

UNIVERZITET U BEOGRADU

BIOLOŠKI FAKULTET

Arian G. Morina

**Rečna mrena (*Barbus barbus*) kao
bioindikator zagađenja rečnih
sedimenata metalima**

doktorska disertacija

Beograd, 2016

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF BIOLOGY

Arian G. Morina

**Common barbel (*Barbus barbus*) as a
bioindicator of river sediment pollution
with metals**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2016

MENTORI:

Dr Jasmina Krpo-Ćetković, vanredni profesor,

Univerzitet u Beogradu – Biološki fakultet

Dr Vesna Đikanović, naučni saradnik,

Univerzitet u Beogradu – Institut za biološka istraživanja "Siniša Stanković"

ČLANOVI KOMISIJE ZA PREGLED, OCENU I ODBRANU:

Dr Jasmina Krpo-Ćetković, vanredni profesor,

Univerzitet u Beogradu – Biološki fakultet

Dr Vesna Đikanović, naučni saradnik,

Univerzitet u Beogradu – Institut za biološka istraživanja "Siniša Stanković"

Dr Slađana Spasić, viši naučni saradnik,

Univerzitet u Beogradu – Institut za multidisciplinarna istraživanja

Dr Božidar Rašković, docent,

Univerzitet u Beogradu – Poljoprivredni fakultet

Dr Aleksandar Hegediš, naučni savetnik,

Univerzitet u Beogradu – Institut za multidisciplinarna istraživanja,

i docent, Univerzitet u Beogradu – Biološki fakultet

Datum odbrane: _____

PREDGOVOR

Dugačak je spisak osoba kojima sam zahvalan što sam uopšte došao u priliku da učestvujem u izradi jedne ovakve studije, i da je privedem kraju.

Veliku zahvalnost dugujem svojim mentorkama, dr Jasmini Krpo-Ćetković, dr Vesni Đikanović, i dr Mirjani Lenhardt što su uvek imale strpljenja da saslušaju sve moje ideje, da me usmere na pravi put, podrže i ohrabre kad je bilo teško.

Duboko poštovanje i zahvalnost zaslužuje i ekipa sa Poljoprivrednog fakulteta, dr Božidar Rašković i tehnički saradnik Zorica Radović, koji su me uveli u tumačenje histoloških preparata riba, i pomogli u izolovanju organa mreke, što je prilikom izrade ove disertacije meni bilo najteže i najbolnije.

Da prikupljeni podaci dobiju neki smisao potrudila se dr Slađana Spasić, koja bi uvek našla lepu reč i odgovarajući statistički metod za rezultate kada je bilo potrebno.

Kvalitetu ovog istraživanja doprineli su i dr Suzana Erić i Bojan Kostić sa Rudarsko-geološkog fakulteta, koji su nesebično podelili samnom svoje znanje i pružili ogromnu pomoć i razumevanje.

Izrada ove teze je potvrdila činjenicu da meni ne postoji niko bliži od rođene sestre, dr Filis Morine, koja je pored rada na analizi metala u uzorcima sedimenta i mreke, uvek bila tu kada mi je bilo potrebno, da me kritikuje, pohvali, požuri, podeli sa mnom uspeh, a i poneku tugu. Izrada ove teze nas je dodatno približila kroz vreme i razgovore koje smo proveli zajedno.

Hteo bi hi da se zahvalim dr Ivanu Spasojeviću, dr Sonji Veljović, dr Dragani Miličić i Neši tehničaru, koji su sa mnom često razgovarali, i tokom godina pokušavali, i nadam se uspeli, da mi približe pravi put.

Ali, nikada dovde ne bih stigao da nije bilo moje porodice, moje bake koja je život posvetila sestri i meni, tetke koja me je u svim životnim akcijama podržavala, oca i majke koji su uvek bili tu da me podignu kad bih pao. Sve vreme pokretala me je ljubav koju sam dobijao i pružao mojoj dugogodišnjoj devojci Nataši, i našem sinu Leu. Nadam se da će mi oprostiti što sam propustio polovinu našeg zajedničkog života (taj Šengen i taj doktorat☺), i da ćemo konačno moći da zaživimo kao prava porodica.

Sećam se svih učenika kojima sam predavao, i kada bi dosli do osmog razreda i ekologije, jedva sam čekao da im predajem o mojoj tezi. Svi oni su na neki način

doprineli ovom radu, jer sam uživao kao nastavnik, učeći nove stvari i deleći svoje znanje sa njima.

Na kraju, kako da ne zahvalim mojim prijateljima, dr Miriam Weber, Draganu Brdaru, Feđi Puaču, Bambiju, Velikom i Malom, Medi i Zeki, Sasi i Nindži, Nojku, Banetu, Mariji, Vanču, Jasmini, Sneži, Anđelki Kekić, Meri, Dekiju, Miksi i Marku koji su uvek svoju pozitivnu energiju delili sa mnom, trudili se da ne osetim nedostatak devojke i sina, i gurali napred...

REZIME

Metali spadaju među značajne zagađivače akvatičnih ekosistema, s obzirom na njihovu stabilnost u ekosistemu i transport kroz lanac ishrane. Rečni sedimenti mogu deponovati visoke koncentracije metala, a brojni akvatični organizmi koriste sediment za različite potrebe u različitim fazama svog životnog ciklusa.

U ovom radu analizirane su ukupna i dostupna frakcija 15 elemenata u površinskim sedimentima Dunava, Zapadne Morave i Južne Morave, u tri sezone 2012. godine (april, jul, novembar), na tri različite dubine sedimenta (0-5 cm, 5-10 cm, 10-15 cm), uz upotrebu optičke emisione spektrometrije sa induktivno spregnutom plazmom (ICP-OES). Koncentracije elemenata utvrđene su i u tkivima rečne mreke (*Barbus barbus*) uzorkovane iz sve tri analizirane reke, i to u mišiću, škrgama, jetri i crevu. Analiza koncentracije metala obuhvatila je i intestinalnog parazita *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala) izolovanom iz mreke iz Dunava. Histološke analize urađene su u cilju utvrđivanja promena na škrgama i jetri mreke iz Dunava i Južne Morave. Za dodatnu analizu elemenata u sedimentu Zapadne Morave, u tkivima mreke iz Dunava, kao i u parazitu *P. laevis*, korišćena je skenirajuća elektronska mikroskopija sa energo-disperzivnom spektroskopijom (SEM-EDS).

Statistička analiza i trofaktorska MANOVA pokazale su postojanje značajnih razlikau veličini čestica sedimenta, prosečnoj koncentraciji elemenata i sezonskim promenama u koncentraciji elemenata između tri posmatrane reke. Koncentracije Cu i Ni u Zapadnoj Moravi i Dunavu bile su veće od maksimalno dozvoljenih koncentracija (MDK) za sediment u Republici Srbiji, dok je koncentracija Hg bila veća od MDK u sve tri reke. Koncentracije Al, Ba, Cu, Fe, Mn i Zn varirale su između sezona u Zapadnoj Moravi i Dunavu, sa najvećim vrednostima u letnjem periodu. U Južnoj Moravi varirale su koncentracije Al, As, Fe, Mn i Zn sa najmanjim koncentracijama u letnjem periodu. Zapadna Morava je sadržala najveće količine finih čestica u svom sedimentu, dok se najveći deo sedimenta Južne Morave sastojao od čestica peska. SEM-EDS analiza sedimenta Zapadne Morave ukazala je na antropogeni izvor povećane koncentracije Cu

u sedimentu ove reke. Analiza elemenata u tkivima mrene iz Zapadne Morave ukazala je na povećane koncentracije Cu i Ni u jetri i crevu, kao i Zn u mišiću mrene, što je u skladu sa koncentracijom ovih elemenata u sedimentu. SEM-EDS analiza organa mrene iz Dunava ukazala je na moguće antropogeno poreklo zagađivača u ovoj reci. Analizom koncentracije elemenata u *P. laevis* utvrđene su najveće koncentracije Cu, Zn i Pb, a SEM-EDS analiza je i u ovom slučaju ukazala na najverovatnije antropogeno poreklo ovih čestica. Histološka analiza jetre i škrge mrene iz Dunava i Južne Morave pokazala je statistički značajno veća oštećenja na ovim organima kod mrene iz Južne Morave, što je najverovatnije posledica organskog zagađenja ove reke.

Ključne reči: ukupni i dostupni metali, sediment, Dunav, Zapadna Morava, Južna Morava, rečna mrena, mišić, jetra, škrge, creva, intestinalni paraziti

Naučna oblast: Ekologija

Uža naučna oblast: Ekologija riba, Ekotoksikologija

UDK: [546.3/.303:[502:546.212]]:[575.854+597.551.2](043.3)

Common barbel (*Barbus barbus*) as a bioindicator of river sediment pollution with metals

SUMMARY

Metals are listed among the most important pollutants in aquatic ecosystems due to their stability and mobility through the food webs. River sediments can contain high concentrations of metals, and various aquatic organisms use sediments for various requirements in different stages of their life cycle.

In this research, total and bioavailable concentrations of 15 elements in surface sediments of three rivers – the Danube, the Zapadna Morava, and the Južna Morava, were analyzed during three seasons in 2012 (April, July, November), at three different sediment depths (0-5 cm, 5-10 cm, 10-15 cm), using inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES). Element concentrations were also determined in 4 tissues of the common barbel (*Barbus barbus*) sampled from all three rivers (muscle, gills, intestine, and liver). Element analysis was further carried out on barbel intestinal parasite *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala), collected from the Danube River. Histological analyses of gills and liver from fish collected from the Danube and the Južna Morava was performed with the purpose of determining any tissue alterations. Scanning electron microscopy/energy dispersive X-ray spectroscopy (SEM-EDS) was used for in-depth grain analysis of the Zapadna Morava sediments, as well as tissue and parasite *P. laevis* analyses of elements in barbel sampled from the Danube River.

Statistical analysis and three-way MANOVA showed significant differences in sediment grain size, average element concentration, and seasonal element concentration in the three rivers. Concentrations of Cu and Ni in the Zapadna Morava River and the Danube River were above the maximum allowable concentrations (MAC) of elements in river sediments for the Republic of Serbia, while Hg concentration was above the MAC in all three observed rivers. Concentrations of Al, Ba, Cu, Fe, Mn, and Zn varied between seasons in the Zapadna Morava and the Danube, with the highest values during the summer season. Concentrations of Al, As, Fe, Mn, and Zn varied between seasons in the Južna Morava, with the lowest values during the summer season. Highest

percentage of fine sediment particles was observed in the Zapadna Morava, while the highest percentage of sand was observed in the Južna Morava sediment. SEM-EDS analysis of the Zapadna Morava sediment pointed to the presence of anthropogenic source of the higher Cu concentration in this river compared to the other two rivers. Barbel collected from the Zapadna Morava River had higher concentrations of Cu and Ni in the liver and intestine, and Zn in the muscle tissue, which corresponded with the concentrations of these elements in the sediment. SEM-EDS tissue analysis of barbel specimens from the Danube River pointed to possible anthropogenic activities causing pollution in this river. Barbel intestinal parasite *P. laevis* had high concentrations of Cu, Zn, and Pb, and in this case SEM-EDS analysis confirmed possible anthropogenic sources of contamination. Histological analysis of barbel liver and gills collected from the Danube and the Južna Morava indicated statistically significant tissue alterations in fish collected from the Južna Morava River, most probably as a result of a high organic contamination of this river.

