangana u tkivu divljeg zeca potvrđuju stanovište o njemu kao mikroelementu koji se, u odnosu na druge elemente fiziološki prisutne u tkivima, nalazi u manjoj količini, kao i da se njegov deficit u prirodnim uslovima retko pojavljuje (Underwood, 1999).

6.7 Bakar u bubrezima i jetri divljeg zeca

Statističkom analizom dobijenih podataka o koncentraciji bakra u tkivima divljeg zeca sa teritorija lovačkih udruženja sa kojih su sakupljeni uzorci, registrovane su statistički značajne razlike u pogledu sadržaja bakra u bubrezima i jetri između pojedinih lokaliteta ($p < 0,001$). Razlike između lokaliteta date su u tabeli 48.

Srednje vrednosti koncentracija bakra u ispitanim uzorcima bubrega zečeva (3,32 mg/kg) su niže od onih u jetri (4,16 mg/kg), odnosno razlika u sadržaju ovog metala između dva organa je statistički značajna ($p < 0,001$). Statistički značajne razlike između sadržaja bakra u bubrezima u odnosu na jetru registrovane su i unutar svih starosnih grupa ($p < 0,001$ do $p < 0,05$). Između starosnih grupa nisu registrovane statistički značajne razlike u pogledu sadržaja bakra, kako u bubrezima, tako i jetri zečeva (tabela 49).

Tabela 48. Statistička značajnost razlika u pogledu sadržaja Cu u bubrezima (Cu B1-21) i jetri (Cu J 1-21) između lokaliteta

Cu B 1-21 N			Cu J 1-21 N		
Cu B19	6	A	Cu J15	6	A
Cu B3	10	A	Cu J17	6	A B
Cu B17	6	A B	Cu J20	6	A B C
Cu B13	9	A B	Cu J19	6	B C D
Cu B20	6	A B C	Cu J21	6	B C D
Cu B8	7	A B C	Cu J16	9	B C D
Cu B15	6	A B C	Cu J11	8	B C D
Cu B6	7	A B C	Cu J10	6	B C D
Cu B18	9	A B C	Cu J5	10	B C D
Cu B21	6	A B C D	Cu J12	7	B C D
Cu B1	10	A B C D	Cu J3	10	B C D
Cu B12	7	A B C D	Cu J13	9	B C D
Cu B5	10	A B C D	Cu J4	6	B C D
Cu B9	6	A B C D	Cu J9	6	B C D
Cu B14	8	A B C D	Cu J14	8	C D
Cu B16	9	A B C D	Cu J1	10	C D
Cu B2	6	A B C D	Cu J18	9	C D
Cu B10	6	A B C D	Cu J6	7	C D
Cu B4	6	B C D	Cu J8	7	C D
Cu B11	7	C D	Cu J7	9	C D
Cu B7	9	D	Cu J2	6	D

($p < 0,001$);

($p < 0,001$);

n-broj uzoraka sa registrovanim sadržajem;

*Srednje vrednosti sadržaja kadmijuma u bubregu i jetri između lokaliteta koje ne dele zajedničko slovo su statistički značajne (ONE WAY ANOVA/post hoc Tukey HSD test);

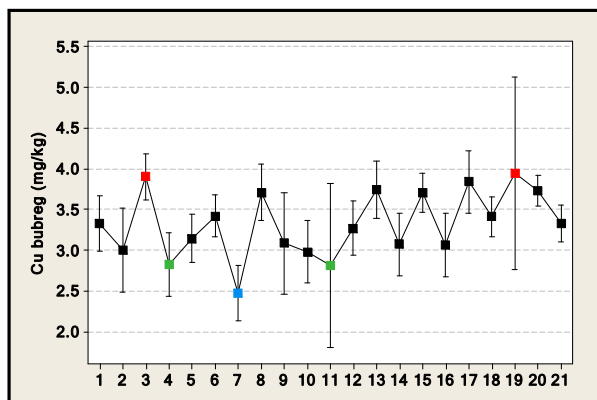
Tabela 49. Statistička značajnost razlika u pogledu sadržaja Cu u bubrežima (Cu B) i jetri (Cu J) između starosnih grupa

	N	sr.vredn.	A		N	sr.vredn.	A
Cu B 12-24	22	3.41	A	Cu J 12m	41	4.271	A
Cu B 36+	14	3.34	A	Cu J 3-6	28	4.260	A
Cu B 12m	41	3.32	A	Cu J 24-36	51	4.161	A
Cu B 3-6	28	3.31	A	Cu J 36+	14	3.943	A
Cu B 24-36	51	3.26	A	Cu J 12-24	22	3.934	A

n-broj uzoraka sa registrovanim sadržajem;
(p>0.05); nisu registrovane značajne razlike;

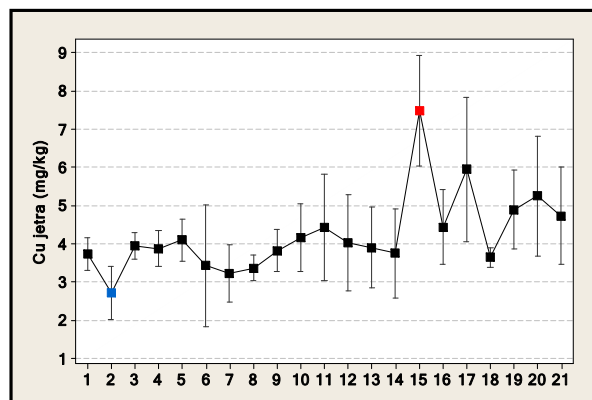
(p>0.05); nisu registrovane značajne razlike;

Dobijene srednje vrednosti za sadržaj bakra u bubrežima zeca po teritorijama lovačkih udruženja su se kretale u intervalu 2,47-3,94 mg/kg (LU7-Šabac i LU19-Buđanovci, min-max, respektivno) odnosno jetri 2,84-7,49 mg/kg (LU2-Bajina Bašta i LU15-Novi Sad).



■ srednja vrednost

Dijagram 38. Intervali koncentracija bakra u bubrežima po teritorijama LU1-21



■ srednja vrednost

Dijagram 39. Intervali koncentracija bakra u jetri po teritorijama LU1-21

Dobijeni podaci o sadržaju bakra u bubrežima i jetri divljih zečeva sa različitih lovačkih područja ukazuju da je za poređenje sadržaja bakra između lokaliteta, pogodnije koristiti jetru zeca. Pre svega, iz razloga da srednje vrednosti između starosnih grupa ne pokazuju statističku značajnost (uticaj starosti isključen) kao i da su generalno, dokazane veće vrednosti koncentracija bakra u jetri u odnosu na bubrege. Ilustracije radi, brojčana razlika između najveće i najmanje zabeležene srednje koncentracije bakra u bubrežima (teritorije LU19- Buđanovci i LU7- Šabac) iznosi 1,47 mg/kg, dok ta razlika u slučaju jetre, između LU 15-Novi Sad i LU2-Bajina Bašta iznosi 4,65 mg/kg. Iz dijagrama 38 može se uočiti da srednje vrednosti koncentracija bakra u bubrežima sa teritorija 7 lovačkih udruženja (LU3, LU8, LU13, LU15, LU17 i LU19) koje su inače veće u odnosu na ostalih 14, leže između 3,5-4,0 mg/kg, dakle razlika između njih je manja od 0,5 mg/kg. U slučaju jetre (dijagram 39) može se primetiti da donja vrednost intervala nalaza iz rejonu LU15-Novi Sad sa brojčano najvećom srednjom vrednošću (maksimalna je takođe zabeležena na ovoj teritoriji) leži u nivou srednje vrednosti rejonu LU17- Putinci, u kome je zabeležena sledeća srednja vrednost bakra u jetri u opadajućem nizu gledano po teritorijama lovačkih udruženja.

Rejon LU15-Novi Sad se statistički značajno razlikuje od ostalih 18 rejona (tabela 49, kolona CuJ) uključujući 7 od ukupno 10 iz Vojvodine. Teritorija sa drugom po redu od najviše srednje vrednosti bakra u jetri, LU17-Putinci, razlikuje se od 7 drugih teritorija, uključujući 2 od 10 vojvođanskih. Dok na drugoj strani, posmatrajući razlike između srednjih vrednosti bakra u bubrezima, teritorije lovačkih udruženja LU3-Tamnavac-Ub i LU19-Buđanovci, sa najvišim srednjim vrednostima bakra (dijagram 38), se statistički razlikuju u odnosu na 3 teritorije i to: LU4-Obrenovac, LU7-Šabac i LU11-Prokuplje (tabela 48, kolona CuB).

Kada se radi o jetri herbivora i metabolizmu bakra, u slučajevima kada njegov unos premaši fiziološke granice, višak se akumulira u jetri (*Woolliams i sar., 1983; Grace i sar., 1998*). Poređenjem dve grupe gajenih zečeva, jedne koja je hranjena bazičnom ishranom (10 mg Cu/kg) i druge koja je hranjena peletiranom hranom sa dodatkom $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ (140 mg Cu/kg - četiri puta više od maksimalno dozvoljenih 35 mg/kg, po EU propisu) *Skoivanova i sar. (2002)* su utvrdili u jetri kontrolne grupe 4,62 mg/kg, dok je u drugoj grupi zečeva hranjenih sa velikom dozom bakra, koncentracija bakra u jetri iznosila $118,5 \pm 31,8$ mg/kg. Nutricioni zahtev za zeca u pogledu dnevnog unosa bakra je 10 mg/kg (*Mateos i De Blas, 1998*).

Najviše srednje vrednosti bakra su zabeležene u jetri divljeg zeca sa teritorije LU 15-Novi Sad (slika 12). Ovo područje zauzima, ukupnu površinu od 43.473 ha, od čega lovne površine obuhvataju 42.186 ha (Lovački savez Vojvodine).



Slika 12. Rejon LU Novi Sad (*Google earth aplikacija*)

Radi se o rejonu koji je uglavnom poljoprivredno područje situirano uz levu obalu Dunava, u blizini autoputa Beograd-Subotica i neposrednoj okolini rafinerije nafte Novi Sad kao i gradske toplane (5-7 km u vazdušnoj liniji). Tumačenje pojačanog prisustva bakra može se tražiti u blizini rafinerije, koja je u stručnoj literaturi opisuje kao moguć izvor emisije bakra zajedno sa cinkom (*Nancarrow i sar., 2001; Galloway i sar., 2004; Wake, 2005*).

Upotreba bakra se povezuje sa 4 od ukupno 10 glavnih procesnih aktivnosti koje su tipične za rafineriju. Ispitivanjem uzoraka iz životne sredine u blizini rafinerije EssO u Velikoj Britaniji, *Galloway i sar. (2004)* su u sedimentu zabeležili najveće koncentracije bakra u odnosu na druge ispitane supstrate iz okoline uključujući vodu. Indikativno je da je na ovom području zabeležena i najveća srednja koncentracija cinka u jetri u odnosu na sve ostale teritorije, kao i maksimalna zabeležena vrednost za cink u jetri (35,18 mg/kg). Drugi razlog treba tražiti, obzirom da se radi o poljoprivrednom području, eventualno u primeni đubriva koje sadrži bakar radi zadovoljavanja potreba zemljišta za gajenje određenih poljoprivrednih kultura koje imaju relativno visoke potrebe za bakrom (npr. suncokret) ili kao nadoknada bakra u zemljištu obzirom da neke kulture, kao npr. kukuruz, snižavaju njegovu koncentraciju u zemljištu, odnosno biljkama dostupnu formu (*University of Wisconsin-Madison, 2004*).

U tabeli 50, prikazani su literaturni podaci o koncentracijama bakra iz životne sredine u divljim zečevima iz zagađenih i nezagađenih područja Finske, Poljske, Norveške i SAD.

Tabela 50. Srednje vrednosti sadržaja bakra u bubrezima i jetri divljih zečeva iz severne Evrope i SAD

	bubreg	jetra	zemlja	autori
Koncentracija bakra (mg/kg, vlažna masa) <i>Lepus europaeus</i> evropski divlji zec	3,76 - 4,64 ^a	4,64 - 5,32 ^a	Finska	Venäläinen i sar., 1996
	4,64 - 5,32 ^b	4,61 - 5,15 ^b		
	2,6 ^a	3,1 ^a	Poljska 1	Krelowska-Kulas i sar., 1994
	6,6 ^b	5,8 ^b		
	3,85 ^a	3,97 ^a	Poljska 2	Falandysz i sar., 1994
Koncentracija bakra (mg/kg, vlažna masa) <i>Lepus timidus</i> planinski divlji zec	3,93 - 4,14 ^a	4,02 - 4,17 ^a	Finska	Venäläinen i sar., 1996
	3,86 - 4,36 ^b	3,61 - 4,71 ^b		
	-	5.7±7.1 ^b	Norveška	Froslic i sar., 1987
Koncentracija bakra (mg/kg, suva masa) <i>Sylvilagus floridanus</i> američki divlji zec	-	14,8-17,8 ^b	USA	Storm i sar., 1994

a-nezagađene oblasti, b-industrijske oblasti

Generalno gledano, poređenjem dobijenih podataka o sadržaju bakra u tkivima divljeg zeca iz Srbije sa raspoloživim podacima iz drugih zemalja konstatuje se da su srednje vrednosti za bakar u bubrezima i jetri evropskog divljeg zeca (3,32 i 4,16 mg/kg, respektivno) iz Srbije niže u odnosu na one zabeležene u nezagađenim i zagađenim područjima Finske, uključujući i planinskog divljeg zeca (*Venäläinen i sar., 1996*). Dobijene vrednosti su niže od onih zabeleženih u zagađenim područjima Poljske (*Krelowska-Kulas i sar., 1994*) odnosno nešto više u odnosu na nezagađena područja Poljske (*Falandysz i sar., 1994*) uz napomenu da se radi o podacima starim oko 17 godina. Takođe, referisani podaci iz Norveške (*Froslic i sar., 1987*) i SAD (*Storm i sar., 1994*) pokazuju znatno veće vrednosti od onih iz Srbije. Generalno, može se reći da je registrovano prisustvo bakra u tkivu divljeg zeca na niskom nivou, bliskom fiziološkim vrednostima za funkcionisanje organizma zeca (*Puls, 1994*) uz vidljive razlike u rejonima gde ona postoji.