Key words: total and available metals, sediment, the Danube, the Zapadna Morava, the Južna Morava, common barbel, muscle, liver, gills, intestine, intestinal parasites

Scientific field: Ecology

Specific scientific field: Fish Ecology, Ecotoxicology

UDK: [546.3/.303:[502:546.212]]:[575.854+597.551.2](043.3)

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1 Metali u životnoj sredini.....	1
1.2 Metali u sedimentima akvatičnih ekosistema.....	3
1.2.1 Aluminijum (Al).....	3
1.2.2 Arsen (As)	4
1.2.3 Kobalt (Co).....	5
1.2.4 Hrom (Cr)	5
1.2.5 Bakar (Cu)	6
1.2.6 Gvožđe (Fe).....	7
1.2.7 Živa (Hg)	7
1.2.8 Molibden (Mo)	8
1.2.9 Nikl (Ni)	9
1.2.10 Olovo (Pb)	10
1.2.11 Stroncijum (Sr).....	10
1.2.12 Cink (Zn)	11
1.2.13 Selen (Se)	12
1.2.14 Bor (B).....	12
1.2.15 Barijum (Ba).....	12
1.3 Ekologija mreke (<i>Barbus barbus</i>)	14
1.3.1 Paraziti mreke.....	22
1.3.2 Uticaj zagađenja vodenih ekosistema na preživljavanje mreke	23
1.4 Bioindikator zagađenja akvatičnih ekosistema	24
1.4.1 Ribe kao indikatori zagađenja životne sredine.....	25
1.4.2 Akumulacija toksičnih materija u tkivima riba	27

1.4.3	Primena histoloških metoda kod riba kao bioindikatora zagađenja	28
2.	CILJEVI ISTRAŽIVANJA	30
3.	MATERIJAL I METODE	31
3.1	Područje istraživanja	31
3.2	Sakupljanje uzoraka površinskog rečnog sedimenta	34
3.3	Određivanje veličine čestica površinskog rečnog sedimenta	34
3.4	Određivanje ukupne i dostupne koncentracije elemenata u površinskom rečnom sedimentu	35
3.5	Uzorkovanje rečne mreže	35
3.6	Sakupljanje intestinalnih parazita mreže <i>Pomphorhynchus laevis</i>	35
3.7	Priprema uzoraka i analiza sadržaja elemenata u sedimentu, tkivu riba i parazita pomoću optičke emisije spektrometrije sa indukovano spregnutom plazmom	36
3.8	Analiza sedimenta, tkiva riba i parazita pomoću skenirajuće elektronske mikroskopije sa energo-disperzivnom spektroskopijom (SEM-EDS)	37
3.9	Histološka analiza tkiva mreže	37
4.	REZULTATI	40
4.1	Granulometrijska analiza čestica sedimenta	40
4.2	Ukupna koncentracija elemenata u površinskim rečnim sedimentima	41
4.3	Dostupna frakcija elemenata u sedimentu	47
4.4.	Koncentracija elemenata u tkivima mreže	50
4.4.	Koncentracija elemenata u intestinalnom parazitu mreže <i>P. laevis</i>	54
4.5	SEM-EDS analiza čestica sedimenta	57
4.6	SEM-EDS analiza škrge mreže iz Dunava	59
4.7	SEM-EDS analiza creva mreže iz Dunava	60
4.8	SEM-EDS analiza crevnog sadržaja mreže iz Dunava	62
4.9	SEM-EDS analiza intestinalnog parazita <i>P. laevis</i> mreže iz Dunava	64

4.10 SEM-EDS analiza creva intestinalnog parazita <i>P. laevis</i> mrene iz Dunava.....	66
4.11 Histološka analiza škrge i jetre mrene iz Dunava i Južne Morave.....	68
5. DISKUSIJA	74
5.1 Koncentracija elemenata u sedimentu i sezonske promene	74
5.2 Koncentracija elemenata u organima mrene	77
5.3. Analiza elemenata u crevnom parazitu mrene <i>P. laevis</i>	80
5.4. Histopatološke promene u škragama i jetri mrene	81
6. ZAKLJUČCI	85
7. LITERATURA	88

1. UVOD

1.1 Metali u životnoj sredini

Od 94 prirodna hemijska elementa, 70 su metali, najčešće definisani kao dobri provodnici elektriciteta i toplote, koji formiraju katjone gubitkom elektrona, i grade okside i hidrokside. Selen i arsen predstavljaju metaloide, koji dele neke karakteristike sa metalima, a neke sa nemetalima. Termini teški i laki metali koji su se ranije koristili u literaturi, danas su prevaziđeni (Duffus 2002; Hodson 2004). Nieboer i Richardson (1980) su predložili sledeću klasifikaciju metala: metali klase A (Na, Mg, K, Ca, Rb, Li, U, Al) koji se jonskim vezama spajaju sa donorima kiseonika, klase B (Ag, Hg, Pb, Cu) koji se kovalentno vezuju za donore sumpora, i prelazna klasa metala (Co, Cd, Cr, Ni, Fe, Zn).

Metali se ne razgrađuju, već ostaju deponovani u prirodnoj sredini nakon prerade njihovih ruda, utičući na sve vrste u ekosistemu (Fernandes *et al.* 2007; Abdel-Baki *et al.* 2011). Iz navedenih razloga metali su često okarakterisani kao "dugotrajne hemijske bombe" (Stigliani 1993). Biokoncentracija i biomagnifikacija metala u vodenim organizmima dovodi do dugotrajnog ugrožavanja stanja samih ekosistema i zdravlja ljudi (Snodgrass *et al.* 2008; Besser *et al.* 2009; Suthar *et al.* 2009). Biokoncentracija je termin koji označava koliko je koncentracija određenog elementa veća u organizmu u odnosu na koncentraciju tog elementa u životnoj sredini (McGeer *et al.* 2003), dok biomagnifikacija predstavlja povećanje koncentracije određenog elementa u organizmima viših trofičkih nivoa u odnosu na koncentraciju tog elementa u organizmima nižih trofičkih nivoa.

Postoje dva glavna načina na koji metali dospevaju do vodenih ekosistema: prirodno (erozijom, spiranjem zemljišta, vulkanskom aktivnošću i depozicijom meteorita) (Rauch i Graedel 2007; Rauch i Pacyna 2009) i kao posledica ljudskih aktivnosti koje su kombinacija urbanih, industrijskih i poljoprivrednih aktivnosti, spiranja kišnice i odlaganja kanalizacionih voda (Schueler 2000; Çevik *et al.* 2009).

Najčešće metali u sedimente vodotokova dospevaju iz rudnika i industrijskih postrojenja koji se nalaze u njihovoj blizini i predstavljaju kritične tačke zagađenja (Ridgway *et al.* 2003; Sundaray *et al.* 2011; Buccolieri *et al.* 2006). Ovi izvori zagađenja definišu se kao tačkasti izvori zagađenja jer je identifikovan lokalitet odakle dolazi do povećanog ispuštanja metala u ekosisteme. Od industrijskih grana, za zagađenje ekosistema metalima najbitnije su industrija prerade papira, metalna i metalo-prerađivačka, tekstilna i prehrambena. U tačkaste izvore zagađenja spadaju još i postrojenja za preradu otpadnih voda, odvodni kanali za kišnicu u naseljenim mestima ako nisu održavani i čišćeni, i odlaganje kontaminiranog zemljišta (Ritter *et al.* 2002). Difuzni izvori zagađenja predstavljaju neidentifikovane izvore zagađenja ekosistema metalima i obično zauzimaju velike površine. U ovu grupu spadaju poljoprivredne aktivnosti i otpadne vode, spiranje zagađenja sa prometnih saobraćajnica, šumarstvo i atmosfersko taloženje (Ritter *et al.* 2002).

U poslednjih nekoliko decenija ispuštanje metala u akvatične ekosisteme smanjeno je u razvijenim zemljama (Voet *et al.* 2000; Hjortenkrans *et al.* 2006). Međutim, u zemljama u razvoju, zagađenje akvatičnih ekosistema metalima je u porastu usled ubrzane industrijalizacije i urbanizacije (Govil *et al.* 2008; Wu *et al.* 2011). Zemlje u razvoju (Egipat, Alžir, Kina i Kolumbija, itd.) nisu postigle gotovo nikakav napredak po pitanju zaštite životne sredine i pored značajnih finansijskih ulaganja (Abdel-Dayem *et al.* 2007; GWI 2010). U Republici Srbiji se redovno prati kvalitet vode na velikom broju mernih stanica na svim značajnijim rekama. Međutim, po pitanju kvaliteta sedimenta u odnosu na zagađenje metalima, istraživanja u Republici Srbiji zaostaju za ostalim zemljama Evrope, jer nisu vršena redovno, a i podataka ima jako malo. Od značajnih studija o kvalitetu rečnog sedimenta u Republici Srbiji treba izdvojiti radove Milenkovića i saradnika (2005), Voitke i saradnika (2003), koji su delimično pokrili problematiku zagađenja sedimenta metalima na delu Dunava koji protiče kroz Republiku Srbiju. Prema našim saznanjima, do sada nisu praćene sezonske promene i kvalitet sedimenta po pitanju zagađenja metalima na Zapadnoj i Južnoj Moravi.

1.2 Metali u sedimentima akvatičnih ekosistema

Ukupna koncentracija metala u sedimentu obuhvata stvarne i potencijalne frakcije koje se mogu rastvoriti (osloboditi) iz matriksa sedimenta u vodenu kolonu (Kim *et al.* 2015). Dostupna frakcija praktično obuhvata koncentracije i hemijski oblik metala koje organizam može da usvoji tokom životnog ciklusa (Warrington i Skogley 1997; Kim *et al.* 2015). Dostupnost elemenata kontrolisana je kompleksnim procesima kao što su adsorpcija/desorpcija, kompleksacija/disocijacija, precipitacija/rastvorljivost ili jako spora difuzija u unutrašnjost minerala i oksida gline (Kim *et al.* 2015).

Specijacija metala u akvatičnim sedimentima zavisi od geološkog porekla, koncentracije helirajućih/kompleksujućih agensa, pH, i a kapaciteta sedimenta za razmenu jona (Luoma 1983). Metali u sedimentima akvatičnih ekosistema mogu biti imobilisani procesima flokulacije, adsorpcije i koprecipitacije (Caccia *et al.* 2003). Sedimenti akvatičnih ekosistema metale mogu ili vezivati ili otpustiti u vodenu kolonu različitim procesima remobilizacije (Pekey 2006).

Određivanje koncentracije metala u sedimentu značajno je za identifikaciju antropogenih izvora zagađenja (Bidhendi *et al.* 2007). Brojne studije su pokazale da koncentracije metala u sedimentima mogu biti precizan indikator zagađenja vodenih ekosistema (Bellucci *et al.* 2002). U daljem delu teksta dat je kratak osvrt na elemente koji su obuhvaćeni ovim istraživanjem, način dospevanja u akvatične ekosisteme, specijaciju u slatkim vodama, način unosa u organizam riba, kao i na posledice koje njihove povećane koncentracije izazivaju kod riba.

1.2.1 Aluminiјum (Al)

Aluminiјum ne poseduje definisanu biološku funkciju, ali može biti jako toksičan kada je rastvoren pri niskim (<6) i visokim pH vrednostima vode (>8), i može imati ključnu ulogu u masovnom pomoru riba usled acidifikacije slatkovodnih ekosistema (Gensemer i Playle 1999; Wauer i Teien 2010). Na rastvorljivost Al utiče i temperatura, i u prisustvu odgovarajućih kompleksirajućih liganda pad temperature od 15°C ima isti efekat kao acidifikacija reda veličine 1 pH (Lydersen 1990). Al u ribe dospeva preko škrga, izaziva inflamaciju i utiče na porast mukoze u škrgama (Oughton *et al.* 1992), smanjujući efikasnu respiratornu površinu. Kao posledica ovih promena

javljaju se poremećaji u kardio-vaskularnoj funkciji, poremećaji kretanja poput hipoaktivnosti, smanjenje brzine kretanja i povećanje stacionarnog vremena, smanjenje apetita za 50-90% od uobičajenog nivoa ishrane (Allin i Wilson 2000; Brodeur *et al.* 2001), rasta (Vuorinen *et al.* 2003) i reproduktivnog uspeha (Tierney *et al.* 2010).

Postoje dva osnovna načina kojima Al iz antropogenih izvora dospeva u vodene ekosisteme: indirektno – rastvaranjem i otpuštanjem Al iz zemljišta i stena, izazvano acidifikacijom vodenih ekosistema usled antropogenih aktivnosti; direktno – ljudskim unosom aluminijumovih soli u slatke i slane vode radi smanjenja cvetanja algi ili regulisanja stepena zamućenja vode (Wood *et al.* 2012)

U prirodnim uslovima Al ima samo jedno valentno stanje, +3, i najčešće je u formi gibsit, kristalnoj formi aluminijum hidroksida.