6.8 Hrom i niki u bubrezima i jetri divljeg zeca

U svim ispitanim uzorcima bubrega i jetri nisu registrovani hrom i niki, odnosno njihova koncentracija u oba organa je bila ispod limita detekcije (LOD) metode korišćene za njihovo određivanje, i to za hrom (Cr) LOD < 2,0 mg/kg; niki (Ni) LOD < 0,5 mg/kg.

6.9 Interakcije između metala u ispitanim tkivima divljeg zeca

Analizom podataka dobijene su brojne, statistički značajne korelacione povezanosti (ukupno 40 za na sve ispitane uzorke odnosno 81 u okviru starosnih grupa - Pearson-ova korelacija) između sadržaja pojedinačnih i različitih metala u okviru istog ili različitih tkiva. Tamo gde je registrovana, većina tih korelacionih povezanosti je bila slaba (\pm korelacioni koeficijent od 0,3-0,6) posmatrano na celu populaciju (tabela 51) dok su u okviru pojedinih starosnih grupa (tabele 52-56) bile slabe (\pm korelacioni koeficijent od 0,3-0,6) ili srednje do jake (\pm korelacioni koeficijent od 0,6-0,96). U pojedinim starosnim grupama neke nisu registrovane ili su registrovane sporadično, što je za posledicu imalo slabiju ukupnu korelacionu povezanost gledano na sve ispitane uzorke. Najjače korelacione povezanosti na nivou svih ispitanih uzoraka tkiva divljeg zeca su bile za kadmijum u bubregu i jetri (Cd B-Cd J: Ps=0,81; p<0,001), odnosno olova u bubregu i jetri (PbB- PbJ:Ps=0,65; p<0,001).

Tabela 51. Statistički značajne korelacione povezanosti između metala u bubrezima (B) i jetri (J) u svim ispitanim uzorcima tkiva divljeg zeca (lokaliteti 1-21;n=156)

	Cd B	Pb B	Hg B	Fe B	Zn B	Mn B		Cu B	Cd J	Pb J	Hg J	Fe J	Zn J	Mn J
Hg B	<u>0.38</u> 0.000						Hg J		<u>0.23</u> 0.013	<u>0.29</u> 0.036				
Zn B	<u>0.45</u> 0.000						Fe J		<u>0.16</u> 0.044					
Mn B	<u>0.26</u> 0.001		<u>-0.21</u> 0.011		<u>0.16</u> 0.045		Zn J		<u>0.13</u> 0.113		<u>0.23</u> 0.010	<u>-0.38</u> 0.001		
Cu B			<u>0.21</u> 0.011		<u>0.47</u> 0.001	<u>0.33</u> 0.001	Mn J	<u>0.19</u> 0.018	<u>-0.18</u> 0.024			<u>-0.28</u> 0.001	<u>0.44</u> 0.001	
Cd J	<u>0.81</u> 0.001		<u>0.22</u> 0.006		<u>0.43</u> 0.001	<u>-0.21</u> 0.008	Cu J	<u>0.32</u> 0.001				<u>-0.36</u> 0.001	<u>0.54</u> 0.001	<u>0.49</u> 0.001
Pb J	<u>0.35</u> 0.001	<u>0.65</u> 0.001					Skala za tumačenje koeficijenata korelacije (Ps; p < 0.05) POZITIVNA KORELACIJA 0 ÷ 0.3: zanemarljiva korelacija; 0.3 ÷ 0.6: slaba pozitivna 0.6 ÷ 0.8: srednja pozitivna; 0.8 ÷ 1: jaka pozitivna NEGATIVNA KORELACIJA 0 ÷ -0.3: zanemarljiva korelacija; 0.3 ÷ -0.6: slaba negativna 0.6 ÷ -0.8: srednja negativna; 0.8 ÷ -1: jaka negativna							
Hg J		<u>0.48</u> 0.003	<u>0.38</u> 0.001											
Fe J				<u>0.49</u> 0.001		<u>-0.16</u> 0.043								
Zn J	<u>0.21</u> 0.008			<u>-0.35</u> 0.001	<u>0.30</u> 0.001									
Mn J	<u>-0.16</u> 0.049					<u>0.21</u> 0.010								
Cu J			<u>-0.20</u> 0.016	<u>-0.25</u> 0.002		<u>0.20</u> 0.013								

Ps - Pearson-ov koeficijent korelacije;
p vrednost (< 0.05)

Korelacione povezanosti između sadržaja metala u tkivima po starosnim grupama date su u tabelama 52-56.

Tabela 52. Statistički značajne korelacione povezanosti između metala u bubrezima (B) i jetri (J) u uzorcima tkiva divljih zečeva starosti 3-6 meseci (lokaliteti 1-21; n=28)

	Cd B	Pb B	Hg B	Fe B	Zn B	Mn B		Cu B	Cd J	Pb J	Hg J	Fe J	Zn J	Mn J
Zn B							Pb J	<u>0.77</u> 0.006						
Mn B					<u>0.74</u> 0.001		Zn J				<u>0.52</u> 0.028			
Cu B						<u>0.68</u> 0.001	Mn J						<u>0.56</u> 0.002	
Cd J	<u>0.63</u> 0.001					<u>0.56</u> 0.002	Cu J	<u>0.38</u> 0.045					<u>0.63</u> 0.001	<u>0.49</u> 0.009
Pb J		<u>0.96</u> 0.034			<u>0.63</u> 0.037		Skala za tumačenje koeficijenata korelacije (Ps; p < 0.05) POZITIVNA KORELACIJA 0 ÷ 0.3: zanemarljiva korelacija; 0.3 ÷ 0.6: slaba pozitivna 0.6 ÷ 0.8: srednja pozitivna; 0.8 ÷ 1: jaka pozitivna NEGATIVNA KORELACIJA 0 ÷ -0.3: zanemarljiva korelacija; 0.3 ÷ -0.6: slaba negativna 0.6 ÷ -0.8: srednja negativna 0.8; ÷ -1: jaka negativna							
Hg J	<u>0.58</u> 0.012													
Fe J				<u>0.56</u> 0.002										

Ps - Pearson-ov koeficijent korelacije;
p vrednost (< 0.05)

Tabela 53. Statistički značajne korelacione povezanosti između metala u bubrezima (B) i jetri (J) u uzorcima tkiva divljih zečeva starosti godinu dana (lokaliteti 1-21; n= 41)

	Cd B	Pb B	Hg B	Fe B	Zn B	Mn B		Cu B	Cd J	Pb J	Hg J	Fe J	Zn J	Mn J
Mn B					<u>0.37</u> 0.018		Pb J		<u>0.50</u> 0.034					
Cu B					<u>0.62</u> 0.001	<u>0.39</u> 0.012	Zn J		<u>-0.37</u> 0.038		<u>-0.36</u> 0.046	<u>-0.54</u> 0.001		
Cd J	<u>0.34</u> 0.003			<u>0.48</u> 0.002			Mn J				<u>-0.37</u> 0.048	<u>-0.31</u> 0.049	<u>0.46</u> 0.002	
Pb J				<u>0.52</u> 0.033			Cu J					<u>-0.47</u> 0.002	<u>0.53</u> 0.001	<u>0.52</u> 0.001
Hg J			<u>0.38</u> 0.044				Skala za tumačenje koeficijenata korelacije (Ps; p < 0.05) POZITIVNA KORELACIJA 0 ÷ 0.3: zanemarljiva korelacija; 0.3 ÷ 0.6: slaba pozitivna 0.6 ÷ 0.8: srednja pozitivna; 0.8 ÷ 1: jaka pozitivna NEGATIVNA KORELACIJA 0 ÷ -0.3: zanemarljiva korelacija; 0.3 ÷ -0.6: slaba negativna 0.6 ÷ -0.8: srednja negativna 0.8; ÷ -1: jaka negativna-1: jaka negativna							
Fe J				<u>0.70</u> 0.001										
Zn J				<u>-0.48</u> 0.002										
Mn J						<u>0.40</u> 0.010								
Cu J				<u>-0.35</u> 0.026										

Ps - Pearson-ov koeficijent korelacije;
p vrednost (< 0.05)

Tabela 54. Statistički značajne korelacione povezanosti između metala u bubrezima (B) i jetri(J) u uzorcima tkiva divljih zečeva starosti 1-2 godine (lokaliteti 1-21;n =22)

	Cd B	Pb B	Hg B	Fe B	Zn B	Mn B		Cu B	Cd J	Pb J	Hg J	Fe J	Zn J	Mn J
Hg B	<u>0.52</u> 0.012						Hg J		<u>0.62</u> 0.010					
Zn B		<u>0.90</u> 0.016					Fe J	<u>-0.47</u> 0.029	<u>-0.43</u> 0.048					
Mn B					<u>0.49</u> 0.022		Mn J					<u>-0.52</u> 0.014	<u>0.44</u> 0.041	
Cu B		<u>0.93</u> 0.007			<u>0.45</u> 0.038		Cu J	<u>0.52</u> 0.013					<u>0.67</u> 0.001	<u>0.52</u> 0.014
Cd J	<u>0.60</u> 0.004						Skala za tumačenje koeficijenata korelacije (Ps; p < 0.05) POZITIVNA KORELACIJA 0 ÷ 0.3: zanemarljiva korelacija; 0.3 ÷ 0.6:slaba pozitivna 0.6 ÷ 0.8: srednja pozitivna; 0.8 ÷ 1: jaka pozitivna NEGATIVNA KORELACIJA 0 ÷ - 0.3:zanemarljiva korelacija;0.3÷-0.6:slaba negativna 0.6 ÷ -0.8: srednja negativna 0.8; ÷ -1: jaka negativna							
Hg J	<u>0.50</u> 0.049		<u>0.72</u> 0.002											
Fe J					<u>-0.47</u> 0.026									
Zn J			<u>-0.48</u> 0.048											

Ps - Pearson-ov koeficijent korelacije;
p vrednost (< 0.05)

Tabela 55. Statistički značajne korelacione povezanosti između metala u bubrezima (B) i jetri(J) u uzorcima tkiva divljih zečeva starosti 2-3 godine (lokaliteti 1-21;n = 51)

	Cd B	Pb B	Hg B	Fe B	Zn B	Mn B		Cu B	Cd J	Pb J	Hg J	Fe J	Zn J	Mn J
Zn B	<u>0.30</u> 0.035						Fe J				<u>-0.38</u> 0.009			
Mn B	<u>-0.35</u> 0.011		<u>-0.33</u> 0.021				Zn J				<u>0.35</u> 0.018	<u>-0.35</u> 0.014		
Cu B			<u>-0.48</u> 0.001		<u>0.48</u> 0.001		Mn J						<u>0.49</u> 0.001	
Cd J	<u>0.69</u> 0.001				<u>0.31</u> 0.029		Cu J				<u>0.37</u> 0.013	<u>-0.39</u> 0.005		<u>0.45</u> 0.001
Pb J		<u>0.70</u> 0.001					Skala za tumačenje koeficijenata korelacije (Ps; p < 0.05) POZITIVNA KORELACIJA 0 ÷ 0.3: zanemarljiva korelacija; 0.3 ÷ 0.6:slaba pozitivna 0.6 ÷ 0.8: srednja pozitivna; 0.8 ÷ 1: jaka pozitivna NEGATIVNA KORELACIJA 0 ÷ - 0.3:zanemarljiva korelacija;0.3÷-0.6:slaba negativna 0.6 ÷ -0.8: srednja negativna 0.8; ÷ -1: jaka negativna							
Fe J				<u>0.46</u> 0.001										
Zn J				<u>-0.30</u> 0.035	<u>0.34</u> 0.015									
Cu J			<u>-0.29</u> 0.039											

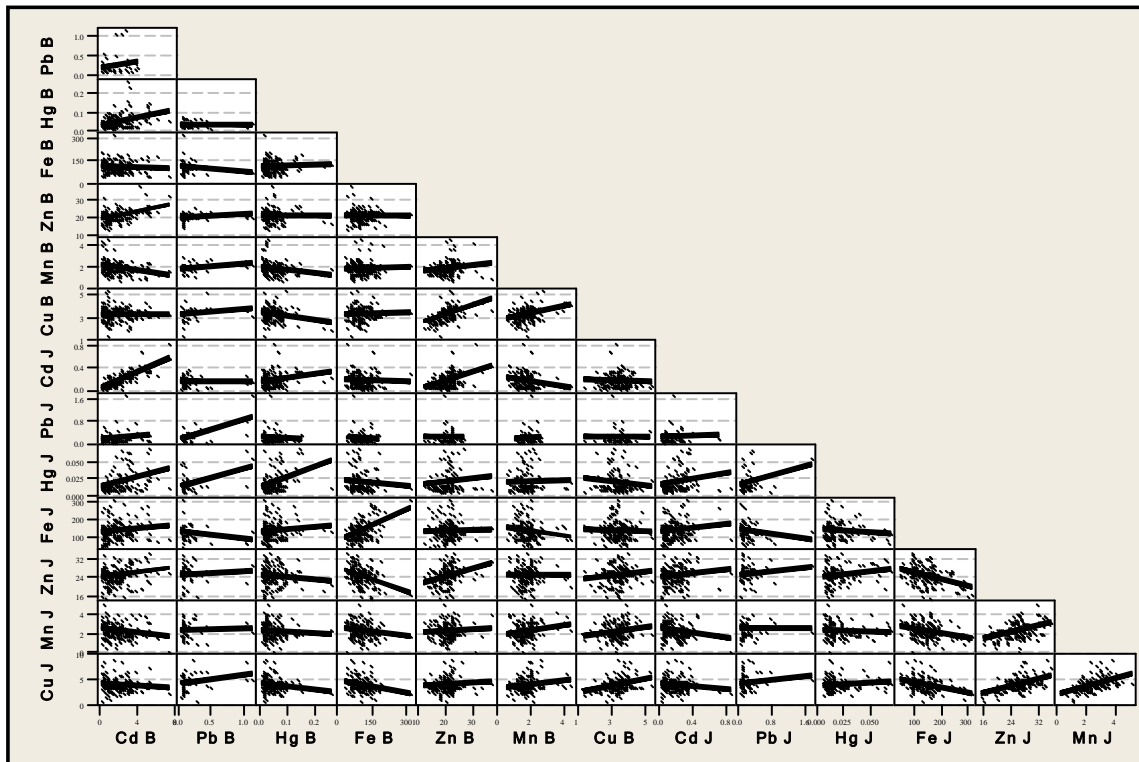
Ps - Pearson-ov koeficijent korelacije;
p vrednost (< 0.05)

Tabela 56. Statistički značajne korelacione povezanosti između metala u bubrezima (B) i jetri(J) u uzorcima tkiva divljih zečeva starijih od 3 godine (lokaliteti 1-21;n= 14)

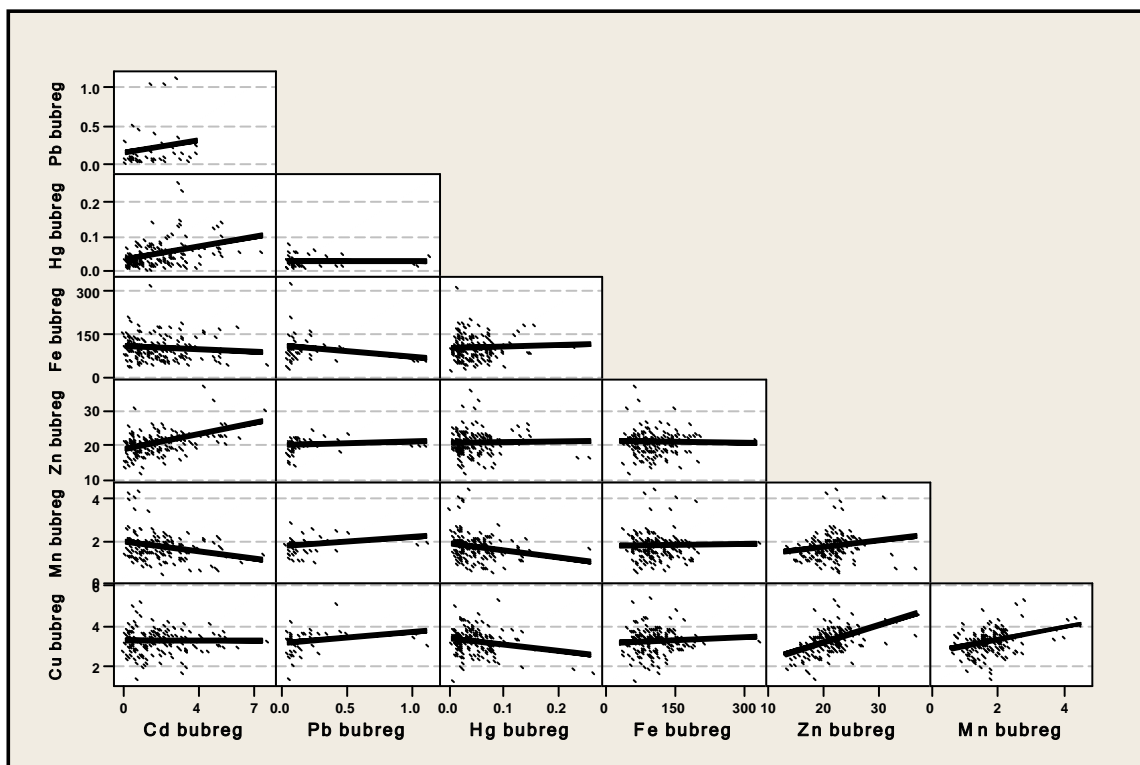
	Cd B	Pb B	Hg B	Fe B	Zn B	Mn B		Cu B	Cd J	Pb J	Hg J	Fe J	Zn J	Mn J
Mn B					$\frac{-0.60}{0.025}$		Zn J					$\frac{-0.68}{0.007}$		
Cu B							Mn J						$\frac{0.68}{0.008}$	
Cd J	$\frac{0.61}{0.026}$				$\frac{0.56}{0.037}$		Cu J							$\frac{0.68}{0.007}$
Pb J							Skala za tumačenje koeficijenta korelacije (Ps; p < 0.05) POZITIVNA KORELACIJA 0 ÷ 0.3: zanemarljiva korelacija; 0.3 ÷ 0.6: slaba pozitivna 0.6 ÷ 0.8: srednja pozitivna; 0.8 ÷ 1: jaka pozitivna NEGATIVNA KORELACIJA 0 ÷ -0.3: zanemarljiva korelacija; 0.3 ÷ -0.6: slaba negativna 0.6 ÷ -0.8: srednja negativna; 0.8 ÷ -1: jaka negativna							
Hg J			$\frac{0.64}{0.019}$			$\frac{0.71}{0.007}$								
Fe J														
Zn J				$\frac{-0.61}{0.022}$										

Ps - Pearson-ov koeficijent korelacije;
p vrednost (< 0.05)

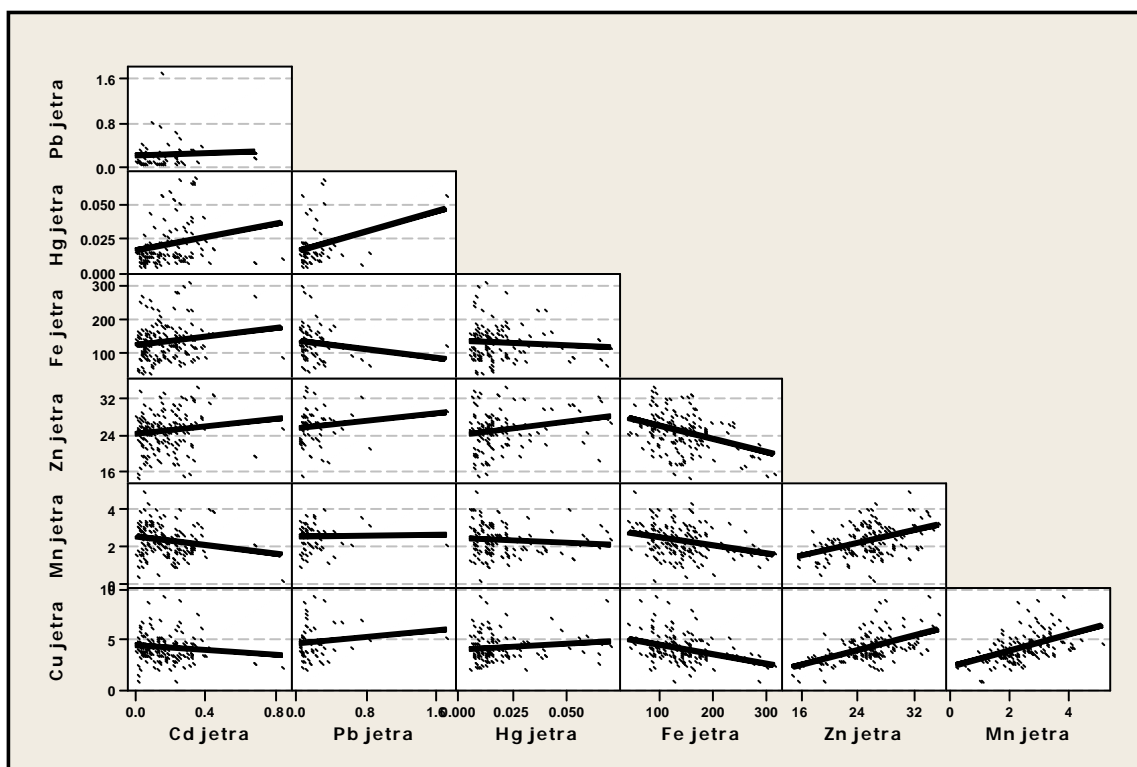
Imajući u vidu veliki broj registrovanih korelacionih povezanosti i njihovu jačinu, tako se i linearni modeli regresione zavisnosti u vezi sa njima razlikuju. U dijagramima 40-43 su date tendencije linearnih regresionih linija, odnosno zavisnosti između sadržaja istih ili različitih metala u okviru istog tkiva (bubreg ili jetra), različitih metala u okviru jednog tkiva i različitih metala u različitim tkivima.



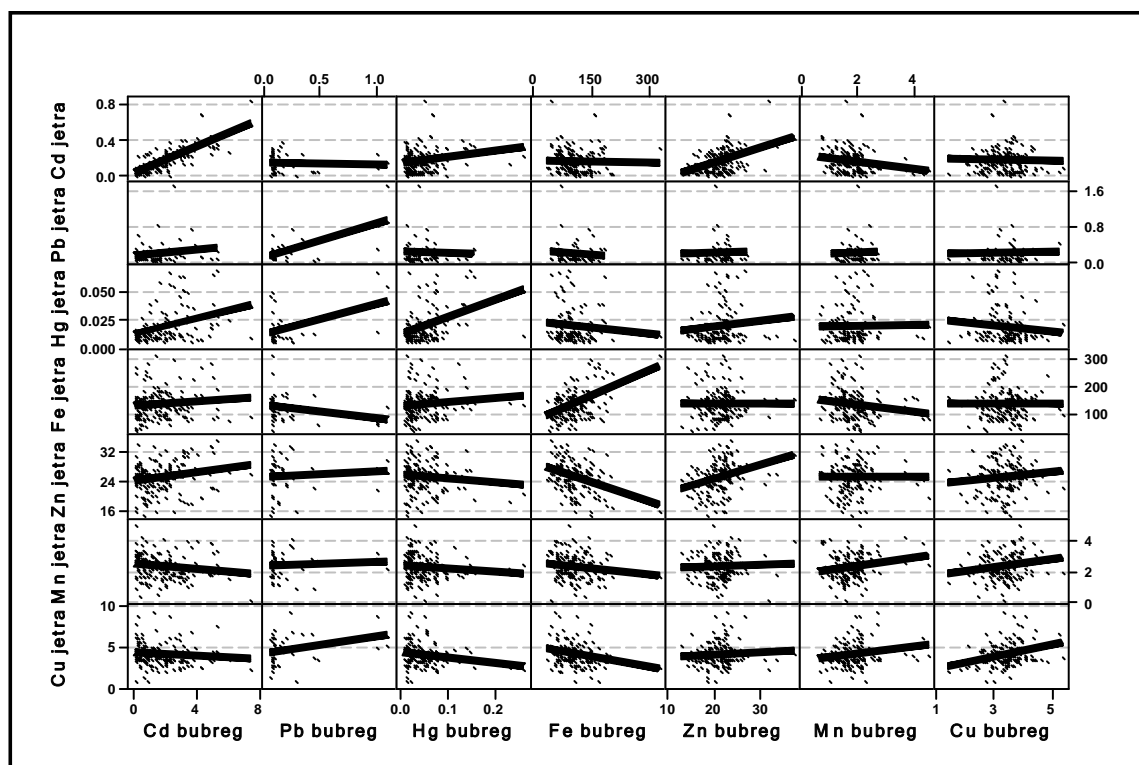
Dijagram 40. "Matrix plot" dijagram regresionih linija međuzavisnosti sadržaja svih ispitanih metala (Me) u bubrezima (Me B-Me B), jetri (Me J- Me J) i bubrezima i jetri (Me B-Me J)



Dijagram 41. Regresione linije međusobnih sadržaja (mg/kg) teških metala (Me) u bubrezima divljih zečeva (Me B- Me B) (n=156)



Dijagram 42. Regresione linije međusobnih sadržaja (mg/kg) teških metala (Me) u jetri divljih zečeva (Me J-Me J) (n=156)



Dijagram 43. Regresione linije između međusobnih sadržaja (mg/kg) teških metala (Me) u bubrezima i jetri divljih zečeva (Me B-Me J) (n=156)

Poznavanje kvantitativnih odnosa između esencijalnih i/ili toksičnih metala pri niskom nivou ekspaniranosti u životnoj sredini mogu biti veoma značajni radi uvećanja fonda saznanja o važnosti statusa esencijalnih elemenata u akumulaciji toksičnih metala (kadmijum, olovo, živa) u tkiva pojedinih vrsta kopnenih sisara u ovom slučaju divljeg zeca. Obzirom na važnost i ulogu koju imaju bubrezi i jetra u metabolizmu esencijalnih elemenata kao i njihovu osetljivost na delovanje toksičnih metala, interakcije bi trebalo da budu predmet istraživanja u oblasti ekotoksikologije divljači u budućnosti. Generalno, interakcije između esencijalnih elemenata u ispitanim tkivima divljeg zeca su, uglavnom, povezane sa ishranom koja sadrži više ili niže nivoe toksičnih elemenata i/ili neadekvatnu količinu esencijalnih elemenata. Registrovane interakcije, verovatno su indikacija regulisanja mineralnog balansa u tkivu divljeg zeca, homeostatskim mehanizmima u okviru kojih postoji kompeticija toksičnih i esencijalnih elemenata, kao i aditivno delovanje više metala istovremeno.