1.2.2 Arsen (As)

Arsen je umereno toksičan neesencijalni element, sa do sada nepoznatim nutritivnim i funkcijama (Wood *et al.* 2012). Hemijska forma As u površinskim vodama zavisi od redoks potencijala, pH i bioloških procesa (Ahuja 2008). Koncentracije As više variraju u slatkovodnim u odnosu na estuarske i morske ekosisteme. Povećane koncentracije As u slatkim vodama nemaju toksične efekte na ribe. Visoke koncentracije As u slatkovodnim ekosistemima povezane su uglavnom sa rudarstvom (Mandal i Suzuki 2002), proizvodnjom herbicida i sagorevanjem fosilnih goriva. As je daleko manje toksičan po ribe u poređenju sa većinom metala, a juvenilni stadijumi riba osetljiviji su na neorganski As u odnosu na odrasle jedinke (Buhl i Hamilton 1990; 1991). Hronična izloženost riba arsenu može dovesti do smanjenja rasta (Rankin i Dixon 1994), smanjenja apetita (McGeachy i Dixon 1990) i poremećaja rada hemoreceptora (Pedlar i Klaverkamp 2002). Povećane koncentracije As mogu dovesti do smanjenja reproduktivnog uspeha kod riba što se ogleda u smanjenom broju položenih jaja (Boyle *et al.* 2008), smanjenoj plodnosti mužjaka (Yamaguchi *et al.* 2007), kao i smanjenju memorijskih sposobnosti riba (De Castro *et al.* 2009).

1.2.3 Kobalt (Co)

Kobalt je esencijalni element za ribe (Watanabe *et al.* 1997). Njegova osnovna uloga je u sintezi vitamina B₁₂ (Kashiwada *et al.* 1970), koji ribe ne mogu da sintetišu već su zavisni od bakterijske produkcije ovog vitamina i unosa Co preko izvora hrane (Limsuwan i Lovell 1981; Wood *et al.* 2012). U vodi Co formira razna organska i neorganska jedinjenja, vezuje se za čestice i taloži u sedimentu (Hamilton 1994). Istraživanja uticaja Co na ribe uključivala su ispitivanje mortaliteta, metabolizma, uticaj na epitel škrga, jonsku regulaciju, hematologiju, hipoksiju i stres (Hertz *et al.* 1989; Montgomery *et al.* 1997; Marr *et al.* 1998; Janssen 2000; Majmudar i Burleson 2006). Co ribe unose preko škrga i creva. Preko škrga Co dospeva u unutrašnje organe riba i najčešće se deponuje u visceralnim organima i bubrezima, a najmanje u mišićima (Baudin *et al.* 1997). Unos Co preko izvora hrane kod riba ima pozitivan efekat na krvnu sliku, rast i preživljavanje (Hossein *et al.* 2008).

1.2.4 Hrom (Cr)

Hrom se u akvatičnim ekosistemima najčešće nalazi u obliku oksoaniona hromata (CrO₄²⁻), a njegova koncentracija u ovim sistemima zavisi od antropogenih aktivnosti (Steven *et al.* 1976). Ovaj metal ima relativno malu toksičnost u poređenju sa ostalim metalima. Cr je kod riba uključen u metabolizam masti i glukoze (Wood *et al.* 2012). Cr se koristi najviše u metalurškoj industriji, petrohemijskoj industriji i automobilskoj industriji (Nriagu 1988). Još uvek nije uočen specifični toksični mehanizam za Cr kod riba, ali su uočene iritacije na škrgama, promene krvne slike, histološke promene i inhibicija određenih enzima (Al-Kahem 1995; Van der Putte *et al.* 1981a; Kuhnert i Kuhnert 1976). Koncentracija Cr u krvi riba nikad nije veća od koncentracije Cr u spoljašnjoj sredini (Van der Putte 1981b), zapravo je značajno manja, što ukazuje na pasivni unos Cr preko škrga riba. Ribe najčešće unose Cr preko creva (Knoll i Fromm, 1960), dok isti autori smatraju da se Cr ne unosi preko kože zahvaljujući mukozi kojom je ona prekrivena (Arillo i Melodia 1990). Glavni organi deponovanja Cr kod riba jesu škrge (Mishra i Hohanty 2009; Palaniappan i Karthikeyan 2009), jetra (Palaniappan i Karthikeyan 2009) i bubrezi (Palaniappan i Karthikeyan

2009). Cr se može deponovati i u mišićnom tkivu (Palaniappan i Karthikeyan 2009), digestivnom traktu (Van der Putte 1981b) i žuči (Svecevicus 2007).

1.2.5 Bakar (Cu)

Bakar je esencijalni element svih aerobnih organizama i uključen je u strukturu brojnih enzima, uključujući mitohondrijalnu citohrom c oksidazu (Solomon i Lowery 1993). Kao redoks aktivni metal, Cu može dovesti do formiranja reaktivnih kiseoničnih vrsta (ROS) ukoliko se u ćelijama nalazi u povećanoj koncentraciji (Wood *et al.* 2012). Pored toga, u povećanim koncentracijama Cu se vezuje za histidinske, cistidinske i metioninske receptore na proteinima i inhibira njihovu aktivnost (Harris i Gitlin 1996). Ribe unose Cu preko hrane i preko škruga (Miller *et al.* 1993; Kamunde *etal.* 2002). Između ova dva tipa unosa postoji određeni balans u zavisnosti od koncentracije Cu u izvoru hrane ili u vodi (Kamunde *et al.* 2002). Pored rudarske industrije, izvori povećane koncentracije Cu u akvatičnim ekosistemima mogu biti kožno-prerađivačka industrija, industrija obrade metalnih proizvoda i proizvodnja električnih uređaja (Patterson *et al.* 1998). Dodatni izvor zagađenja akvatičnih ekosistema bakrom jesu sagorevanje fosilnih goriva, komunalne otpadne vode i upotreba đubriva u poljoprivredi. U normalnom režimu ishrane i normalnim uslovima spoljašnje sredine, unos Cu preko škruga iznosi oko 10% potrebne količine Cu za normalno funkcionisanje organizma. Međutim, u slučaju poremećenog unosa hrane, preko škruga se unosi oko 60% neophodne količine Cu. U slučaju povećanog unosa Cu ishranom, procenat unosa Cu preko škruga pada na 1% (Kamunde *et al.* 2002). U ribama se najveći deo unesenog Cu deponuje u jetri (25-60% ukupnog Cu u telu ribe) (Kamunde i Wood 2003), što ukazuje na ulogu jetre u efikasnom prečišćavanju krvne plazme (Grosell *et al.* 2001). Povećane koncentracije Cu u akvatičnim ekosistemima mogu uticati na brojne promene kod riba, uključujući smanjenje reproduktivnog uspeha (Horning i Neiheisel 1979), smanjenje osetljivosti olfaktornih organa – naročito u ranim razvojnim stadijumima riba (Carreau i Pyle 2005), pad imunog sistema (Mushiake *et al.* 1984), usporeno razviće jedinki (Besser *et al.* 2007), i povećan mortalitet (Horning i Neiheisel 1979).

1.2.6 Gvožđe (Fe)

Fe predstavlja esencijalni element živih organizama uključen u brojne procese kao što su transport kiseonika i sinteza DNK molekula (Wood *et al.* 2012). U vodi može postojati u mnogim oksidativnim stanjima, ali je u vodama bogatim kiseonikom i na neutralnom pH najčešće u obliku termodinamično stabilnog Fe(III) jona (Emmenegger *et al.* 2001). Najveći deo ovih jona formira Fe okside koji su nerastvorljivi i nedostupni za žive organizme (Cooper i Bury 2007). Fe oksidi se talože u sedimentima jezera i okeana gde redoks uslovi subpovršinske zone favorizuju Fe(III) u odnosu na Fe(II) jedinjenja. Fe ima veliku primenu u proizvodnji čelika, a od značaja je i za transportnu i građevinsku industriju. U poslednje vreme istaknuta je mogućnost primene multivalentnog jona FeO za remedijaciju zagađenih voda (Zhang 2003), naročito otpadnih voda zagađenih organskim polutantima, ostalim metalima, kao i fosfatima i nitratima koji u vodu dospevaju spiranjem površinskog sloja poljoprivrednog zemljišta (Geng *et al.* 2009). Gvožđe se akumulira preko škrga kod riba, te može dovesti do poteškoća u disanju (Grobler *et al.* 1989), kraha respiratornog sistema depozicijom na škrgama (Dalzell i MacFarlane 1999), fuzije škržnih lamela i hipertrofije epitela (Peuranen *et al.* 1994). Povećane koncentracije Fe u vodi mogu dovesti i do smanjenog reproduktivnog uspeha izazvanim očvršćavanjem ljuske položenih jaja riba i otežavanjem izleganja (Mizuno *et al.* 2004).

1.2.7 Živa (Hg)

Posledice antropogene upotrebe Hg u svakodnevnim aktivnostima vidljive su na lokalnom i globalnom nivou (Wood *et al.* 2012). Hg se u akvatičnim ekosistemima nalazi u dve forme, neorganskoj kao Hg^{2+} i organskoj kao CH_3Hg^+ (metil-živa). Zagađenje akvatičnih ekosistema živom može uzorkovati brojne promene kod riba kao što su poremećaj rasta, razvića i reprodukcije. Metil-živa ima uticaja i na zdravlje ljudi, kroz upotrebu ribljih produkata u ishrani. Obe forme u kojima se Hg nalazi u akvatičnim ekosistemima slabo su rastvorljive, međutim, kada su kompleksirane sa organskom materijom i neorganskim supstancama, njihova rastvorljivost raste. U površinske vode Hg dospeva kombinacijom antropogenih aktivnosti i prirodnim putem. Antropogene aktivnosti najčešće uključuju rudarsku i metalo-prerađivačku industriju,

sagorevanje fosilnog goriva, sagorevanje otpada i proizvodnju cementa (Pacyna *et al.* 2010). Spiranje zemljišta i stena, vulkanske erupcije, oslobađanje geotermalne energije i šumski požari predstavljaju prirodne puteve kojim Hg dospeva u akvatične ekosisteme (Rytuba 2003). Toksičnost kod prirodnih populacija riba izazvana živom najčešće je izazvana unosom hrane, kada dolazi do biomagnifikacije Hg kroz lanac ishrane, a akumulacija je najveća kod piscivornih riba (Wiener *et al.* 2003). Pri većim koncentracijama neorganska Hg u akvatičnim ekosistemima dovodi do dezorijentacije, neaktivnosti, respiratornih poremećaja i smrti riba (Wobeser 1975a). Izlaganje povećanim koncentracijama neorganske Hg dovodi i do promene na tkivima, povećava se količina mukoze na koži i škragama riba (Wobeser 1975a), dok su uočeni i hemoragija, hiperplazija i nekroza škruga (Giari *et al.* 2008). Promene na tkivima uključuju i nekrozu moždanog tkiva, kongestiju krvnih sudova i poremećaje u bubrežnim kanalićima i hepatocitima (Krishnani *et al.* 2003). Histološke promene na crevu uključuju degeneraciju vila, vakuolizaciju i apoptozu ćelija crevnog epitela (Bano i Hasan 1990; Banerjee i Bhattacharya 1995). Neorganska Hg utiče i na normalno funkcionisanje senzornih organa riba, smanjujući verovatnoću za pronalaženje plena i izbegavanje predatora, kao i smanjenje reproduktivnog uspeha (Tierney *et al.* 2010). Poremećaji kod riba izazvani metil-živom slični su onima izazvanim Hg^{2+} sa par izuzetaka, jer metil-živa brže prolazi krvno-moždanu barijeru i brže izaziva promene u ponašanju riba (Bertnssen *et al.* 2004), pa ribe brže dospevaju u stanje letargije i smanjene aktivnosti. Na škragama riba izloženim većim koncentracijama metil-žive uočene su promene poput hiperplazije, nekroze, vakuolizacije, razdvajanja ćelija epitela od lamela i nekroze mukoznih ćelija (Liao *et al.* 2007; Wobeser 1975b), međutim ne uočava se porast produkcije mukoze na škragama kao kod izlaganja riba povećanim koncentracijama Hg^{2+} (Wobeser 1975b). Na jetri su uočene promene u jedrima hepatocita poput porasta heterohromatina, nekroze, porasta vezivnog tkiva i povećanja broja fagocita (Ribeiro *et al.* 2002).

1.2.8 Molibden (Mo)

U akvatičnim ekosistemima Mo se nalazi najčešće u formi oksoaniona molibdata (MoO_4^{2-}), a porast njegove koncentracije u ovim ekosistemima javlja se kao posledica antropogene aktivnosti (Wood *et al.* 2012). Uključen je u metabolizam purina.