Rezultati hemijskih ispitivanja teških metala u tkivu divljeg zeca bi trebalo da pruže doprinos u većoj primeni pragmatičnih tehnika procena stanja životne sredine sa povezivanjem uzroka koji ih izazivaju. Rezultati dobijeni u okviru ove disertacije, ukazuju da bi u budućim istraživanjima trebalo kombinovati hemijska ispitivanja (ispitivanje i drugih kontaminenata iz životne sredine istovremeno) i kroz dobijene rezultate definisati njihovu prisutnost u tkivu divljači kao "normalan" za različita područja koji treba pratiti u dužem vremenskom periodu kao i da se odredi uticaj sezonskih promena.

ZAVRŠNE NAPOMENE

Domaćim „Pravilnikom u pogledu dozvoljenih količina metala, nemetala i nekih specifičnih kontaminenata u namirnicama“, Sl. list SRJ 5/92, 11/92, 32/2002 su definisane maksimalne količine teških metala koje se mogu nalaziti u svežem mesu i iznutricama životinja i živine.

Ovim propisom se eksplicitno ne definišu ove vrednosti u mesu i iznutricama divljači, pa se podrazumeva da i za nju važe isti kriterijumi. Maksimalne vrednosti, dozvoljene ovim Pravilnikom za iznutrice u pogledu sadržaja teških metala iznose: za olovo (Pb) 0,5mg/kg u bubregu i jetri; za kadmijum (Cd) 1,0mg/kg u bubregu i 0,5 mg/kg u jetri; za živu (Hg) 0,100 mg/kg u bubregu i jetri; za bakar (Cu) 80 mg/kg u jetri. Za bakar u bubregu, odnosno cink, gvožđe i mangan u bubrežima i jetri ovim Pravilnikom nisu propisane maksimalne vrednosti.

Obzirom na registrovane nivoe kadmijuma u bubrežima i jetri divljeg zeca oni nisu preporučljivi za ishranu obzirom da su u njima pronađene više vrednosti od maksimalno dozvoljenih domaćim propisom.

7. ZAKLJUČCI

1. Uzorci tkiva (bubreg, jetra) od 156 divljih zečeva (*Lepus europaeus*) sakupljenih tokom lovne sezone 2010/2011. godine sa teritorija 21 lovačkog udruženja Republike Srbije su sadržavali različite koncentracije teških metala (Cd, Pb, Hg, Fe, Zn, Mn i Cu), dok ni u jednom ispitivanom uzorku nije utvrđeno prisustvo Ni i Cr ili je njihova koncentracija bila ispod limita detekcije korišćene metode.
2. Sadržaj kadmijuma (Cd) je registrovan u svim analiziranim uzorcima (100,00%). Sadržaj Cd u tkivu bubrega (0,06-7,54 mg/kg) je 8 do 13 puta veći u odnosu na utvrđene koncentracije u tkivu jetre (0,01-0,85 mg/kg) i razlika je statistički veoma značajna ($p < 0,001$). Koncentracije Cd gledano prema starosnoj strukturi ispitanih jedinki divljeg zeca su u direktnoj zavisnosti, te je kod starijih jedinki utvrđena i veća koncentracija. Utvrđene razlike koncentracije Cd su statistički veoma značajne ($p < 0,001$) između svih starosnih grupa, osim kada se radilo o mlađim jedinkama starosti do godinu dana gde nije bilo statističke značajnosti ($p > 0,05$).
3. Sadržaj olova (Pb) je registrovan u 29,00% analiziranih uzoraka tkiva bubrega, odnosno u 41,00% uzoraka tkiva jetre. Sadržaj Pb u tkivu bubrega (0,06-1,12 mg/kg) u odnosu na tkivo jetre (0,01-0,85 mg/kg) nije se statistički značajno razlikovao ($p > 0,05$). Utvrđene koncentracije Pb unutar istog tkiva (bubreg, jetra) nisu se statistički značajno razlikovale između starosnih grupa ($p > 0,05$). U pogledu sadržaja Pb može se reći da akumulirane količine u ispitanim tkivima nisu direktno povezane sa starosnom dobi.
4. Sadržaj žive (Hg) je registrovan u 97,00% analiziranih uzoraka tkiva bubrega i 78,00% uzoraka tkiva jetre. Sadržaj Hg u tkivu bubrega (0,006-0,261 mg/kg) u odnosu na tkivo jetre (0,006-0,070 mg/kg) se statistički veoma razlikuje ($p < 0,001$). Registrovane količine Hg u tkivu bubrega su dvostruko veće u odnosu na tkivo jetre. Statistički značajne razlike između sadržaja Hg u bubrezima u odnosu na jetru su registrovane unutar svih starosnih grupa ($p < 0,001$, za starosne grupe do 3 godine starosti; $p < 0,05$, za starije od 3 godine). Srednje vrednosti sadržaja Hg u bubrezima pokazuju tenedenciju rasta analizirano po svim starosnim grupama, dok se u jetri rast beleži nakon prve godine života. Posmatrano unutar istog organa, između starosnih grupa, utvrđene koncentracija Hg u tkivu bubrega, odnosno tkivu jetre zečeva starijih od 3 godine, u odnosu na mlađe od godinu dana, statistički se veoma razlikuju ($p < 0,001$).
5. Sadržaj gvožđa (Fe) je registrovan u 100,00% ispitanih uzoraka. U uzorcima tkiva jetre (138,5-313,1 mg/kg) sadržaj Fe je veći nego u tkivu bubrega (29,5-324,1 mg/kg) i razlika je statistički veoma značajna ($p < 0,001$). Gledano prema starosnoj strukturi, razlike između sadržaja Fe

- u bubrezima i jetri nisu registrovane unutar starosnih grupa zečeva od 3-6 meseci i godinu dana ($p > 0,05$). Posmatrano unutar istog organa, razlike utvrđenih koncentracija Fe u tkivu bubrega, odnosno u tkivu jetre, između starosnih grupa nisu bile statistički značajne ($p > 0,05$).
6. Sadržaj cinka (Zn) je registrovan u svim analiziranim uzorcima (100,00%). U uzorcima tkiva jetre (14,72-35,18 mg/kg) sadržaj Zn je veći nego u tkivu bubrega (12,56-37,03 mg/kg) i razlika je statistički veoma značajna ($p < 0,001$). Gledano po starosnim grupama, razlike između sadržaja Zn u bubrezima u odnosu na jetru nisu registrovane jedino u grupi zečeva starijih od 3 godine ($p > 0,05$). Posmatrano unutar istog organa, između starosnih grupa, razlike utvrđenih koncentracija Zn u tkivu bubrega jedinki starijih od 3 godine, statistički se veoma razlikuju od ostalih grupa ($p < 0,001$). U tkivu jetre, sadržaj Zn između svih starosnih grupa, se statistički značajno ne razlikuje ($p > 0,05$).
 7. Sadržaj mangana (Mn) je registrovan u svim analiziranim uzorcima (100,00%). U uzorcima tkiva jetre (0,54-4,50mg/kg) sadržaj Mn je veći nego u tkivu bubrega (0,16-5,08mg/kg) i razlika je statistički veoma značajna ($p < 0,001$). Gledano po starosnim grupama, razlike između sadržaja Mn u jetri u odnosu na bubrege su statistički značajne unutar svih pojedinačnih grupa ($p < 0,001$ do $p < 0,05$). Posmatrano unutar istog organa, između starosnih grupa, razlike utvrđenih koncentracija Mn u tkivu bubrega, odnosno u tkivu jetre, se statistički značajno ne razlikuju ($p > 0,05$).
 8. Sadržaj bakra (Cu) je registrovan u svim analiziranim uzorcima (100,00%). U uzorcima tkiva jetre (0,73-9,34 mg/kg) sadržaj Cu je veći nego u tkivu bubrega (1,34-5,34 mg/kg) i razlika je statistički veoma značajna ($p < 0,001$). Gledano po starosnim grupama, razlike između sadržaja Cu u jetri u odnosu na bubrege su statističke značajne unutar svih pojedinačnih grupa ($p < 0,001$ do $p < 0,05$). Posmatrano unutar istog organa, između starosnih grupa, nisu registrovane statistički značajne razlike u pogledu sadržaja bakra, kako u bubrezima, tako i jetri zečeva ($p > 0,05$).
 9. Geografski gledano akumulacija teških metala, pre svega (Cd, Pb i Hg) je lokalno, odnosno regionalno specifična, jer zavisi od prisustva specifične emisije pojedinih teških metala, odnosno njihove prisutnosti u zemlji i biljkama koje su izvor hrane u ovom slučaju za divlje zečeve. Vrednosti dobijene preko bioindikatora (divljeg zeca) mogu biti od presudnog značaja u pogledu registrovanja geografske blizine izvora zagađenja.
 10. Utvrđene maksimalne koncentracije Cd (7,54 mg/kg), Hg (0,261 mg/kg) i Pb (1,72 mg/kg) u analiziranim uzorcima sa određenih lokaliteta, mogu predstavljati zdravstveni rizik kod konzumiranja jestivih tkiva zeca.

L I T E R A T U R A

1. Adriano D.C. 2001. Trace Elements in the Terrestrial Environment, 2nd edition, Springer-Verlag, New York.
2. Ahmad S., Qureshi I.H. 1989. Fast mercury removal from industrial effluent. *J Radioanal Nuclear Chem* 130:347-352.
3. Akagi H., Malm O., Branches F. J.P., et al., 1995. Human exposure to mercury due to gold mining in the Tapajos river basin, Amazon, Brazil: Speciation of mercury in human hair, blood and urine. *Water Air Soil Poll* 80:85-94.
4. Alloway B.J., Jackson A.P., Morgan H. 1990. The accumulation of cadmium by vegetables grown on soils contaminated from a variety of sources. *Sci Total Environ* 91:223-236.
5. AMAP, 1998. Assessment Report: Arctic Pollution Issues. Arctic Monitoring and Assessment Programme. Oslo: AMAP; 1998. 859 pp AMAP, P.O. Box 8100 Dep., N-0032 Oslo, Norway; <<http://www.grida.no/amap>>;
6. Andren A.W., Nriagu J.O. 1979. The global cycle of mercury. In: Nriagu J.O., ed. *The biogeochemistry of mercury in the environment*. New York, NY: Elsevier/North Holland Biomedical Press, 1-22.
7. Abdelhalim A.K.M, 2010. Atherosclerosis can be strongly influenced by iron and zinc overload or deficiency in the lung and kidney tissues of rabbits. *African Journal of Microbiology Research* 4: 2748-2753.
8. Atafar Z., Mesdaghinia A., Nouri J., Homae M., Yunesian M., Ahmadimoghaddam M., Mahvi H. 2010. Effect of fertilizer application on soil heavy metal concentration. *Environ Monit Assess* 160: 83-89.
9. ATSDR, 2012. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Toxicological Profile for Manganese. <<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp151.pdf>>;
10. ATSDR, 2011. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, CERCLA list of priority hazardous substances. < <http://www.atsdr.cdc.gov/SPL/index.html>>;
11. ATSDR, 2008. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2008. Toxicological profile for Chromium. <<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp7.pdf>>;
12. ATSDR, 2007. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2007. Toxicological Profile for Lead. <<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp13.pdf>>;
13. ATSDR, 2005a. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Toxicological Profile for Zinc. <<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp60.pdf>>;
14. ATSDR, 2005b. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Toxicological Profile for Nickel. <<http://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp15.pdf>>;

15. ATSDR, 2004. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Toxicological Profile for Copper. <<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp132.pdf>>;
16. ATSDR, 1999. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Toxicological Profile for Mercury. <<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp46.pdf>>;
17. Banks R.B., Cooke R.T. 1986. Chromate reduction by rabbit liver aldehyde oxidase. *Biochem Biophys Res Commun* 137:8-14.
18. Bannon D.I., Abounader R., Lees P.S.J., et al. 2003. Effect of DMT1 knockdown on iron, cadmium, and lead uptake in Caco-2 cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 284:C44-C50.
19. Barceloux D.G. 1999. Manganese. *Clin Toxicol* 37:293-307.
20. Bencko V., Wagner V., Wagnerova M., et al. 1986. Human exposure to nickel and cobalt: Biological monitoring and immunobiological response. *Environ Res* 40:399-410.
21. Bentley P.J., Grubb B.R. 1991. Effects of a zinc-deficient diet on tissue zinc concentrations in rabbits. *J Anim Sci*. 69:4876-4882.
22. Bergeron R.J., Wiegand J., Brittenham G.M. 2002. HBED ligand: preclinical studies of a potential alternative to deferoxamine for treatment of chronic iron overload and acute iron poisoning. *Blood* 99:3019-3026.
23. Bermond A., Bourgeois S. 1992. Influence of soluble organic matter on cadmium mobility in model compounds and in soils. *Analyst* 117(3):685-687.
24. Berzas-Nevado J.J., Doimeadios M.R.C., Mateo R., Rodriguez, N.F. Rodriguez E.J., Patino R.M.J. 2012. Mercury exposure and mechanism of response in large game using the Almaden mercury mining area (Spain) as a case study. *Environ Res* 112: 58-66.
25. Beyer W.N. 1986. A reexamination of biomagnification of metals in terrestrial food chains. *Environ Toxicol Chem* 5:863-864.
26. Beyer W.N., Heinz G.H., Redmon-Norwood A.W. 1996. *Environmental Contaminants in Wildlife: Interpreting Tissue Concentrations*, Lewis Publishers, Boca Raton, FL.
27. Bilandžić N., Sedak M., Đokić M., Šimić B. 2010. Wild Boar Tissue Levels of Cadmium, Lead and Mercury in Seven Regions of Continental Croatia. *Bull Environ Contam Toxicol* 84:738-43.
28. Bingham F.T., Sposito G., Strong, J.E., 1986. The effect of sulfate on the availability of cadmium. *Soil Sci* 141 (2):172-177.
29. Brekken A., Steinnes E., 2004. Seasonal concentrations of cadmium and zinc in native pasture plants: consequences for grazing animals. *Sci Tot Environ* 326:181-195.
30. Bremner I. 1987. Involvement of metallothionein in the hepatic metabolism of copper. *J Nutr* 117:19-29
31. Bressler J.P., Olivi L., Kim Y., et al. 2005. Plasma membrane transporters for lead and cadmium. *J Appl Pharmacol* 13(1):1-6.

32. Breslin VT. 1999. Retention of metals in agricultural soils after amending with MSW and MSWbiosolids compost. *Water Air Soil Poll* 109:163-178.
33. Broekuizen, S., Maaskamp, F., 1982. Movement, home range, and clustering in the European hare (*Lepus europaeus* Pallas) in The Netherlands. *Z Saugetierkd* 47:22-32
34. Brown S.L., Henry C.L., Compton H., Chaney R.L., Pannella D., 2000. Using municipal biosolids in combination with other residuals to restore metal-contaminated mining areas. In: *Proceedings of a Symposium on Mining, Forest and Land Restoration: The Successful Use of Residual/Biosolids/Organic Matter for Reclamation Activities*, Rocky Mountain Water Environment Association, Denver, CO, July 17-20.
35. Bukovjan K. 1991. Vorkommen von Schwermetallen in Organen und Muskulatur von Felshase in Mittel- and Ostbohmen. *Fleischwirtschaft* 71(7): 825-829.
36. Burger J., Fernando D.B., Marafante E., Pounds J., Robson M. 2003. Methodologies to examine the importance of host factors in bioavailability of metals. *Ecotox Environ Safe* 56: 20-31.
37. Burger J., Gochfeld M. 1992. Trace elements distribution in growing feathers: additional excretion in feather sheaths. *Arch Environ Contam Toxicol* 23: 105-108.
38. Calamari D., Alabaster, J.S., 1980. An approach to theoretical models in evaluating the effects of mixtures of toxicants in the aquatic environment. *Chemosphere* 9:533-538.
39. Callahan M.A., Slimak M.W., Gable N.W. et al., 1979. Water-related fate of 129 priority pollutants. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water Planning and Standards. EPA-440/4-79-029a.
<http://cfpub.epa.gov/ols/catalog/advanced_brief_record.cfm?&FIELD1=AUTHOR&INPUT1=GABEL%20AND%20S.&TYPE1=ALL&LOGIC1=AND&COLL=&SORT_TYPE=MTIC&start_row=5>;
40. Cary E.E. 1982. Chromium in air, soil and natural waters. In: Lang S, ed. *Topics in environmental health 5: Biological and environmental aspects of chromium*. Elsevier Biomedical Press, New York, NY: 49-64.
41. CERCLA, Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act, 2011. The Priority List of Hazardous Substances <<http://www.atsdr.cdc.gov/SPL/index.html>>;
42. Chambers C., Holliday A.K. 1975. *Modern Inorganic Chemistry*. Butterworth Publishers, Ltd. England, 435 - 439.
43. Champoux L., Rodrique J., Braune B., Leclair, D. 1999. Contaminants in Northern Quebec wildlife. In: Jensen, J. (Ed.), *Synopsis of research conducted under 1997-1998 Northern Contaminants Program*. Department of Indian Affairs and Northern Development, Ottawa, Canada, 109-116.

44. Chaney R.L., Brown S.L., Angle J.S., Stuczynski T.I., Daniels W.L., Henry C.L., Siebielec G., Li Y.M., Malik M., Ryan J.A., Compton H., 2000. In situ remediation/reclamation/restoration of metals contaminated soils using tailor made biosolids mixtures. In: Proceedings of Mining, Forest and Land Restoration Symposium/Workshop, July 17-19, Rocky Mountain Water Environment Association Biosolids Committee, Golden, CO.
45. Chaney R.L., Ryan J.A., 1994. Risk Based Standards for Arsenic, Lead and Cadmium in Urban Soils, DECHMEA, Frankfurt, Germany.
46. Chang L.W., 1979. Pathological effects of mercury poisoning. The biogeochemistry of mercury in the environment. Elsevier/North-Holland Biomedical Press, New York, 519-580.
47. Charter R.A., Tabatabai M.A., Schafer J.W. 1993. Metal Contents of Fertilizers Marketed in Iowa. Commun Soil Sci Plant Anal, 24, 961-972.
48. Chudík I., Mankovská B., 1989. Obsah ťazkých kovov v niektorých druhoch veľkej poľovnej zveri V Slovenskej socialistickej republike. Folia venatoria 19: 31- 47.
49. Clemens S. 2001. Review: Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. Planta 212(4):475-486.
50. Clewell H.J., Andersen M. 1985. Risk assessment extrapolations and physiological modeling. Toxicol Ind Health 1(4):111-131.
51. Connell, D.W., Miller, G.J. 1984. Chemistry and Ecotoxicology of Pollution. John Wiley and Sons, Toronto, 444 .
52. Czajkowska M., Chrobaczyńska M., Kuczkowska-Kuźniar A. Gał. 2011. Accumulation of zinc, iron and copper in the liver and kidney of the European hare (*Lepus europaeus*). Episteme 12:27-32.
53. Danielson R., Frank, A. 2009. Cadmium in moose kidney and liver - age and gender dependency, and standardisation for environmental monitoring. Environ Monit Assess 157:73-88.
54. Debusk T.A., Laughlin R.B. JR., Schwartz L.N., 1996. Retention and compartmentalization of lead and cadmium in wetland microcosms. Water Res 30 (11):2707-2716.
55. De Jonghe W.R.A., Chakraborti D., Adams F.C. 1981. Identification and determination of individual tetraalkyl lead species in air. Environ Sci Technol 15:1217-1222.
56. Djurić B.D., Petrović Lj. J., 1996. Zagađenje životne sredine i zdravlje čoveka - Ekotoksikologija. Velarta, Beograd, 312-324.
57. Dobrowolska A., Melosik M. 2002. Mercury contents in liver and kidneys of wild boar (*Sus scrofa*) and red deer (*Cervus elaphus*). Szczecin Z Jagdwiss 48:156-160.
58. Dorman D.C., McElveen A.M., Marshall M.W., et al. 2005. Tissue manganese concentrations in lactating rats and their offspring following combined in utero and lactation exposure to inhaled manganese sulfate. Toxicol Sci 84:12-21.

59. Dressler R.,L, Storm G.L., Tzilkowski W.M., et al. 1986. Heavy metals in cottontail rabbits on mined lands treated with sewage sludge. *J Environ Qual* 15(3):278-281.
60. E.A.G.L.E Project, Technical Report, 2001. Contaminants in Wild Game, Effects on Aboriginals from The Great Lakes, pdf document, p-19, <ecolink@aci.on.ca>;
61. Edwards P.J., Fletcher M.R., Berny P. 2000. Review of the factors affecting the decline of the European brown hare, *Lepus europaeus* (Pallas, 1778) and the use of wildlife incident data to evaluate the significance of paraquat. *Agr Ecosyst Environ* 79:95-103.
62. Efroymson R.A., Sample B.E., Suter G.W. 2004. Bioaccumulation of inorganic chemicals from soil by plants: spiked soils vs. Field contamination on background. *Hum Ecol Risk Assess* 10 (6):1117-1127.
63. Eiraa C., Torresa J., Vingadab J., Miquela J. 2005. Concentration of some toxic elements in *Oryctolagus cuniculus* and in its intestinal cestode *Mosgovoyia ctenoides*, in Dunas de Mira (Portugal). *Sci Tot Environ* 346: 81- 86.
64. Eisler R. 1985. Cadmium hazards to fish, wildlife, and invertebrates: A synoptic view. U.S. Fish Wild Serv Biol Rep 85(1.2) 1-46. <http://www.pwrc.usgs.gov/infobase/eisler/CHR_2_Cadmium.pdf>;
65. Eisler R. 1987. Mercury Hazards to Fish, Wildlife, and Invertebrates: A Synoptic Review, U.S. Fish and Wildlife Service Patuxent Wildlife Research Center. <http://www.pwrc.usgs.gov/infobase/eisler/CHR_10_Mercury.pdf>;
66. Eisler R. 1988. Lead hazards to fish, wildlife, and invertebrates: A synoptic review. Laurel, MD: U.S. Department of the Interior, Fish and Wildlife Service. Biol Report 85 (1.14). <http://www.pwrc.usgs.gov/infobase/eisler/chr_14_lead.pdf>;
67. Elinder C.G. 1985. Cadmium: Uses, occurrence and intake. Cadmium and health: A toxicological and epidemiological appraisal. Vol. I. Exposure, dose, and metabolism. Effects and response. Boca Raton, FL: CRC Press, 23-64.
68. Elinder C.G. 1992. Cadmium as an environmental hazard. *IARC Sci Publ* 1118:123-132.
69. EPA, 1979. Water-related environmental fate of 129 priority pollutants: Vol. I. Introduction and technical background, metals and inorganics, pesticides and PCBs. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water Planning and Standard. EPA440479029a. <http://books.google.rs/books?hl=sr&lr=&id=FxNSAAAAMAAJ&oi=fnd&pg=PR7&dq=EPA,+1979.+Water-related+environmental+fate+of+129+priority+pollutants&ots=dz4YsgaFOi&sig=9SI dvEhb8ni0BuZzORTh7pH9_I0&redir_esc=y>;

70. EPA, 1986. Air quality criteria for lead. Research Triangle Park, NC: U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, Office of Health and Environmental Assessment, Environmental Criteria and Assessment Office. EPA600883028F.
<<http://books.google.rs/books?id=ARcgX38sMXMC&pg=SL1-PA1&dq=EPA,+1986.+Air+quality+criteria+for+lead.&hl=sr&sa=X&ei=O3MmUZ6jC8WotAbzp4CgAQ&ved=0CC4Q6AEwAA>>;
71. EPA. 2003. Health effects support document for manganese. U.S. Environmental Protection Agency. EPA822R03003.
<http://www.epa.gov/safewater/ccl/pdfs/reg_determine1/support_cc1_manganese_healtheffects.pdf>;
72. El-Tawil O.S., Morgan A.M. 2000. Teratogenic effects of trivalent and hexavalent chromium in rabbits. *Toxicologist* 54(1):32.
73. European Commission, 2002. Directive 657/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results; Official Journal of the European Communities.
<eur-ex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2002:221:0008:0036:EN:PDF>;
74. Fairbrother A., Wenstel R., Sappington K., Wood W. 2007. Framework for Metals Risk Assessment. *Ecotox Environ Safe* 68:145-227.
75. Falandysz J. 1991. Manganese, copper, zinc, iron, cadmium, mercury and lead in muscle meat, liver and kidneys of poultry, rabbit and sheep slaughtered in the northern part of Poland. *Food Addit Contam.* 8(1):71-83.
76. Falandysz, J., Kotecka W., Kannan K. 1994. Mercury, lead, cadmium, manganese, copper, iron and zinc concentrations in poultry, rabbit and sheep from the northern part of Poland. *Sci Tot Environ* 141:51-57.
77. Falandysz J., Szymczyk-Kobrzynska, K., Brzostowski A., Zalewski K., Zasadowski A. 2005. Concentrations of heavy metals in the tissues of red deer (*Cervus elaphus*) from the region of Warmia and Mazury, Poland. *Food Add Contam* 22:141-149.
78. Falandysz J., 1994. Some toxic and trace metals in big game hunted in the northern part of Poland in 1987-1991. *Sci Tot Environ* 141: 59-73.
79. Ferguson B.A., Akahoshi Y., Laing P.G., Hodge E.S. 1962. Trace Metal Ion Concentration in the Liver, Kidney, Spleen, and Lung of Normal Rabbits. *The Journal of Bone and Joint Surgery* (2) Vol. 44-A.
80. Filipović I., Lipanović S., 1986. *Opća i anorganska kemija II dio*, Školska knjiga, Zagreb.
81. Fore H., Morton R.A. 1952. Manganese in rabbit tissues. *Biochem J* 51:600-603.
82. Frank R., Stonefield K.I., Luyken H., Suda P. 1986. Survey of elemental contents in two organs of slaughtered bovine, porcine, and avian specimens, Ontario, Canada 1980-1983. *Environ Monit Assess* 6: 259-265.
83. Franzmann A.W., Flynn A., Arneson P. D. 1975. Levels of Some Mineral Elements in Alaskan Moose Hair. *J Wildl Mgmt* 39(2):374-378.