Transportuje se preko škruga nepoznatim mehanizmom i najčešće se deponuje u jetri. U akvatične ekosisteme dospeva iz rudnika (Phillips i Russo 1978), sagorevanjem fosilnih goriva (Goyer 1986), preradom nafte (Eisler 1989), spiranjem đubriva (McNeely *et al.* 1979), iz industrije radio aparata i delova za komponente uređaja koji koriste X-zrake (Stokinger 1981). Prirodno Mo u akvatične ekosisteme dospeva spiranjem vode sa ruda i sedimentnih stena (CCME 1999). Od histoloških promena na tkivima riba izazvanim povećanom koncentracijom Mo primećeni su fuzionisanje lamela škruga, hemoragija creva, jetre i bubrega, i bleđa boja jetre (McConnell 1977). Smatra se da toksičnost Mo zavisi od parametara sličnih onimakoji određuju toksičnost Ni i Al, tj. od pH vode i koncentracije Ca, i na sličan način stimuliše stvaranje mukoze na škrugama i koži riba (Reid 2002).

1.2.9 Nikl (Ni)

Koncentracija Ni u akvatičnim ekosistemima raste kao posledica industrijskih i urbanih aktivnosti (Wood *et al.* 2012). Na neutralnom pH u većini akvatičnih ekosistema Ni je najčešće prisutan u obliku Ni^{2+} (Nriagu 1980). U prirodnim slatkovodnim ekosistemima 99,9% rastvorenog Ni vezano je za organske komplekse (Xue *et al.* 2001), a ti kompleksi mogu biti manje ili više stabilni u zavisnosti od faktora kao što su pH, prisustvo ostalih metala, ili prisustvo katjona poput Ca^{2+} ili Mg^{2+} (Hassan *et al.* 2008). U akvatične ekosisteme Ni dospeva na dva načina, prirodno, spiranjem zemljišta i geohemijskim procesima (Schaumloffel 2005) i preko antropogenih aktivnosti, taloženjem iz atmosfere, spiranjem zemljišta u blizini industrijskih i urbanih zona, kao i preko otpadnih voda (Schaumloffel 2005). Povećane koncentracije Ni u akvatičnim ekosistemima mogu uticati na smanjenje reproduktivnog uspeha riba (Scheil i Köhler 2009), a uzorkuju i morfološke i histopatološke promene na tkivima poput smanjenja difuzionog kapaciteta škruga (Hughes *et al.* 1979), hipertrofiju respiratornih i mukoznih ćelija, izdizanje epitela škruga, lamelarnu hiperplaziju, fuziju lamela, nekrozu ćelija i povećan broj piknotičnih ćelija (Nath i Kumar 1989). Osim na škrugama, morfološke i histopatološke promene (degeneracija epitela i povećanje nekroze ćelija) primećene su i na jetri, crevu i bubrezima (Athikesavan *et al.* 2006). Kod riba, Ni se deponuje u kostima, škrugama i bubrezima, jetri, mozgu, srcu, gonadama, crevu, koži i krljuštima (Sreedevi *et al.* 1992; Canli i Kargin 1995; Ptashynski *et al.* 2001, 2002;

Ptashynski i Klaverkamp 2002), ali se najviše deponuje u krvnoj plazmi (Pane *etal.* 2004).

1.2.10 Olovo (Pb)

U prirodnim akvatičnim ekosistemima pri neutralnom ili blago povišenom pH, Pb je kompleksirano u obliku slabo rastvorljivih neorganskih soli, dok su u uslovima snižene vrednosti pH vode soli olova rastvorljive (Wood *et al.* 2012). Najveću toksičnost u akvatičnim ekosistemima ima Pb^{2+} . Pb dospeva u akvatične ekosisteme raznim vodenim, kopnenim i atmosferskim rutama, prirodnim i antropogenim putem, a najznačajniji izvor jeste sagorevanje fosilnih goriva (Renberg *etal.* 2000). Metaloprerađivačka industrija, spiranje vode iz urbanih naselja i otpadne vode takođe predstavljaju izvore Pb u akvatičnim ekosistemima (Nriagu i Pacyna 1988). Erupcije vulkana i šumski požari predstavljaju najznačajnije prirodne izvore Pb u akvatičnim ekosistemima (Nriagu i Pacyna 1988). Poligoni za testiranje vatrenog oružja mogu predstavljati jako bitne lokalne izvore zagađenja olovom (Vantelon *et al.* 2005). Izlaganje riba povećanim koncentracijama Pb u akvatičnim ekosistemima može dovesti do skolioze kičmenog stuba (Hodson *et al.* 1978) i ta promena kod riba može se smatrati bioindikatorskom pojavom povećanog zagađenja olovom ovih ekosistema (Holcombe *et al.* 1976). Ostali efekti povećane koncentracije Pb uključuju hiperaktivnost, mišićnu atrofiju, hemoragiju u osnovi peraja i paralizu (Davies *et al.* 1976; Holcombe *et al.* 1976). Kombinacija ovih poremećaja dovodi do smanjenja mobilnosti i samim tim i do smanjenja reproduktivnog uspeha riba izloženih povećanim koncentracijama Pb (Holcombe *et al.* 1976). Najvažnija tkiva u kojima se deponuje Pb kod riba jesu bubrezi, škrge i crevo, mada može doći i do određenih odstupanja u zavisnosti od razvojnog stadijuma, kvaliteta vode i koncentracije Pb (Holcombe *et al.* 1976).

1.2.11 Stroncijum (Sr)

Sr se slabo vezuje za čestice u akvatičnim ekosistemima i neprekidno se transportuje između vode i sedimenta, unutar sedimenta i kroz reke u estuare (Wood *et al.* 2012). Tokom vremena sediment može postati skladište Sr i polako ga otpuštati u vodeni stub u kome ulazi u lanac ishrane (Brown 2000; Sanada *et al.* 2002). U

slatkovodnim ekosistemima Sr se nalazi kao slobodni jon metala (95%), a retko se može pronaći i u kompleksima sa sulfatima i karbonatima (5%). Stroncijum se u prirodi najčešće nalazi u formi celestita (SrSO_4) i stroncijanita (SrCO_3), a najčešći izotop je ^{88}Sr (Lide 1998). Nuklearne centrale, njihove otpadne vode i prerada radioaktivnog goriva predstavljaju najvažnije antropogene izvore Sr u prirodnoj sredini (Hu *et al.* 2010). Kao posledica izlaganja riba povećanoj koncentraciji Sr u akvatičnim ekosistemima, uočena je degeneracija skeletnog sistema (Moiseenko i Kudryavtseva 2001). Kod riba se Sr deponuje u kostima (95%), a samo 5% u mekim tkivima (Yankovich 2009). Glavni unos Sr u organizam riba je preko škruga, dok se daleko manje unosi preko hrane i digestivnog sistema (Chowdhury 2001).

1.2.12 Cink (Zn)

Zn je esencijalni element svih organizmima i drugi je najzastupljeniji element posle Fe kod svih kičmenjaka (Vallee 1986). Ovaj element je uključen u brojne biološke procese: metabolizam proteina, nukleinskih kiselina, lipida, utiče na normalno funkcionisanje imunog sistema, neurotransmisiju i ćelijsku signalizaciju (Murakami i Hirano 2008). Toksičnost Zn je niska ukoliko se unosi preko hrane (Clearwater *et al.* 2002), dok je toksičnost Zn koji se unosi preko škruga znatno veća (McDonald i Wood 1993). Specijacija Zn u vodi zavisi od pH vrednosti i količine rastvorene organske materije (Jansen *et al.* 1998). U odsustvu rastvorene organske materije i pri pH vode manjim od 8, Zn se najčešće javlja kao Zn^{2+} (Luoma i Rainbow 2008; Wood *et al.* 2012). Povećana koncentracija Zn u vodi obično je posledica rudarske industrije i metalo-prerađivačke industrije (Naito *et al.* 2010). Zn u akvatične ekosisteme dospeva korozijom galvanizovanih produkata (Naito *et al.* 2010), a ostali izvori Zn uključuju otpadne vode pogona za prečišćavanje kanalizacije, spiranje sa površine visoko frekventnih saobraćajnica i atmosfersko taloženje (Bodar *et al.* 2005). Spiranje sa poljoprivrednih površina i sedimentacija fekalija iz farmi riba takođe mogu predstavljati važne izvore Zn u akvatičnim ekosistemima (Dean *et al.* 2007; Naito *et al.* 2010). Histopatološke promene na škrugama riba izazvane povećanom koncentracijom Zn mogu biti hipertrofija, hiperplazija, infiltracija leukocita i izdizanje epitela (Mallatt 1985). Sve ove promene utiču na disanje i mogu dovesti do smrti jedinki usled gušenja. Kod riba, Zn se apsorbuje preko škruga i creva (Niyogietal. 2007). Najveće koncentracije Zn

nalaze se u očima riba (Eckhert 1983), mišićima, kostima i koži (Wicklund Glynn 1991).

1.2.13 Selen (Se)

U ekotoksikologiji akvatičnih ekosistema, Se se smatra jednim od najopasnijih elemenata po ribe pored Hg (Janz *et al.* 2010), zahvaljujući dostupnosti Se živim organizmima i njegovim lakim prenosom kroz lanac ishrane (Stewart *et al.* 2010). U slatkovodnim ekosistemima Se se može nalaziti u brojnim formama koje zavise od biogeochemijskih reakcija (Wood *et al.* 2012). Se u akvatične ekosisteme dospeva prirodnim putem i antropogenim aktivnostima. Prirodni procesi uključuju spiranje sa sedimentnih stena i naslaga uglja (Presser *et al.* 2004; Maher *et al.* 2010), vulkansku aktivnost i divlje požare (Nriagu 1989), a antropogene aktivnosti mogu ubrzati ove prirodne procese (Nriagu 1989). Antropogeni unos Se u akvatične ekosisteme uključuje rudarske aktivnosti i otpadne vode (Maher *et al.* 2010), preradu i sagorevanje rude i uglja (Nriagu i Wong 1983) i spiranje vode sa poljoprivrednog zemljišta (Bouwer 1989). Povećana koncentracija Se u akvatičnim ekosistemima najviše utiče na rane razvojne stadijume riba, što se negativno odražava na vijabilitet čitavih populacija (Janz *et al.* 2010). Se u ribe dospeva najčešće preko creva unosom hrane (Maher *et al.* 2010), a glavni organ u kome se deponuje Se jeste jetra (Sato *et al.* 1980) jer se u jetri vrši sinteza i katabolizam selenoproteina (Burk i Hill 2009).

1.2.14 Bor (B)

U prirodnim ekosistemima, B se nalazi u obliku borata, a može se nalaziti i u obliku borne kiseline i kao bor(III)-oksid. U akvatične ekosisteme može dospovati prirodnim putem, spiranjem sa stena i zemljišta, ili preko otpadnih voda industrije stakla, keramike, kao i preko upotrebe poljoprivrednih hemikalija.

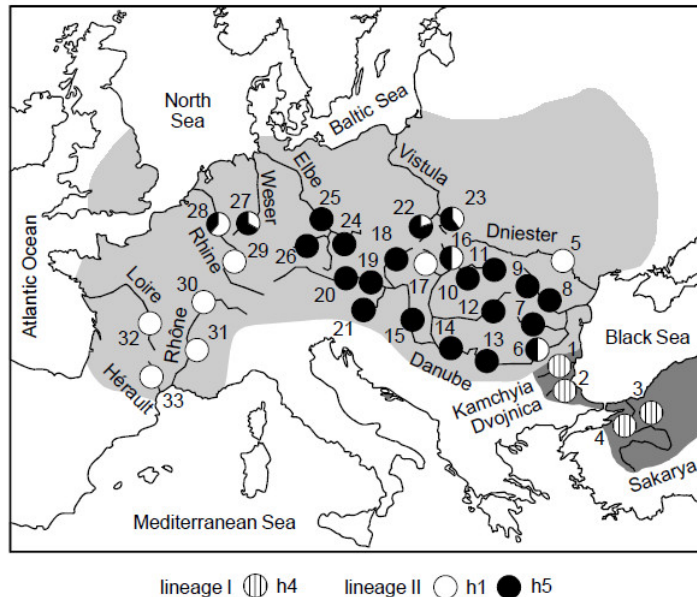
1.2.15 Barijum (Ba)

U prirodi, Ba se nalazi u raznim jedinjenjima, najčešće u čvrstom stanju, kao ruda barijum-sulfat i barijum-karbonat. Ova dva jedinjenja teško su rastvorljiva u vodi,

te je koncentracija Ba u akvatičnim ekosistemima najčešće niska. Ostala jedinjenja Ba, poput hlorida, nitrata i hidroksida, dobijaju se preradom barijum-sulfata. Barijum u akvatične ekosisteme može dospeti preko otpadnih voda naftne i gasne industrije, industrije keramike, boja, stakla i kožno-prerađivačke industrije (Nagajyoti *et al.* 2010).