84. Friberg L.T., Kjellstrom Nordberg G.F. 1986. Handbook on the Toxicology of Metals, Vol. 2. Elsevier, Amsterdam, New York, Oxford, pp. 130-184.
85. Frosli A., Holt G., Høie R., Haugen A. 1987. Levels of copper, selenium and zinc in liver of Norwegian moose (*Alce alces*), reindeer (*Rangifer tarandus*), roedeer (*Capreolus Capreolus*) and hare (*Lepus timidus*). Norsk Landbruksforskning 1:243-249.
86. Frosli A., Norheim G., Rambaek J.P. Steinnes E. 1984. Levels of trace elements in liver from Norwegian moose, reindeer and red deer in relation to atmospheric desposition. Acta Vet Scand 25:333-45.
87. Fytianos K., Katsianis G., Triantafyllou P., Zachariadis G. 2001. Accumulation of heavy metals in vegetables grown in an industrial area in relation to soil. Bull Environ Contam Toxicol 67:423-430.
88. Galloway T.S., Brown R.J., Browne M., Dissanayake A., Lowe D., Jones M.B., Depledge M.H., 2004. A Multibiomarker Approach To Environmental Assessment. Environ Sci Technol 38:1723-1731.
89. Gasparik J., Massanyi P., Slamecka J., Fabis M., Jurcik R. 2004. Concentration of selected metals in liver, kidney, and muscle of the red deer (*Cervus elaphus*). J Environ Sci Heal A 39:2105-2111.
90. Gerritse R.G., Driel W.V. 1984. The relationship between adsorption of trace metals, organic matter, and pH in temperate soils. J Environ Qual 13(2):197-204.
91. Gilmour C.C., Henry E.A., 1991. Mercury methylation in aquatic systems affected by acid deposition. Environ Pollut 71(2-4):131-169.
92. Glooschenko V., Downes C., Frank R., Braun H.E., Addison E.M., Hickie J. 1988. Cadmium levels in Ontarion moose and deer in relation to soil sensitivity to acid precipitation. Sci Tot Environ 71:173-186.
93. Gochfeld M., Burger J. 1982. Biological concentrations of cadmium in estuarine birds of the New York Bight. Colonial Waterbirds 5:116-123.
94. Goodwin F.E. 1998. Zinc compounds. In: Kroschwitz J, Howe-Grant M, eds. Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology. New York, NY: John Wiley & Sons, Inc., 840-853.
95. Gomberti S., Rausch de Traubenberg C., Losno R., Leblond S., Collin J.L., Cossa D., 2004. Biomonitoring of Element Deposition Using Mosses in the 2000 French Survey: Identifying Sources and Spatial Trends. J Atmos Chem 49: 479-502.
96. Goyer R.A. 1997. Toxic and Essential Metal Interactions, Annu Rev Nutr 17: 37-50.
97. Goyer R.A. 1996 Toxic effects of metals. In: Klaassen CD, ed. Casarett & Doull's toxicology: the basic science of poisons. 5th ed. New York City, NY: McGraw-Hill, 715-716.
98. Goyer R.A., Clarkson T.W. 2001. The Basic Science of Poisons, 6th ed., C. D. Klaassen, ed. New York: McGraw-Hill, 811-867.

99. Grace N.D., Knowles S.O., Rounce J.R., West D., Lee J. 1998. Effect of increasing pasture copper concentrations on the copper status of grazing Romney sheep. *New Zeal J Agr Res* 41: 377-386.
100. Greenwood N.N., Earnshaw A., 1997. *Chemistry of the Elements*, Second Edition, Butterworth-Heinemann, Oxford, Reed Educational and Professional Publishing Ltd., 1201-1202.
101. Grodzinska W., Yorks T.P. 1981. Species and Ecosystem levels of Bioindicators and Airborne Pollution. *Water Air Soil Poll* 16: 33-53.
102. Gupta U.C. 1979. Copper in agricultural crops. Nriagu JO, ed. In: *Copper in the environment. Part I: Ecological Cycling*. John Wiley & Sons Inc. NY.
103. Gupta R. 2011. *Veterinary Toxicology: Basic and Clinical Principles*, Iron. In: *Metals and Micronutrients*, Academic Press, Elsevier, NY, 438-442.
<http://books.google.rs/books?id=NgMX_L3q40C&printsec=frontcover&hl=sr&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false>;
104. Harrison S.E., Klaverkamp J.F., 1990. Metal contamination in liver and muscle of northern pike (*esox lucius*) and white sucker (*catostomus commersoni*) and in sediments from lakes near the smelter at Flin Flon, Manitoba. *Environ Tox Chem* 9:941-956.
105. Hillman R.S. 1995. Hematopoietic agents: growth factors, minerals, and vitamins. In: Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, et al, eds. *Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*. 9th ed. New York City, NY: McGraw-Hill, 1995.
106. He Q.B., Singh B.R., 1994. Crop uptake of cadmium from phosphorus fertilizers. I. Yield and cadmium content *Water Air Soil Poll* 74:251-265.
107. Hell P., Tataruch F., Find'o S., Stanovský M., Onderscheka K. 1994. Variabilita obsahu niektorých elementov v parohovej hmote jelenov a srncov z troch oblastí Slovenska. *Folia Venatoria* 24:29-37.
108. Hermoso de M.G. Maria, Hernández D.M., Rodríguez F.S., López B., Ana, Fidalgo-Álvarez L.E., Pérez-López M.P. 2011. Sex- and age-dependent accumulation of heavy metals (Cd, Pb and Zn) in liver, kidney and muscle of roe deer (*Capreolus capreolus*) from NW Spain. *J Environ Sci Heal A* 46:109-116.
109. Hernandez LM, González MJ, Rico MC, Fernández MA, Baluja G. 1985. Presence and biomagnification of organochlorine pollutants and heavy metals in mammals of Donana National Park (Spain) 1982-1983. *J Environ Sci Health B* 20:633-650.
110. Herrero T.C., Martin L.F.L. 1993. Evaluation of cadmium levels in fertilized soils. *Bull Environ Contam Toxicol* 50:61-68.
111. Hodgson E., 2004., *Textbook of Modern Toxicology*, 2004. Third Edition, John Wiley & Sons, Inc., 49-50.
112. Holm J., 1984. Contamination of game by heavy metals from differently structured regions of origin. *Fleischwirtsch* 64(5):613-619.

113. Howard H. 2002. In: Life Support: The Environment and Human Health Michael McCally (ed), 2002 MIT press, Chapter 4, p 1-3, MIT press.
<http://sitemaker.umich.edu/merg/files/hu_metals_chapter_in_mccally.pdf>;
114. Janssen C., Muysen B. 2001. Essentiality of metals: consequences for environmental risk assessments. Fact Sheet #5 on environmental risk assessment. International Council on Metals and the Environment, Ottawa, Ont., Canada.
115. Jarup, L., 2003. Hazards of heavy metal contamination. Br Med Bull 68: 167-82.
116. Jenner A., Ren M., Rajendran R., Ning P., Tan B.K.H., Watt F., Halliwell B. 2007. Zinc supplementation inhibits lipid peroxidation and the development of atherosclerosis in rabbits fed a high cholesterol diet. Free Rad Biol Med 42:559-566.
117. Jenkins D.W. 1980. Biological monitoring of toxic trace metals. Vol 2. Toxic trace metals in plants and animals of the world. Part III, Environmental Protection Agency, Las Vegas, NV (USA). Environmental Monitoring Systems Lab.
<http://www.osti.gov/energycitations/product.biblio.jsp?osti_id=6253437>;
118. Johansson A., Camner P. 1986. Adverse effects of metals on the alveolar part of the lung. Scan Electron Microsc 2:631-637.
119. Johansson A., Camner P., Robertson B. 1981. Effects of long-term nickel dust exposure on rabbit alveolar epithelium. Environ Res 25:391-402.
120. Johansson A., Curstedt T., Jarstrand C, et al. 1988. Effects on the rabbit lung of combined exposure to nickel and trivalent chromium. J Aerosol Sci 19:1075-1078.
121. Jones R., Prohaska K.A., Burgess M.S.E. 1988. Zinc and cadmium in corn plants growing near electrical transmission towers. Water Air Soil Poll 37:355-363.
122. Kabata-Pendias, A., Pendias H. 1984. Trace Elements in Soil and Plants. CRC Press, Boca Raton, FL.
123. Kalac P., Niznanska M., Bevilaqua D., et al., 1996. Concentrations of mercury, copper, cadmium and lead in fruiting bodies of edible mushrooms in the vicinity of a mercury smelter and a copper smelter. Sci Tot Environ 177(1-3):251-258.
124. Kalas J.A., Steinnes E., Lierhagen S, 2000. Lead exposure of small herbivorous vertebrates from atmospheric pollution, Environ Pollut 107: 21-29.
125. Katona K., Biro Z., Szemethy L., Demes T., Nyeste M. 2010. Spatial, temporal and individual variability in the autumn diet of european hare (*Lepus europaeus.*) in Hungary. Acta zool acad sci H 56(1): 89-101.
126. Kjellström T., Nordberg G.F. 1978. A kinetic model of cadmium metabolism in the human being. Environ Res 16:248-269.

127. Kleiminger J., Holm J. 1985. Constructing a cause-oriented system for monitoring the contamination of game by harmful substances. 4. Choosing a suitable bioindicator of harmful substances. *Fleischwirtschaft* 65:394-399.
128. Kolesarova A., Slamecka J., Jurcik R., Tataruch F., Lukac N., Kovacik J., Capcarova M., Valent M., Massanyi P. 2008. Environmental levels of cadmium, lead and mercury in brown hares and their relation to blood metabolic parameters. *J Environ Sci Heal A* 43:646-650.
129. Kordas K., Stoltzfus R.J. 2004. New evidence of iron and zinc interplay at the enterocyte and neural tissues. *J Nutr* 134:1295-1298.
130. Kottferová J., Koréneková B. 1998. Distribution of Cd and Pb in the Tissues and Organs of Free-Living Animals in the Territory of Slovakia. *Bull Environ Contam Toxicol* 60: 730-737.
131. Kramárová M, Massányi P, Slamecka J, Tataruch F, Jancová A, Gasparik J, Fabis M, Kovacik J, Toman R, Galová J, Jurcik R. 2005a. Distribution of Cadmium and Lead in Liver and Kidney of Some Wild Animals in Slovakia, *J Environ Sci Heal. A.* 40:593-600.
132. Kramarova, M, Massanyi, P, Jancova, A, Toman, R, Slamecka, J, Tataruch, F, Kovacik, J, Gasparik, J, Nad, P, Skalicka, M, Korenekova, B, Jurcik, R, Cubon, J, Hascik, P. 2005b. Concentration of cadmium in the liver and kidneys of some wild and farm animals. *B Vet I Pulawy* 49:465-469.
133. Krelowska-Kulas M., Kudelka W., Stalinski Z., Bieniek J., 1994. Content of metals in rabbit tissues. *Nahrung* 38 (4):393-396.
134. Kristensson K., Eriksson H., Lundh B., Plantin LO, Wachtmeister L., el Azazi M., Morath C., Heilbronn E., Sprague-Dawley. 1986. Effects of manganese chloride on the rat developing nervous system. *Acta Pharmacol Toxicol* 59:345-348.
135. Landis W.G., Wiegers J.A. 1997. Design considerations and a suggested approach for regional and comparative ecological risk assessment. *Hum Ecol Risk Assess* 3:287-297.
136. Laperche V., Logan T.J., Gaddam P., Traina, S.J. 1997. Effect of apatite amendments on plant uptake of lead from contaminated soil. *Environ Sci Technol* 31 (10):2745-2753.
137. Lazarus M., Orct T., Blanuša M., Vicković I., Šostarić B. 2008. Toxic and essential metal concentrations in four tissues of red deer (*Cervus elaphus*) from Baranja, Croatia. *Food Addit Contam* 25:270-283.
138. Lazarus M., Vicković I., Šostarić B., Blanuša M. 2005. Heavy metal levels in tissues of red deer (*Cervus elaphus*) from Eastern Croatia. *Arh Hig Rada Toksikol.* 56:233-240.
139. Lewis S.A., Becker P.H., Furness R.W. 1993. Mercury levels in eggs, tissues, and feathers of herring gulls *Larus argentatus* from the German Wadden. *Sea Coast Environ Pollut* 80:293-299.

140. Lewis S.A., Furness R.W. 1991. Mercury accumulation and excretion in laboratory reared black-headed gull *Larus ridibundus* chicks. *Arch Environ Contam Toxicol* 21:316-320.
141. Lindqvist O. 1991. Emissions of mercury to the atmosphere. *Water Air Soil Poll* 55(1-2):23-32.
142. López-Alonso M., Benedito J.L., Miranda M. Castillo C., Hernández J., Shore R.F. 2002. Interactions between toxic and essential trace metals in cattle from a region with low levels of pollution. *Arch Environ Contam Toxicol* 42:165-172.
143. Lloyd T.B., Showak W. 1984. Zinc and zinc alloys. In: Grayson M, ed. Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology. 3rd Edition, vol. 24. New York, NY: John Wiley and Sons, 835-836.
144. Mankovská B. 1990. Kumulácia ťazkých kovov v lesnej zveri. Záverečná správa, VÚLH Zvolen.
145. Manninen S., Tanskanen N. 1993. Transfer of lead from shotgun pellets to humus and three plant species in a Finnish shooting range. *Arch Environ Con Tox* 24:410-414.
146. Marschner H. 1998. Soil root interface: biological and biochemical processes. In: Huang, P.M. (Ed.), *Soil Chemistry and Ecosystem Health*. Soil Science Society of America, Madison, WI, 191-232.
147. Mason R.P., Abbot M.L., Bodaly R.A., Bullock O.R., Driscoll C.T., Evers D. 2005. Monitoring the response to changing mercury deposition. *Environ Sci Technol* 39:14-22.
148. Massányi P., Tataruch F., Slamečka J., Toman R., Jurčík R. 2003. Accumulation of lead, cadmium, and mercury in liver and kidney of the brown hare (*Lepus europaeus*) in relation to the season, age, and sex in the West Slovakian Lowland. *J Environ Sci Health A*, 38 (7):1299-1309.
149. Massányi, P., Toman, R., Uhrín, V., & Renon, P. (1995). Distribution, of cadmium in selected organs of rabbits after an acute and chronic administration. *Ital J Food Sci* 7:311- 316.
150. Mateos G.G., De Blas C., 1998. Minerals, vitamins and additives. In : DE BLAS C., WISEMAN J. (ed). *The Nutrition of the Rabbit*. CABI Publishing, Wallingford, 145-174.
151. Mathur A.K., Chandra S.V., Tandon S.K. 1977. Comparative toxicity of trivalent and hexavalent chromium to rabbits: II. Morphological changes in some organs. *Toxicology* 8:53-61.
152. Mayack D.T. 2012. Hepatic mercury, cadmium, and lead in mink and otter from New York State: monitoring environmental contamination. *Environ Monit Assess* 184:2497-2516.
153. McBride M.B., 1995. Toxic metal accumulation from agricultural use of sludge: Are USEPA regulations protective? *J Environ Qual* 24:5-18.