1.3 Ekologija mreine (*Barbus barbuis*)

Rečna mreina, *Barbus barbuis* (Linnaeus, 1758), je reofilna i bentosna ciprinidna vrsta riebe koja se najčešće nalazi u srednjim tokovima reka (Huet 1949). Značajna je iz dva razloga: kao bioindikatorska vrsta kvaliteta akvatičnih ekosistema, i kao ciljna vrsta rekreativnim ribolovcima (Morina *et al.* 2016; Taylor *et al.* 2004). Međunarodna unija za zaštitu prirode mreinu svrstava u kategoriju najmanje ugroženih vrsta (IUCN 2013). Mreina je rasprostranjena širom Evrope (Kotlik i Berrebi 2001), međutim u određenim državama, poput Poljske (Penczak i Kruk 2000), Češke (Lusk 1996) i Švajcarske (Kirchhofer i Hefti 1996), mreina je ozbiljno ugrožena zbog zagađenja vodenih ekosistema, preteranog izlova, antropogene modulacije rečnih tokova i gubitka staništa. Mreina je u Srbiji klasifikovana kao vrsta u nižem stepenu opasnosti sa najmanjom brigom (LR/lc; low risk/least concern) (Simonović 2001).



Slika 1. Distribucija haplotipova mitohondrijalnog gena za citohrom *b* rečne mreine u slivovima Evrope. Tamno-sivi region predstavlja područje koje naseljava podvrsta *Barbus barbuis escherichi*, a u svetlo-sivi region podvrsta *Barbus barbuis barbuis* (Kotlik i Berrebi 2001).

Rasprostranjenost mrene na teritoriji Evrope analizirali su Kotlik i Berrebi (2001). Rečna mrena je nađena u sledećim slivovima: severno od Alpa i Pirineja, u slivovima Atlantika, Severnog mora i južnog Baltika, slivovima Dunava i Dnjepra, mediteranskim slivovima Francuske i jugoistočnim slivovima Engleske (Slika 1). Pored toga, isti autori uradili su i analizu mitohondrijalne DNK za kodiranje citohroma *b* i razdvojili 11 haplotipova (Tabela 1).

Haplotipovi su definisani koristeći 15 promenljivih nukleotidnih pozicija na 594 bp dugačkom mitohondrijalnom genu za citohrom *b* i potvrđeno je prisustvo dve različite linije. U prvoj je dominirao haplotip h4, dok su u drugoj najčešći haplotipovi bili h1 i h5, koji se među sobom razlikuju samo po jednoj nukleotidnoj bazi.

Tabela 1. Haplotipovi mitohondrijalnog gena za citohrom *b* kod mrene sa područja Evrope (Kotlik i Berrebi 2001).

Haplotip	Pozicija nukleotida														
	43	48	102	115	159	198	201	243	309	234	405	459	501	507	588
h1	A	C	T	C	G	T	C	C	C	C	A	A	A	A	T
h2								T							
h3					A						G				
h4			C			C	T				G	G			C
h5														G	
h6				T										G	
h7														G	
h8									T					G	
h9										T				G	
h10			T											G	
h11	T	T												G	

Zbog sportskog ribolova mrena je introdukovana u vodotoke severne i srednje Italije, kao i u vodotoke Velsa (Wheeler i Jordan 1990).

Istraživanja životnog ciklusa mrene do sada su rađena na rekama Ourthe (Baras i Cherry, 1990) i Meuse u Belgiji (DeVocht i Baras 2005), Jihlava u Češkoj (Penaz *et al.* 2005), Severn (Hunt i Jones 1974), Lee (Copp *et al.* 2002), Nidd (Lucas i Batley 1996) i Great Ouse (Copp 1996) (sve na teritoriji Engleske), kao i Rhone, u Francuskoj (Penaz *et al.* 1992). Po pitanju zagađenja vodenih sistema metalima, mrena je korišćena kao bioindikatorska vrsta na više lokaliteta na reci Dunav u Srbiji (Sunjog *et al.* 2012;

Rašković *et al.* 2014) i u Bugarskoj (Nachev *et al.* 2013), i na reci Nitra u Slovačkoj (Andreji *et al.* 2005).

Telo mrene je izduženo, pomalo bočno spljošteno, a kod krupnijih primeraka i visoko (Slika 2). Srebrnaste je boje sa zelenkastim leđima. Peraja su sivkasta, analna i trbušna crvenkasta. Dužina glave iznosi 25–28.5% standardne dužine tela. Prednji i zadnji par brkova su jednake dužine, dok je gornja usna veća od donje, verovatno prilagođena boljem pronalaženju hrane. Leđno peraje napred počinje snažnom, nazubljenom, tvrdom žbicom. Odrasli primerci mrene obično variraju u dužini između 50 i 100 cm, težina može biti od 1 do 3 kg, mada se mogu pronaći i primerci sa dužinom preko 1.2 m i težinom oko 8 kg (Simonović 2001).



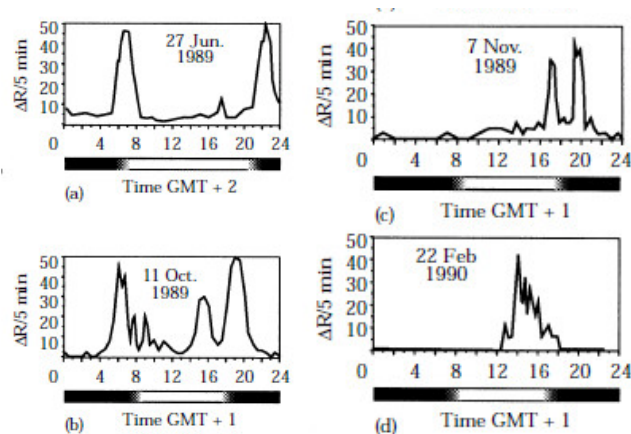
Slika 2. Izgled mrene (www.naturephoto-cz.com).

U pogledu ishrane, mrenu možemo okarakterisati kao bentofagnog omnivora. Delovi reka koji se odlikuju manjom brzinom protoka vode obezbeđuju energetske potrebe mrene, jer pružaju ishranu u vidu algi i larvi insekata za mrenu starosti 0+ (Bischoff i Freyhoff 1999). Sa porastom telesne mase, raste i raznovrsnost ishrane mrene, pa se tako adulti hrane organizmima makrozoobentosa (Gammaridae, Bivalvia, Gastropoda i Oligochaeta). Na dva lokaliteta reke Dunav u Srbiji (Đikanović *et al.* 2015) rađena je analiza crevnog sadržaja mrene koja je potvrdila raznovrsnost u ishrani. Dominantni izvor hrane bili su organizmi iz familije Gammaridae (najčešće *Dikerogammarus villosus*) (Tabela 2).

Tabela 2. Fauna dna i njen ukupan udeo u crevnom sadržaju mrene sa dva lokaliteta na reci Dunav, na teritoriji Beograda, Srbija (Đikanović *et al.* 2015).

Lokalitet	Zemun		Višnjica	
Grupa	Fauna dna (%)	Sadržaj creva (%)	Fauna dna (%)	Sadržaj creva (%)
Gammaridae	1.4	31.43	16.22	46.73
Gastropoda	11.46	6.08	8.7	4.2
Bivalvia	27.54	2.08	4.18	5.4
Oligochaeta	60.8	6.45	71.45	3.6
Ostalo (insekti, rakovi)		53.96		40.07

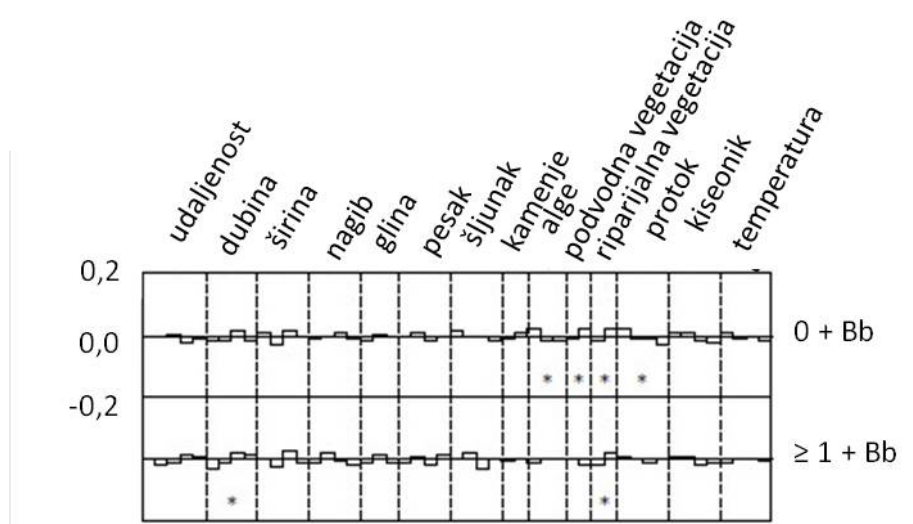
Na aktivnost mrene u potrazi za hranom utiče temperatura vode, i kada dostigne oko 15 °C mrena je najaktivnija, najčešće u sumrak i svitanje tokom letnjeg perioda (Baras 1995a) (Slika 3). Dinamika aktivnosti mrene je promenljiva u odnosu na godišnja doba: mala aktivnosti oko 16h u letnjem periodu, polako se povećava dolaskom jeseni i maksimalna je tokom zime u periodu između 12 i 16h. Mrena nije aktivna u svitanje tokom jeseni, a u zimskom periodu nije aktivna ni u sumrak. Ukoliko temperatura vode pređe granicu od 20 °C, mrena se hrani samo tokom noći (Baras 1993).



Slika 3. Periodi i dužina trajanja aktivnosti mrene u toku jednog dana na reci Ourthe, Belgija (Baras 1995a).

Reofilne vrste riba životni vek pretežno provode u rečnim zonama koje se odlikuju velikim protokom vode, što je kod mrene i dokazano radio-praćenjem ženki u

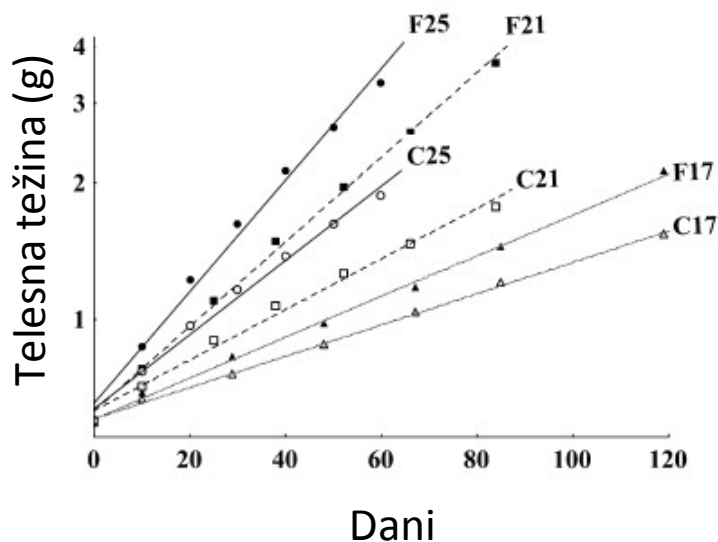
periodu proleće-leto (Baras i Cherry 1990). Tokom različitih faza svog životnog ciklusa mrena naseljava različite tipove staništa. Litoralna zona bogata podvodnom vegetacijom najznačajnija je u juvenilnom stadijumu mreine jer pruža zaštitu od predatora i velikog protoka vode (Copp *et al.* 1994; Copp 1992). Kada jedinke dostignu veličinu od 50 mm udaljavaju se od staništa u kome je brzina protoka manja od 10 cm s^{-1} (Bischoff i Freyhof 1999). Za mreine starosti do jedne godine, osnovne karakteristike staništa jesu: udaljenosti od obale reke do 1.5 m, dubina vode najviše do 45 cm, brzina protoka do 4.5 cm s^{-1} (Slika 4) i bujna podvodna vegetacija. Jedinke starije od 1 godine nastanjuju brže i dublje delove reka, udaljenije od obala, sa manje algi i podvodne vegetacije (Watkins *et al.* 1997).



Slika 4. Profili staništa i odstupanje od očekivanog za mreine starosti 0+ i 1+ u reci Lee, Engleska, tokom perioda leto-jesen 1995. god. (Watkins *et al.* 1997).

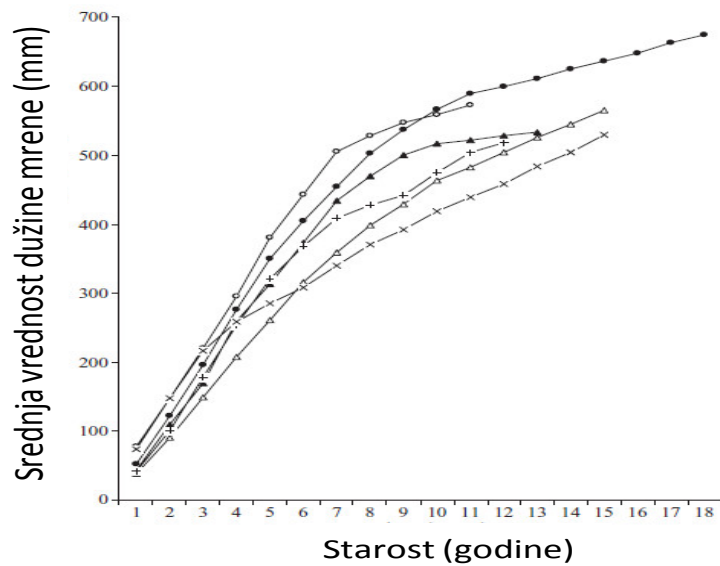
Na distribuciju i rasprostranjenost mreine utiču i fizičke karakteristike staništa. Jurajda (1999) je pokazao da juvenilne jedinke preferiraju peščanu podlogu (Morava, Češka), dok su Copp i saradnici (1994) opisali zone u kojima se nalaze juvenilne jedinke kao zone siromašne podvodnom vegetacijom i sa krupnom granulacijom substrata (Dunav, Slovačka i Mađarska). Uklanjanje vegetacije iz riparijalne zone može dovesti do smanjenja kompleksnosti staništa, što sa sobom povlači smanjenje biomase i negativno utiče na preživljavanje mreine (Copp i Bennetts 1996). U većim rekama na teritoriji Francuske, najviše jedinki uočeno je u delovima reka sa najvećom kompleksnosti strukture i najvećim diverzitetom bentosa (Lelek i Lusk 1965).

Na rast mreine najviše utiče temperatura i sezona, te je rast najveći tokom letnjih meseci (Hunt i Jones 1974). Optimalna temperatura za rast iznosi od 21 do 25 °C, što je potvrdio Kaminski sa saradnicima (2010) posmatrajući rast mreine hranjene sa dva različita tipa hrane na 3 različite temperature (Slika 5).



Slika 5. Prikaz rasta juvenilnih stadijuma rečne mreine na različitoj ishrani: Aller Futura (F) i larve hironomida (C). Temperature su 17°C, 21°C i 25°C (Kaminski *et al.* 2010).

Dužina životnog veka mreine varira između reka. Na primer, u gornjem toku reke Warta, Poljska (Przybylski *et al.* 2004) nisu nađene jedinke starije od 9 godina, dok su Taylor i saradnici (2004) analizom krljušti otkrili primerke starosti oko 18 godina u reci Great Ouse, Velika Britanija (Slika 6). Dosadašnji podaci ukazuju da ženke mreine žive i rastu duže, te dostižu veću dužinu u poređenju sa mužjacima (Prokes *et al.* 2006). Takođe postoje i razlike u rastu između jedinki u odnosu na stanište (Taylor *et al.* 2004). Na Slici 6 prikazane su razlike u srednjoj dužini tela u različitim rekama Engleske, tako da jedinke iz reke Great Ouse imaju najveću dužinu i najveću starost, jedinke iz reke Derwent najsporije rastu, dok jedinke iz reke Arrow imaju najkraći životni vek.



Slika 6. Srednja vrednost dužine mreke u šest reka na teritoriji Engleske sakupljane u periodu 2001-2003 (+ reka Arrow, x reka Derwent, o reka Thames, • reka Great Ouse, Δ reka Nidd, ▲ reka Teme) (Taylor *et al.* 2004).

U prirodi ženke polažu jaja jednom godišnje, najčešće u proleće (Baras 1993). Kao limitirajući faktor u broju polaganja jaja u prirodnim ekosistemima navodi se inhibicija visokim temperaturama i ograničen pristup staništima pogodnim za razmnožavanje usled niskog vodostaja (Baras 1995b). Mrena se razmnožava grupno, najčešće na šljunkovitoj podlozi, tokom kasnog proleća, kada je temperatura vode između 10–23 °C (Baras 1995b). U reci Ourthe, Belgija, temperaturna granica za razmnožavanje iznosi 13.5°C (Baras i Philippart 1999), odnosno, ispod ove temperature razmnožavanje se zaustavlja. Fotoperiodizam takođe utiče na razmnožavanje, jer je kod mreke uočen dnevni ritam fotosenzitivnosti (Poncin 1992).

Period neposredno pre razmnožavanja karakterističan je po migracijama mreke na poznati lokalitet za mrest (Baras 1995b). U samom mrestu učestvuje više mužjaka (prosečne starosti 4 godine) nego ženki (prosečne starosti 5 godina) (Hunt i Jones 1974; Maitland i Campbell 1992). Mužjaci na lokalitet za mrest dospevaju pre ženki (Lucas i Batley 1996), u nastojanju da obezbede veći broj raspoloživih ženki za razmnožavanje (Hancock *et al.* 1976). Samo razmnožavanje može biti uspešno i neuspešno. U uspešnim pokušajima najčešće učestvuju 3 mužjaka i jedna ženka, gde se mužjaci smenjuju u položajima za razmnožavanje, bez uočljive hijerarhije među njima, i oni se

sastoje od šest sukcesivnih delova: prilazni period, period pre mresta, mrest, period nakon mresta, period razilaženja, i period između mresta. Period mresta i period nakon mresta ne dešavaju se kod neuspešnih pokušaja (Hancock *et al.* 1976). Tokom svoje reproduktivne aktivnosti, mužjaci teraju druge mužjake (Hancock *et al.* 1976). Velika jaja (1.95-2.37 mm) se polažu na šljunkovito dno, obično na dubinama od 20-300 cm (Hancock *et al.* 1976). Nakon mresta, mrena ne pokazuje tendenciju ka sakrivanju ili čuvanju jaja, niti bilo kakve oblike parentalnog ponašanja nakon izleganja (Penaz *et al.* 2002). Ženke nakon mresta brže migriraju nizvodno u odnosu na mužjake (Lucas i Beatley 1996).

Po izleganju iz jaja, larve se prvobitno opiru vodenim strujama, vezujući se za podvodnu vegetaciju pomoću adhezivnih žlezda (Penaz *et al.* 2002). Juvenilne ribe imaju najveću potrebu za kiseonikom u poređenju sa ostalim fazama životnog ciklusa (Penaz *et al.* 2002). Čulni organi juvenilnih riba počinju da pružaju informacije o stanju spoljašnje sredine, što im omogućava pozicioniranje u vodenom toku i potragu za mračnim skloništima sa ciljem zaštite od predatora (Penaz *et al.* 2002).

Mrena se najčešće sezonski kreće, i najveće razdaljine, do 20 km, prelazi u periodu mresta (Ovidio *et al.* 2007; Baras i Cherry 1990). Tokom jeseni mrena migrira nizvodno, a uzvodno tokom proleća i leta (Lucas i Batley 1996). Nizvodno kretanje je najverovatnije posledica izlivanja reka iz svojih vodotokova (Lucas 2000).

Istraživanjem pojedinačnih populacija mreke utvrđeno je da se jedinke mogu svrstati u dve kategorije: mobilne i rezidentne (Baras 1997). Istraživanje na uzorku od 531 markirane jedinke mreke na reci Severn (Hunt i Jones 1974) pokazalo je da većina jedinki (86%) ostaje u granicama do 5 km u odnosu na mesto na kome su vraćene u reku, a od tog broja većina se nije kretala uopšte. Ostatak jedinki se kretao u širokom opsegu do 34 km od mesta markiranja, a maksimalno do 54 km. Ova studija je ukazala da praćenje malog broja jedinki može dovesti do pogrešnih zaključaka o mobilnosti vrste. Druga studija na reci Nidda, Nemačka (Pelz i Kastle 1989), u kojoj je radio-signalom praćeno 8 jedinki tokom perioda od 12 dana, pokazala je da su sve jedinke bile stacionarne i da su prelazile razdaljine od 60 do 120 m. Studija kretanja jedinki na reci Jihlava, Češka (Penaz *et al.* 2002), pokazala je da pomeranja stacionarnih jedinki iznose od 250 do 780 m, u poređenju sa mobilnim jedinkama čija su pomeranja bila do 1 680 m nizvodno, i do 2 020 m uzvodno. Mala pomeranja jedinki povezana su sa

kompleksnošću staništa, gde ribe na malom prostoru imaju pristup delovima staništa pogodnim za obavljanje dnevnih i sezonskih aktivnosti (De Vocht i Baras 2005).

Na aktivnost mreine utiču i intenzitet svetlosti i temperature vode. Temperatura vode menja trajanje aktivnosti mreine (Baras i Cherry 1990). Sezonske aktivnosti mreine povezane su sa intenzitetom svetlosti. Tokom letnjeg perioda, ribe su aktivne u svitanje i sumrak, pomerajući se ka bržim delovima vodenog toka zbog ishrane (Baras i Cherry 1990).

Tokom zime uočeno je nizvodno kretanje i muških i ženskih jedinki mreine (Lucas i Batley 1996). Baras i Cherry (1990) smatraju da je kretanje uzorkovano niskom temperaturom vode i povišenim energetskeim zahtevima (Lucas i Batley 1996). U tom periodu, mreina najčešće migrira od obale ka dubljim delovima reka. Tokom zimskih meseci, osnovni nagon jedinki mreine jeste da prežive, uz minimum potrošnje energije. Tokom proleća, sa produžetkom perioda dnevne svetlosti, dolazi do uzvodnog kretanja mreine, najverovatnije zbog pripreme za mrest. Ovo je period u kome je mreina najpokretljivija i kada su promene staništa najčešće (Baras i Cherry 1990). U letnjim mesecima mreina se nalazi u staništima izabranim za mrest. U sumrak mreina napušta svoja dnevna staništa te se kreće ka dubljim delovima reke u potrazi za hranom (Baras 1995a). Ta aktivnost se ponavlja u svitanje, kada dolazi do povratka mreine na staništa gde provode ostatak dana. Ovakav ritam se menja ukoliko temperatura vode pređe 20 °C, kada se mreina odmara u dubljim delovima reke (Baras 1995a). Tokom jeseni, kada je temperatura vode oko 10 °C, aktivnost mreine je veća nego leti, a postepeno opada sa dolaskom zimskih meseci. Smatra se da je takvo ponašanje uzorkovano pripremom mreine za uspešno preživljavanje zimskog perioda (Baras 1995a).

1.3.1 Paraziti mreine

Jedan od čestih parazita crevnog trakta rečne mreine jeste *Pomphorynchus laevis*, crv iz filuma Acanthocephala. Prelazni domaćin *P. laevis* jeste *Gammarus pulex*, kojim se mreina hrani (Hine i Kennedy 1974; Djikanović *et al.* 2015). Od značaja za stanje mreine jeste broj parazita kojim su jedinke inficirane, kao i dubina njihove penetracije kroz zid (Laimgruber *et al.* 2005), ali ovaj parazit, pored lokalnih oštećenja na crevnom

traktu, ne dovodi do povećanog mortaliteta ili smanjenog rasta kod mrene (Hine i Kennedy 1974).