154. McGeer J., Henningsen G., Lanno R., Fisher N., Sappington K., Drexler J. 2004. Issue Paper on the Bioavailability and Bioaccumulation of Metals . Eastern Research Group, Inc. 110 Hartwell Avenue Lexington, submitted to: U.S. Environmental Protection Agency Risk Assessment Forum 1200 Pennsylvania Avenue, NW Washington, DC. <<http://www.epa.gov/raf/publications/pdfs/BIOFINAL81904.PDF>>;
155. McGrath S.P. 1995. Chromium and nickel. In: Alloway, B.J. (Ed.), Heavy Metals in Soils. Blackie Academic and Professional, London, 152-178.
156. McIntosh J. E. A., Lutwak-Mann C. 1972. Zinc Transport in Rabbit Tissues, *Biochem J* 126:869-876.
157. Medvedev N. 1999. Level of Heavy Metals in Karelian Wildlife, 1989-91, *Environ Mon Assess* 56:177-93.
158. Meili M. 1991. The coupling of mercury and organic matter in the biogeochemical cycle - towards a mechanistic model for the boreal forest zone. *Water Air Soil Poll* 56:333-347.
159. Mertz W. 1981. The essential trace elements. *Science* 213:1332-1338.
160. Millhollen A.G., Obrist D., Gustin M.S. 2006. Mercury accumulation in grass and forb species as a function of atmospheric carbon dioxide concentrations and mercury exposures in air and soil. *Chemosphere*. 65(5):889-897.
161. Miskimmin B.M., 1991. Effects of natural levels of dissolved organic carbon (DOC) on methyl mercury formation and sediment water partitioning. *Bull Environ Contam Toxicol* 47(5):743-750.
162. Morrow H. 2001. Cadmium and cadmium alloys. In: Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology. John Wiley & Sons, Inc., 471-507.
163. Mortvedt J.J. 1996. Heavy metal contaminants in inorganic and organic fertilizers. *Nutr Cycl Agroecosys* 43:55-61.
164. Mulvey M., Diamond S.A., 1991. Genetic factors and tolerance acquisition in populations exposed to metal and metalloids. In: Newman, M.C., McIntosh, A.W. (Eds.), *Metal Ecotoxicology: Concepts and Applications*. Lewis Publishers, Chelsea, MI, 301-321.
165. Munn R.E. 1973. Global Environmental Monitoring System (GEMS), SCOPE Report 3, Toronto p.130.
166. Munshower F.F. 1977. Cadmium accumulation in plants and animals of polluted and nonpolluted grasslands. *J Environ Qual* 6:411-413.
167. Myslek P., Kalisinska E. 2006. Contents of selected heavy metals in the liver, kidneys and abdominal muscle of the brown hare (*Lepus europaeus* Pallas) in Central Pomerania, Poland. *Pol J Vet Sci* 9:31-41.
168. Nancarrow D.J., Adams A.L., Slade N.J., Steeds J.E. 2001. Land Contamination: Technical Guidance on Special Sites: Petroleum Refineries, R&D Technical Report P5-042/TR/05, Environment Agency, Bristol BS32 4UD, UK. <<http://cdn.environment-agency.gov.uk/sp5-042-tr-5-e-e.pdf>>;

169. NAS, 1978. An assessment of mercury in the environment. Washington, DC: National Academy of Sciences, 185 pp. <<http://books.google.rs/books?id=GjgrAAAAYAAJ&printsec=frontcover&hl=rs>>;
170. NAS, 1973. Manganese in the ecosystem. In: Medical and biological effects of environmental pollutants: Manganese. Washington, DC: National Academy of Sciences, 3-50.
171. Neugebauer, E.A., Sans Cartier, G.L. and Wakeford, B.J., 2000. Methods for the Determination of Metals in Wildlife Tissues Using Various Atomic Absorption Spectrophotometry Techniques. Technical Report Series No. 337E. Canadian Wildlife Service, Headquarters, Hull, Québec, Canada. <<http://publications.gc.ca/collections/Collection/CW69-5-337E.pdf>>;
172. NFA-EELA-MAF, 2004. Results of residue examinations of products of animal origin in Finland in 2003, National Food Agency (NFA), National Veterinary and Food Research Institute (EELA) and Ministry of Agriculture and Forestry (MAF), Helsinki, Finland.
173. Niemi A., Venalainen E.R., Hirvi T., Valtonen M. 1993. Heavy metals in muscle, liver, and kidney from Finnish elk in 1980-81 and 1990. Bull Environ Contam Toxicol 50:834-841.
174. Nolet B.A., Dijkstra V.A.A., Heidecke D. 1994. Cadmium in beavers translocated from the Elbe River to the Rhine/Meuse Estuary, and the possible effect on population growth rate. Arch Environ Contam Toxicol 27: 154-161.
175. Nordberg G.F., Kjellström T. 1979. Metabolic model for cadmium in man. Environ Health Persp 28:211-217.
176. Nriagu J.O. 1989. A global assessment of natural sources of atmospheric trace metals. Nature 338:47-49.
177. Nriagu J.O. 1990. Global Metal Pollution: poisoning biosphere, Environment 32 (7): 7-33.
178. Nriagu J.O., Pacyna J.M. 1988. Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. Nature 333:134-139.
179. Onosaka S., Cherian M.G., 1982. The induced synthesis of metallothionein in various tissues of rats in response to metals. II. Influence of zinc status and specific effect on pancreatic metallothionein. Toxicology 23(1):11-20.
180. Onosaka S., Cherian M.G. 1981. The induced synthesis of metallothionein in various tissues of rat in response to metals. I. Effect of repeated injection of cadmium salts. Toxicology 22(2):91-101.
181. Onosaka S., Tanaka K., Cherian M.G. 1984. Effects of Cadmium and Zinc on Tissue Levels of Metallothionein. Environ Health Perspect 54:67-72.

182. Oosterhuis F.H., Brouwer, F.M., Wijnants, H.J.A. 2002. Possible EU wide charge on cadmium in phosphate fertilizers: Economic and environmental implications, Final report to the EU Commission, Report number E-00/02, (commissioned by the European Commission).
<<http://ec.europa.eu/environment/enveco/taxation/pdf/cadium.pdf>>;
183. Ornes W.H., Sajwan K.S., 1993. Cadmium accumulation and bioavailability in coontail (*Ceratophyllum demersum* L.) plants. *Water Air Soil Poll* 69:291-300.
184. Pascoe G.A., Blanchet R.J., Linder G.1994. Bioavailability of metals and arsenic to small mammals at mining waste-contaminated wetland. *Arch Environ Contam Toxicol* 27: 44-50.
185. Páv J., Zajíček D., Pavelka J., 1982. Obsah nektérých kovových prvkú v srsti, orgánech a svalovine spárkaté zvere. *Veterinárství* 32(11): 404-506.
186. Pedersen S., Lierhagen S. 2006. Heavy metal accumulation in arctic hares (*Lepus arcticus*) in Nunavut, Canada. *Sci Tot Environ* 368:951-955.
187. Pejinenburg W.J.G.M., Jager T., 2003. Monitoring approaches to assess bioaccessibility and bioavailability of metals: Matrix issues. *Ecotox Environ Safe* 56:63-77.
188. Petering D.H., Krezoski S., Tabatabai N.M. 2009. Metallothionein toxicology: metal ion trafficking and cellular protection. *Met Ions Life Sci* 5:353-397.
189. Petrović Z. 2007. Tkiva krupne i pernate divljači kao bioindikatori zagađenja životne sredine teškim metalima, Magistarski rad, Univerzitet u Beogradu.
190. Petruzzelli G., Lubrano L., Cervelli S. 1987. Heavy metal uptake by wheat seedlings grown in fly ash amended soils. *Water Air Soil Poll* 32:389-395.
191. Pilastro A., Congiu L., Tallandini L., Turchetto M. 1993. The use of bird feathers for the monitoring of cadmium pollution. *Arch Environ Contam Toxicol* 24: 355-358.
192. Ponka P., Schulman H.M., Woodworth R.C.1990. Iron transport and storage. Boca Raton, Fla: CRC Press.
193. Popović N., Ilić V. 2007. Bolesti divljih životinja: Biološke karakteristike zeca i divljeg kunića, Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine,106-108.
194. Popović Z., Beuković M., Đorđević N. 2012. Gazdovanje populacijom zeca (*Lepus Europaeus Pall.*) u Srbiji Međunarodni simpozijum o lovstvu, »Savremeni aspekti održivog gazdovanja populacijama divljači« Zemun-Beograd, Srbija, 22. - 24. jun, 1-5.
<<http://www.cepib.org.rs/wp-content/uploads/2012/08/1.pdf>>;
195. Popović Z., Djordjevic N. 2010. Gazdovanje populacijama divljači u cilju smanjenja šteta, Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet.

196. Pravilnik o količinama pesticida, metala i metaloida i drugih otrovnih supstancija, hemioterapeutika, anabolika i drugih supstancija koje se mogu nalaziti u namirnicama Sl. list SRJ 5/92, 11/92, 32/2002; "Sl. glasnik RS", br. 25/2010 i 28/2011.
197. Program razvoja lovstva Srbije 2001-2010. Lovački savez Srbije, Beograd, 1-241.
198. Puls R. 1994. Mineral Levels in Animal Health: Diagnostic Data. Second edition. Sherpa International. Clearbrook, B.C.p 238.
199. Ratcliffe H.E., Swanson G.M., Fischer L.J. 1996. Human exposure to mercury: a critical assessment of the evidence of adverse health effects. J Toxicol Environ Health 49 (3):221-70.
200. Reglero M.M., Monsalve-González L., Taggart M.A., Mateo, R. 2008. Transfer of metals to plants and red deer in an old lead mining area in Spain. Sci Tot Environ 406: 287-297.
201. Rehnberg G.L., Hein J.F., Carter S.D., Linko R.S., Laskey J.W. 1982. Chronic ingestion of Mn₃O₄ by rats: Tissue accumulation and distribution of manganese in two generations. J Toxicol Environ Health 9:175-188.
202. Reiterer G., Toborek M., Hennig B. 2004. Peroxisome proliferator activated receptors alpha and gamma require zinc for their antiinflammatory properties in porcine vascular endothelial cells. J Nutr 134(7):1711-1715.
203. Reitz F., Leonard Y.1994. Characteristics of European hare, *Lepus europaeus*, use of space in a French agricultural region of intensive farming. Acta Theriologica 39:143-157.
204. Rimkus G., Wolf M. 1987. Schadstoffbelastung von Wild aus Schleswing-Holstein, 4. Blei-, Cadmium- und Quecksilbergehalte in Fleisch und Innereien von Haar und Federwild. Fleischwirtschaft 67(9): 1150-1154.
205. Rice K.C. 1999. Trace-element concentrations in streambed sediment across the conterminous United States. Environ Sci Technol 33:2499-2504.
206. Ristić Z., Stojanović S., Knežić D. 2010. Članak: Blag deficit fazana a veliki zečeva, Lovac, (7), str. 11.
207. Rous P., Jelinek P. 2000. The effect of increased soil contamination with heavy metals on their content in some rabbit tissues. Czech J Anim Sci 45 (7):319-324.
208. Rutzke M., Gutenmann W.H., Williams S.D., Lisk D.J. 1993. Cadmium and selenium absorption by Swiss chard grown in potted composted materials. Bull Environ Contam Toxicol 31:416-420.
209. Sabolić I., Breljak D., Škarica M., Herak-Kramberger C.M. 2010. Role of metallothionein in cadmium traffic and toxicity in kidneys and other mammalian organs, Biometals 23:897-926.
210. Samek M., Zarski T.P., Marvin F., Lacic-Szozda E., Krynski A.1989. Study of the mercury content in the kidneys of hares. Ekologia Polska, 8 (1):69-73.