Da li će mrena biti zaražena jedinkama *P. laevis* zavisi od dva faktora: prisustva prelaznog domaćina i njegovog udela u ishrani mrene (Hine i Kennedy 1974; Djikanović *et al.* 2015), kao i od količine hranljivih materija i zagađivača u staništu mrene (Nachev i Sures 2009). Studija u Dunavu (Nachev i Sures 2009) je pokazala da su povećanje zagađenja i broj parazita *P. laevis* u mreni proporcionalni, te se mogu koristiti kao bioindikator opšteg stanja određenih ekosistema. *P. laevis* je okarakterisan i kao dobar bioindikator zagađenja vodenih ekosistema metalima (Sures 2003; Radovanović *et al.* 2010). Studije su pokazale da je bioakumulacija Ba, Cu, Zn i Pb u *P. laevis* čak i veća u odnosu na biokoncentraciju metala u tkivima mrene (Thielen *et al.* 2004). Ova saznanja potvrđuju potencijal *P. laevis* kao bioindikatora zagađenja vodenih ekosistema metalima.

1.3.2 Uticaj zagađenja vodenih ekosistema na preživljavanje mrene

Od zagađujućih supstanci, za mrenu su od većeg značaja metali, polihlorovani bifenili (PCB) i hormoni.

Testirajući uticaj različitih koncentracija Cu i Cd na jaja mrene, zaključeno je da Cd redukuje preživljavanje larvi, dok je rast larvi smanjen u prisustvu oba metala (Witeska *et al.* 2010). Mrene koje su dobijale hranu sa povećanom koncentracijom Cu u odnosu na kontrolu počinjale su ishranu sa danom zakašnjenja, dok su one sa povećanim koncentracijama Cd u odnosu na kontrolu započinjale ishranu sa čak 4 dana kašnjenja. U prirodnim ekosistemima koji trpe pritisak zagađenja metalima preživljavanje larvi mrene je smanjeno i larve su manje uspešne u kompeticiji za hranu, što negativno utiče na status lokalnih populacija mrene (Witeska *et al.* 2010).

U odnosu na druge ciprinidne ribe mrena je najosetljivija na prisustvo PCB (Hugla i Thome 1999). Izlaganje mrene koncentracijama PCB koje odgovaraju koncentracijama u prirodnim ekosistemima kroz ishranu izazvalo je veće promene kod ženki u odnosu na mužjake, a uočen je i povećani mortalitet jaja i larvi, kao i gubitak fertiliteta kod ženki izloženih najvećim koncentracijama PCB (Hugla i Thome 1999).

Međutim, ove promene su reverzibilne i mogu potpuno nestati u periodu od godinu dana od početka detoksikacije (Hugla i Thome 1999).

Istraživanje endokrine disfunkcije usled povećane koncentracije ksenoestrogena u reci Jihlava, Češka (Penaz *et al.* 2005) pokazalo je feminizaciju kod 149 od 993 muških jedinki mreke, kao i povećanu koncentraciju vitelogenina u krvnoj plazmi, kao posledicu povećanja koncentracije ksenoestrogena u vodi.

1.4 Bioindikatori zagađenja akvatičnih ekosistema

Porast brojnosti ljudskih populacija i njihova svakodnevna aktivnost dovela je do opterećenja prirodnih ekosistema zagađenjem, uništavanjem i fragmentacijom staništa, što je uzrokovalo i smanjenje biodiverziteta. U cilju razumevanja načina na koji ljudski uticaji deluju na prirodne populacije, pored praćenja fizičkih i hemijskih parametara zagađenja, potrebno je pratiti i određene biljne i životinjske vrste koje mogu pružiti dodatne informacije o stanju i kvalitetu ekosistema. Bioindikatorske vrste mogu pružiti informacije o stopi i nivou zagađenja na osnovu kojih možemo pratiti zagađenje u vremenu, za razliku od hemijskih analiza koje daju uvid u trenutno stanje. U nekim slučajevima koncentracije zagađivača mogu biti jako niske, i ne mogu se uočiti hemijskim analizama, ali zahvaljujući bioindikatorskim vrstama možemo detektovati i takva zagađenja.

Bioindikatore možemo definisati kao organizme (ili zajednice organizama) koji sadrže informacije o kvalitetu životne sredine u kome se nalaze, a na osnovu čijeg je prisustva/odsustva moguće detektovati promene i stanje kvaliteta životne sredine, proceniti antropogeno dejstvo, i na osnovu tih informacija odrediti model remedijacije ili restauracije (Markert, 1994).

Različite vrste se mogu koristiti za detekciju istih elemenata u akvatičnim ekosistemima, npr. alga *Chlorella vulgaris* (Czaplicka-Kotas i Lodowska 2014) i morski jež *Paracentrotus lividus* (Soualili *et al.* 2008) za detekciju kadmijuma, alga *Gracilaria bursa-pastoris* (Boubonari *et al.* 2008), školjka *Ruditapes philippinarum* i kraba *Carcinus maenas* (Martín-Díaz *et al.* 2008) za detekciju kadmijuma i bakra, itd. Za detekciju promena u akvatičnim ekosistemima mogu se koristiti celi organizmi

(Lafabrie *et al.* 2007) ili delovi organizma, poput trbušnog mišića raka *Procambarus clarkii* (Suárez-Serrano *et al.* 2010) i mišića ribe *Cathorops spixii* (Azevedo *et al.* 2012).

1.4.1 Ribe kao indikatori zagađenja životne sredine

Ribe predstavljaju bitan izvor hrane ljudskoj populaciji, te su predmet istraživanja različitih naučnih disciplina. Zahvaljujući velikom broju publikacija o različitim vrstama riba, omogućeno je formiranje različitih baza podataka koje sadrže podatke o biološkim, fiziološkim i ekološkim karakteristikama, što olakšava izbor određene vrste prilikom odabira bioindikatora. Ribe su pogodne za praćenje promena i utvrđivanje stanja akvatičnih ekosistema jer različite faze razvića provode u različitim tipovima staništa, kao što su staništa sa bržim ili sporijim protokom vode, sa ili bez podvodne vegetacije, itd. (Schiemer *et al.* 1991; Boon *et al.* 2000; Naigaga *et al.* 2011; Fialho *et al.* 2008). Ribe se mogu podeliti na rezidentne i migratorne, i kao takve pružaju informacije o povezanosti i fragmentaciji različitih staništa koja koriste stalno ili u pojedinim fazama svog životnog ciklusa (Chovanec *et al.* 2002). Analiza morfoloških i anatomskih karakteristika ribe može pružiti značajne podatke o stanju životne sredine, a pored toga, kao relativno dugovečni organizmi, ribe su pogodne i za višegodišnji monitoring akvatičnih ekosistema. Prisustvo zagađivača može se utvrditi praćenjem promena na ćelijskom i biohemijskom nivou (akumulacija metaltioneina, promene na DNK) (Suresh *et al.* 2015; Devaux *et al.* 2015). Pored toga može doći i do modifikovanja ponašanja, reproduktivnog uspeha i preživljavanja (Yamaguchi *et al.* 2007; De Castro *et al.* 2009; Wood *et al.* 2012). Koncentracija elemenata u tkivima riba može pružiti samo uvid o stepenu zagađenja akvatičnih ekosistema zagađivačima, ali neophodna su dodatna ispitivanja kako bi se utvrdio izvor zagađenja. Ukoliko se kao bioindikatorska vrsta izabere riba, treba imati u vidu da preterani izlov, bolesti, paraziti i kompeticija mogu redukovati brojnost populacije izabrane vrste riba i na taj način zamaskirati efekat zagađivača (Holt i Scott 2011). Kod riba kao veoma vagilnih organizama, neophodno je pre odabira vrste za potrebe monitoringa odrediti da li je

najveći deo populacije rezidentan ili mobilan, jer mogu navesti na pogrešnu procenu o izvoru i dejstvu zagađivača.

U poslednje vreme sve se više uočava značaj makroparazita riba kao bioindikatora zagađenja akvatičnih ekosistema metalima. Da bi se makroparaziti riba mogli koristiti kao bioindikatora potrebno je da budu zadovoljeni određeni uslovi (Kennedy 1997; Sures 2004):

- riba domaćin morabiti prisutna i lako dostupna u ispitivanom području;
- poželjno je da ispitivani makroparaziti budu specifični za određenu vrstu ribe;
- makroparazite je potrebno lako identifikovati i prikupiti sa ribe;
- potrebno je predznanje o ekologiji ispitivane vrste riba i njenim makroparazitima.

Kao bioindikatora zagađenja metalima, u istraživanjima su najčešće korišćeni endohelminti. Međutim, nematode se do sada nisu pokazale kao uspešni bioindikatora zagađenja metalima zbog niske biokoncentracije metala u njima (Sures *et al.* 1998). Nasuprot tome, akantocefali poput *P. laevis* pokazali su se kao najbolji bioindikatora zagađenja akvatičnih ekosistema metalima jer jako brzo po izleganju iz jaja u crevu ribe domaćina, u roku od nekoliko nedelja, akumuliraju znatne količine metala, tako da su koncentracije u njima i po nekoliko puta veće od koncentracije tih istih metala u organima ribe domaćina (Sures 2001). Prvo istraživanje na *P. laevis* po pitanju akumulacije metala uradili su Brown i Pascoe (1989), ali su njihovi rezultati ukazali na činjenicu da se samo adultne forme *P. laevis* mogu koristiti za interpretaciju zagađenja metalima. Rane studije su se fokusirale na akumulaciju Cd i Pb u ribama i *P. laevis* (Sures i Taraschewski 1995). Kasnije laboratorijske studije ukazale su na to da su paraziti i njihovi domaćini u kompeticiji za određene metale poput Ca, Fe, Zn i Sr (Sures 2002). Na visoku bioakumulaciju metala od strane intestinalnih parazita najverovatnije utiče prisustvo žučne kiseline u crevu riba koja utiče na formiranje organo-metalskih jedinjenja koje paraziti lako usvajaju (Sures i Siddall 1999). Chubb (1997) je potvrdio rezultate istraživanja Suresa i saradnika (Sures *et al.* 1997; Sures *et al.* 1999), u kojima se akantocefali pominju kao makroparaziti riba koji mogu akumulirati značajne koncentracije Pb i Cd i mogu se koristiti kao osetljivi indikatori monitoringa koncentracije metala u akvatičnim ekosistemima.

1.4.2 Akumulacija toksičnih materija u tkivima riba

Toksične materije u ribu mogu dospeti na dva načina, disanjem preko škruga, i unosom hrane. Kod slatkovodnih riba, toksične materije se najčešće unose preko škruga, mada se u poslednje vreme sve više prepoznaje značaj i oralnog unosa zagađivača. Zagađivači lako dospevaju u organizam riba preko škruga zahvaljujući protoku vode i velikoj respiratornoj površini škruga. Smatra se da se unos metala kroz škrge odvija preko hloridnih ćelija. Hloridne ćelije su specijalizovane ćelije za transport jona. Hloridne ćelije poseduju jako malu površinu koja je u kontaktu sa spoljašnjom sredinom, ali se ta površina može povećati u jako kratkom vremenskom periodu. Kroz hloridne ćelije najčešće se transportuju $2+$ joni poput Co^{2+} , Zn^{2+} i Cd^{2+} . Smatra se da ovi joni ulaze u hloridne ćelije kalcijumovim kanalima. Mehanizam transporta ovih jona preko bazolateralne membrane epitela škruga još nije do kraja razjašnjen. Metali kroz škrge mogu proći i specifičnim metalnim transporterima poput Ctr1 i DMT1 transportera bakra ili preko ZIP transportera za cink (Feeney *et al.* 2005; Wood *et al.* 2012). Zahvaljujući elektrohemisjkom gradijentu između vode i krvi, neki metali mogu prostom difuzijom da uđu u škrge i dospeju do krvotoka. Isti ovi mehanizmi učestvuju u unosu metala preko gastrointestinalnog trakta (Nadella *et al.* 2007, 2011). Ishranom ribe najčešće unose lipofilna jedinjenja koja se sporo metabolišu i nerastvorljiva su u vodi, i na taj način dolazi do biomagnifikacije organskih zagađivača duž lanca ishrane (Mackay i Fraser 2000; Sharma *et al.* 2009). Toksične materije se najčešće nagomilavaju u jetri i bubrezima jer su ovi organi bogati metalotioneinima (Fernandes *et al.* 2008). Metalotioneini su proteini male molekulske mase, čija je osnovna funkcija vezivanje metala (Jebali *et al.* 2008). Biološki esencijalni elementi poput Cu i Zn, kao i povećane koncentracije toksičnih elemenata poput Cd i Hg indukuju sintezu metalotioneina (Fernandes *et al.* 2008). Zbog evolucione očuvanosti kod kičmenjaka i beskičmenjaka, metalotioneini se smatraju povoljnim biomarkerima zagađenja životne sredine metalima (Tosti 2012). Ekspresija gena za metalotioneine je pod uticajem različitih faktora stresa, uključujući i izlaganje ribe povećanoj koncentraciji metala (Atli i Canli 2007). Jetra je uključena u brojne procese detoksikacije koji transformišu toksična jedinjenja u manje štetna i rastvorljiva jedinjenja koja se transportuju u žučnu kesicu. Ovi metaboliti se ili izbacuju preko fecesa ili se resorbuju kroz crevo i vraćaju u

jetru enterohepatičnom cirkulacijom, što povećava poluživot ovih zagađivača u ribi. Nakon kratkotrajne izloženosti povišenim koncentracijama Cu i Cd u vodi uočena je kratkotrajna akumulacija ovih metala u škragama, da bi se preko krvi transporovali u glavni organ za detoksifikaciju, jetru (Kraemer *et al.* 2005).