211. Sample B.E., Aplin M.S., Efroymson R.E., Suter G.W., Welsh C.J.E. 1997. Methods and Tools for Estimation of the Exposure of Terrestrial Wildlife to Contaminants. Oak Ridge National Laboratory, Oak Ridge, TN (ORNL/TM-13391).
<<http://www.esd.ornl.gov/programs/ecorisk/documents/tm13391.pdf>>;
212. Sandstrom B. 2001. Micronutrient interactions: effects on absorption and bioavailability. *Brit J Nutr* 85 (1):181-185.
213. Santiago D., Motas-Guzman A., Reja P., Maria-Mojica B., Rodero A., Garcia-Fernandez J., 1998. Lead and Cadmium in Red Deer and Wild Boar from Sierra Morena Mountains (Andalusia, Spain). *Bull Environ Contam Toxicol* 61:730-737.
214. Scanlon P.F., Morris K.I., Clark A.G., Fimreite N., Lierhagen S. 1986. Cadmium in moose tissues: comparison of data from Maine, U.S.A. and from Telemark, Norway. *Alces* 22: 303-312.
215. Schafer S., Dawes R.L.F., Elsenhans B., Forth W., Schumann K., 1999. Toxicology, Chapter 32. Metals. Academic Press, 755 - 756.
216. Schroeder W.H., Dobson M., Kane D.M., Johnson N.D. 1987. Toxic trace elements associated with airborne particulate matter: A review. *J Air Pollut Control Assoc* 37(11):1267-1285.
217. Schuhmacher M., Meneses M., Granero S., Llobet J.M., Domingo J.L. 1998. Trace metals in vegetation grown near to an old municipal solid waste incinerator from Catalonia, Spain. *Fresenius Environ Bull* 7:42-50.
218. Sharma R.P., Shupe J.L. 1977. Lead, cadmium, and arsenic residues in animal tissues in relation to those in their surrounding habitat. *Sci Tot Environ* 7:53-62.
219. Sheppard S.C., Sheppard M.I. 1991. Lead in boreal soils and food plants. *Water Air Soil Poll* (57-58):79-91.
220. Sileo L., Beyer W.N., 1985. Heavy metals in white-tailed deer living near a zinc smelter in Pennsylvania. *J Wildlife Dis* 21: 289-296.
221. Skoivanova V., Volek Z., Boezina P., Marounek M. 2002. Concentration of copper in muscles, liver, hair and faeces of growing rabbits fed diet supplemented with copper sulphate *World Rabbit Science* 10(4):167-170.
222. Skrivanko M., Hadziosmanovic M., Cvrtila Z., Zdolec N., Filipovic I., Kozacinski L., Florijancic T., Boskovic I. 2008. The hygiene and quality of hare meat (*Lepus europaeus* Pallas) from Eastern Croatia. *Arch Lebensmittel Hyg* 59(5):180-184.
223. Slamecka J., Jurcík R., Tataruch F., Peškovicová D. 1994. Kumulácia ťažkých kovov v orgánoch zajaca poľného (*Lepus europaeus* Pall) na juhozápadnom Slovensku. *Folia Venatoria* 24:77-87.
224. Slamecka J., Hell P., Jurcik R. 1997. Brown Hare in the West Slovak Lowland. *Acta Scientarium* 31:58-67.
225. Smith R.K. Jennings N.V., Harris S. 2005. A quantitative analysis of the abundance and demography of European hares *Lepus europaeus* in relation to habitat type, intensity of agriculture and climate. *Mammal Rev* 35(1):1-24.

226. Sparks D.L. 2005. Toxic Metals in the Environment: The Role of Surfaces. *Elements* (4):193-197.
227. Spirić Z., Srebočan E. 2001. Mercury concentrations in ambient air and hares at GTP Molve area, Workshop on Mercury in the Idrija Region and the Northern Adriatic, Portoroz, Slovenia, May 13-16.
228. Spirić Z., Srebocan E., Prevendar C.A. 2012. Mercury in hares' organs (*Lepus europaeus Pallas*) in the vicinity of the mercury contaminated natural gas treatment plant in Croatia. *J Environ Sci Heal A* 47:77-83.
229. Storm G.L., Fosmire G.J., Bellis E.D. 1994. Persistence of metals in soil and selected vertebrates in the vicinity of the Palmerton zinc smelters. *J Environ Qual* 23:508-514.
230. Suter II., G.W., 1993. *Ecological Risk Assessment*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL.
231. Swiergosz R., Perzanowski K., Makosz U., Bilek I. 1993. The incidence of heavy metals and other toxic elements in big game tissues. *Sci Tot Environ* 134:225-231.
232. Szymczyk K., Zalewski K., 2003. Copper, Zinc, Lead and Cadmium Content in Liver and Muscles of Mallards (*Anas Platyrhynchos*) and Other Hunting Fowl Species in Warmia and Mazury in 1999-2000, *Pol J Environ Stud* 12(3):381-386.
233. Tapia L., Gonzales-Aguero M., Cisternas M.F., Suazo M., Cambiazo V., Uauy R., González M. 2004. Metallothionein is crucial for safe intracellular copper storage and cell survival at normal and supra-physiological exposure levels. *Biochem J* 378:617-624.
234. Tapper S.C., Barnes R.F.W., 1986. Influence of farming practice on the ecology of the brown hare (*Lepus europaeus*). *J Appl Ecol* 23:39-52.
235. Tataruch F., Kierdorf H. 2003. Trace Metals and other Contaminants in the Environment. In: *Bioindicators & Biomonitors - Principles, Concepts and Applications*, Chapter 20, Volume 6, 737-772.
236. Tataruch F. 1994. Die Cadmium Kontamination der Wildtiere. *Allgem Forstzeitschr* 21:528-530.
237. Tataruch F. 1984. Untersuchungen zur schwermetallbelastung der feldhasen (*Lepus europaeus*) in Österreich. Habilitationsschrift; Forschungsinstitut für Wildtierkunde der Veterinärmedizinischen Universität, Wien, p 162.
238. Thompson D.R., Furness R.W., Walsh P.M., 1992. Historical changes in mercury concentrations in the marine ecosystem of the north and northeast Atlantic ocean as indicated by seabird feathers. *J Appl Ecol* 29: 79-84.
239. Thornton I., 1992. Sources and pathways of cadmium in the environment. *IARC Sci. Publ.* 118:149-162.
240. Teodorović, V., Dimitrijević M., 2011. Hemijski i fizički zagadivači namirnica animalnog porekla, Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Naučna KMD, d.o.o., Beograd.

241. Toman, R., & Massányi, P. (1996). Cadmium in selected organs of fallow-deer (*Dama dama*), sheep (*Ovis aries*), brown hare (*Lepus europaeus*) and rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) in Slovakia. *J Environ Sci Health A* 31(5):1043-1051.
242. Underwood E.J., Suttle N.F. 1999. The mineral nutrition of livestock. 3rd ed. New York: CABI Publishing. NY.
243. University of Wisconsin-Madison, Department of Soil Science, 2004. Soil and Applied Copper-pdf document A2527. <www.soils.wisc.edu/extension/pubs/A2527.pdf>;
244. US EPA (Environmental Protection Agency) 2003. Literature Review and Evaluation of the Atmospheric Persistence of Air Toxic Compounds, Internal EPA Report. Research Triangle Park, NC, EPA/600/X-03/011. <<http://www.epa.gov/nerl/research/2003/g12.html>>;
245. Vašak M., Hasler D.W. 2000. Metallothioneins: new functional and structural insights. *Curr Opin Chem Biol* 4:177-183.
246. Veltman K., Huijbregts M.A.J., Hamers T., Wijnhoven S., Hendriks A.J. 2007. Cadmium accumulation in herbivorous and carnivorous small mammals: Meta-analysis of field data and validation of the bioaccumulation model optimal modeling for ecotoxicological applications. *Environ Toxicol Chem* 26:1488-1496.
247. Venäläinen E.R., Niemi A., Hirvi T. 1996. Heavy metals of hares in Finland. 1980-82 and 1992-93. *B Environ Contam Tox* 56:251-258.
248. Vengušt G., Vengušt A. 2004. Some minerals as well as trace and toxic elements in livers of fallow deer (*Dama dama*) in Slovenia. *Eur J Wildlife Res* 50:59-61.
249. Vos G., Lammers H., Kan C.A. 1990. Cadmium and lead in muscle tissue and organs of broilers, turkeys and spent hens and in mechanically deboned poultry meat. *Food Addit Contam* 7:83-92.
250. Waalkes T.M.P., Coogan T.P., Barter R.A. 1992. Toxicological principles of metal carcinogenesis with special emphasis on cadmium. *Crit Rev Toxicol* 22(3-4):175-201.
251. Wake H. 2005. Oil refineries: a review of their ecological impacts on the aquatic environment. *Estuar Coas Shelf S.* 62:131-140.
252. Walburga V.L, Slamecka J. 1997. Comparisons of lead and cadmium concentrations in brown hares (*Lepus europeus* PALLAS) in agricultural and industrial areas of Germany and Slovakia. *Z Jagdwiss* 43:176-85.
253. Wester R.C., Maibach H.I., Sedik L., Melendres J., DiZio S., Wade M. 1992. *In vitro* percutaneous absorption of cadmium from water and soil into human skin. *Fund Appl Toxicol* 19:1-5.
254. WHO. 1981. Environmental health criteria 17: Manganese. World Health Organization, Geneva, Switzerland. <<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc017.htm>>;

255. WHO, 1998. Guidelines for drinking-water quality, 2nd ed. Vol. 2. Health criteria and other supporting information. World Health Organization, Geneva.
<http://www.who.int/water_sanitation_health/dwg/2edaddvol2a.pdf>;
256. WHO. 1988. Chromium. Environmental Health Criteria 61. Geneva: United Nations Environment Programme. International Labour Organisation. World Health Organization.
<<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc61.htm>>;
257. WHO, 1990. Methyl mercury. Vol. 101. Geneva, Switzerland: World Health Organization, International Programme on Chemical Safety.
<<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc101.htm>>;
258. WHO, 1991. Inorganic mercury. Vol. 118. Geneva, Switzerland: World Health Organization, International Programme on Chemical Safety.
<<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc118.htm>>;
259. Wilke K., Pohlmeyer K., Hannover und Lotrhammer K.H. 2000. Konzentrationen von Blei und Cadmium beim Schalenwild in autobahnnahen Revieren im Raum Gudow, Schleswig-Holstein. Z Jagdwiss 46:31- 44.
260. Wolkers H., Wensing T., Geert W.T.A. Bruinderink G. 1994. Heavy metal contamination in organs of red deer (*Cervus elaphus*) and wild boar (*Sus scrofa*) and the effect on some trace elements, Sci Tot Environ 144: 191-199.
261. Woolliams J.A., Suttle N.F., Wiener G., Field A.C., Woolliams C. 1983. The long-term accumulation and depletion of copper in the liver of different breeds of sheep fed diets of differing copper content. J Agr Sci 100: 441-449.
262. Wren C.D. 1986a. Mammals as Biological Monitors of Environmental Metal Levels. Environ Monit Assess 6:127-144.
263. Wren C.D., 1986b. A review of metal accumulation and toxicity in wild mammals. I. Mercury. Environ Res 40:210-244.
264. Wren C.D., Fischer K.L., Stokes P.M. 1988. Levels of lead, cadmium and other elements in mink and otter from Ontario, Canada. Environ Pollut 52:193-202.

Rođen je 13.05.1967. u Kraljevu, Republika Srbija. Osnovnu i srednju tehničku školu završio je u Kraljevu.

Na Tehnološko-metalurški fakultet, Univerziteta u Beogradu, upisao se školske 1987/88. godine. Na istom fakultetu diplomirao je 03.03.1994. godine sa prosečnom ocenom 8,08. Po diplomiranju se zaposlio u istraživačko-razvojnog Institutu „Kirilo Savić“ u Sektoru za zaštitu životne sredine i tehnološki inženjering. Od februara 1996., je stalno zaposlen u Institutu za higijenu i tehnologiju mesa u Beogradu, gde se danas nalazi na radnom mestu odgovornog projektanta tehnoloških procesa u Sektoru za razvoj i transfer tehnologija i koordinatora za sistem menadžmenta kvalitetom.

Stručni ispit predviđen za inženjere tehnologije položio je 2004. godine, a 2006 je stekao uslove za dobijanje licence Inženjerske komore Srbije kao odgovorni projektant iz oblasti tehnologije.

Magistarske studije iz naučne oblasti „Zaštita i unapređivanje životne sredine“ - Univerziteta u Beogradu upisao je školske 1995/96 godine na Centru za multidisciplinarne studije Univerziteta u Beogradu

Magistarski rad pod nazivom „Tkiva krupne i pernate divljači kao bioindikatori zagađenja životne sredine teškim metalima“ odbranio je 08.06.2007. godine, čime je stekao akademski naziv magistra nauka iz multidisciplinarnih naučnih oblasti-zaštita i unapređenje životne sredine.

Specijalističke studije iz oblasti upravljanja kvalitetom, upisao je školske 2005/2006 na Fakultetu organizacionih nauka, Univerziteta u Beogradu. Specijalistički rad pod nazivom „Modeli obezbeđenja kvaliteta u proizvodnji i distribuciji hrane“ odbranio je 08.10.2008.

Do sada je kao prvi autor ili u zajednici sa drugim autorima objavio 14 radova u domaćim ili međunarodnim časopisima od tog broja, 5 u međunarodnim iz grupe M23.

Oženjen je suprugom Draganom i ima dva sina Nikolu od 17 i Iliju od 11 godina.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани Мр Зоран Петровић

број индекса _____

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

ПРОЦЕНА БИОМОНИТОРСКОГ ПОТЕНЦИЈАЛА ЗЕЦА (*Lepus europaeus*) НА ОСНОВУ АКУМУЛАЦИЈЕ ТЕШКИХ МЕТАЛА У ТКИВИМА

- 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, 13.05.2013.



Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Зоран Петровић

Број индекса _____

Студијски програм _____

Наслов рада

**ПРОЦЕНА БИОМОНИТОРСКОГ ПОТЕНЦИЈАЛА ЗЕЦА (*Lepus europaeus*) НА
ОСНОВУ АКУМУЛАЦИЈЕ ТЕШКИХ МЕТАЛА У ТКВИМА**

Ментор проф. др Владо Теодоровић

Потписани Мр Зоран Петровић

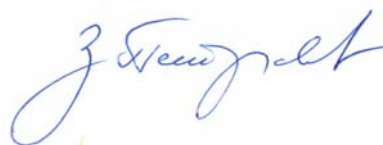
Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

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.

У Београду, 13.05.2013.

Потпис докторанда



Прилог 3.

Изјава о коришћењу

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

ПРОЦЕНА БИОМОНИТОРСКОГ ПОТЕНЦИЈАЛА ЗЕЦА (*Lepus europaeus*) НА ОСНОВУ АКУМУЛАЦИЈЕ ТЕШКИХ МЕТАЛА У ТКВИМА

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, 13.05.2013.



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.