1.4.3 Primena histoloških metoda kod riba kao bioindikatora zagađenja

Izlaganje riba zagađivačima može dovesti do povećanog nivoa proteina stresa poput proteina toplotnog stresa (Triebkorn *et al.* 1997; Roberts *et al.* 2010), i promena u aktivnosti antioksidativnih enzima (Orbea *et al.* 2002; Kavitha i Rao 2008), kao i stvaranja metalotioneina kod izlaganja metalima (Valavanidis *et al.* 2006; Gupta *et al.* 2010). Strukturne promene na nivou ćelija i organela dobijene histopatološkom analizom usled dejstva nekog zagađivača smatraju se nespecifičnim, i njihova analiza ukazuje na promenu homeostaze organizma, ali je najčešće preko nje nemoguće odrediti tačan izvor stresa. Histopatološke metode primenjuju se za ispitivanje efekata organskih zagađivača (do Carmo Langiano *et al.* 2008; Costa *et al.* 2009; Velisek *et al.* 2009; Berg *et al.* 2013), pesticida i herbicida (Yildirim *et al.* 2006; Capkin *et al.* 2006; Xing *et al.* 2012), metala (Longanathan *et al.* 2006; van Dyk *et al.* 2007; Greenfield *et al.* 2008; Pandey *et al.* 2008;), i fizičko-hemijskih parametara vode (Kroupova *et al.* 2005, 2008; Miron *et al.* 2008) na određene organe riba. Analiza prirodnih populacija riba samo histopatološkim metodama nije dovoljna za razumevanje izvora i trajanja zagađenja, već se koriste i drugi biomarkeri kao što su enzimi, parametri oksidativnog stresa, hematološki, imunološki, genotoksični parametri, itd. (van der Oost *et al.* 2003). Takođe, dobar pristup je i korelacija između histopatoloških parametara i količine metala u određenim tkivima riba (Poleksić *et al.* 2010; Lenhardt *et al.* 2015). Na osnovu podataka koje je izneo Sabullah sa saradnicima (2015) u periodu od 2008. do 2013. godine najviše istraživanja na ribama izazvanim metalima bilo je na škragama i jetri, zatim na mišićima i bubregu, a najmanje na mozgu. Zahvaljujući svojoj velikoj površini škrge riba predstavljaju glavni organ preko koga zagađivači dospevaju u organizam riba i zato se kod njih oštećenja najlakše i najviše uočavaju. Škrge košljoriba su delikatne histološke strukture i sastoje se od četiri škržna luka na kojima se nalaze primarne i na

njima sekundarne lamele (Roberts 2012). U okviru lamela se događa razmena gasova, a bilo koja vrsta promena fizičkih ili hemijskih parametara vode ili prisustvo ksenobiotika uzrokuje promene koje se mogu primetiti korišćenjem svetlosne mikroskopije (Poleksić i Mitrović-Tutundžić 1994). Pored disanja, škrge imaju važnu ulogu u procesima jonske regulacije i kiselinsko-bazne ravnoteže u organizmima riba (Evans *et al.* 2005).

Jetra je izuzetno važan organ koja ima više funkcija u organizmu ribe: primarna funkcija ove mešovite žlezde je u ishrani, s obzirom na to da su hepatociti centralne ćelije u metabolizmu ugljenih hidrata, pre svega glikogena. U jetri se takođe stvara žuč, važan enzim koji pomaže varenje masti, ali je veoma važna funkcija jetre biotransformacija toksičnih materija koje dospevaju u organizam ribe. Zbog njene uloge u ishrani i transformaciji toksikanata, jetra je jako važan organ u histopatološkim istraživanjima. Pogotovo kada je u pitanju mrena, bentofagna vrsta ribe, čija se hrana nalazi u sedimentima koji mogu biti zagađeni metalima. Histopatološke promene na jetri najčešće uključuju promenu morfologije hepatocita, njihovu vakuolizaciju, infiltraciju masti ili nestanak glikogena, promene na krvnim sudovima ili drugim elementima strome ili pak sistemske bolesti, kao što je masna degeneracija jetre (Ferguson 2006; Roberst 2012). Takođe, u laboratorijskim uslovima je moguće indukovati neoplazije na jetri (Hinton *et al.* 1988), ali je jako malo podataka da su neoplazije nalažene u jako zagađenim sredinama (van der Oost *et al.* 2003).

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Ciljevi disertacije obuhvataju sledeće:

- kvalitativnu i kvantitativnu analizu ukupnog sadržaja 15 elemenata u površinskim sedimentima reka Dunav, Zapadna Morava i Južna Morava;
- kvalitativnu i kvantitativnu analizu sadržaja dostupne frakcije 15 elemenata u površinskim sedimentima sve tri reke;
- određivanje prisustva i koncentracije 15 elemenata na različitim dubinama sedimenta (0-5 cm, 5-10 cm, 10-15 cm);
- određivanje sezonskih promena u koncentracijama 15 elemenata u površinskim sedimentima navedenih reka (proleće, leto, jesen);
- utvrđivanje granulometrijskog sastava sedimenta u tri posmatrane reke;
- procenu kvaliteta uzorkovanih rečnih sedimenata u skladu sa maksimalno dozvoljenim koncentracijama (MDK) za Republiku Srbiju;
- procenu glavnih izvora zagađenja reka metalima;
- kvalitativnu i kvantitativnu analizu 15 elemenata u jedinkama rečne mreke u četiri tkiva (mišići, škrge, creva, jetra) i analiza koncentracije istih elemenata u intestinalnom parazitu mreke *Pomphorhynchus laevis*;
- histološku analizu uzorkovanih jedinki sa osvrtom na delovanje analiziranih elemenata;
- opštu procenu vrednosti rečne mreke kao bioindikatora kvaliteta površinskih sedimenata reka u odnosu na zagađenje metalima.

3. MATERIJAL I METODE

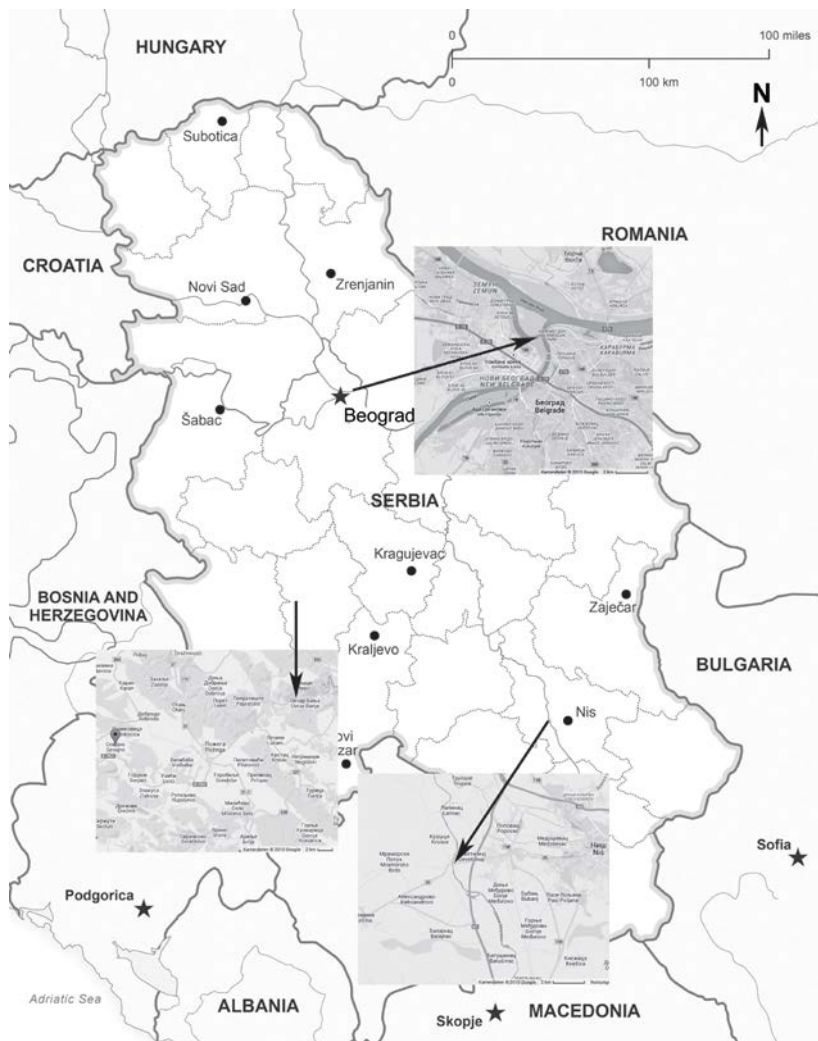
3.1 Područje istraživanja

Topografska mapa sliva Dunava, Južne i Zapadne Morave i lokaliteti izabrani za uzorkovanje prikazani su na Slici 7. Dužina ukupnog toka Dunava iznosi 2 800 km, a kroz Republiku Srbiju prolazi deonicom dugom 588 km (20% ukupne dužine toka). Sliv Dunava pokriva 87% teritorije Republike Srbije i ujedno obuhvata najrazvijeniji i najnaseljeniji deo Srbije, a sastoji se od tri manja sliva: reke Tise, Save i Velike Morave. Dunav u Republiku Srbiju ulazi na deonici od 1 433 km od svog ušća u Crno more, na 80,7 m nadmorske visine, a izlazi na 845 km od svog ušća, na nadmorskoj visini od 30 m (Gavrilović i Dukić 2014). Prosečna širina Dunava u Republici Srbiji iznosi 1 km, formirajući vodenu površinu veličine 520 km² sa prosečnom količinom protoka vode od 2 500 m³ s⁻¹ (Gavrilović i Dukić 2014). Na toku Dunava kroz Republiku Srbiju izgrađene su dve hidrocentrale, Đerdap 1 i Đerdap 2, sa akumulacionim jezerima površine 253 km² i 80 km². Kroz Republiku Srbiju Dunav protiče svojim srednjim i delimično donjim delom toka, sa blagim nagibom (Gavrilović i Dukić 2014).

Zapadna Morava je leva pritoka Velike Morave, dužine 210 km, sa ukupnom površinom sliva od 15 850 km² i prosečnom brzinom protoka od 120 m³ s⁻¹ (Gavrilović i Dukić 2014). Duž toka formira veliki broj meandara. Sve pritoke ove reke imaju snežno-kišni režim, sa visokim vodostajem tokom proleća i niskim vodostajem tokom letnjih meseci. Sliv Zapadne Morave izložen je brojnim antropogenim faktorima kao što su rudarstvo, industrija i saobraćaj duž obala (Gavrilović i Dukić 2014).

Južna Morava je desna pritoka Velike Morave, dužine 295 km sa ukupnom površinom sliva od 15 469 km² i prosečnom brzinom protoka vode od 100 m³ s⁻¹ (Gavrilović i Dukić 2014). Korito Južne Morave karakteristično je po velikoj količini nanosa, koji tu dospevaju iz njenih 157 pritoka.

Velika Morava predstavlja jednu od glavnih pritoka Dunava u Republici Srbiji koja se u Dunav uliva na 1 103 km od ušća u Crno more, dopremajući u ovu reku veliku količinu sedimenta. Ovu 185 km dugačku reku formiraju Zapadna i Južna Morava (Gavrilović i Dukić 2014).



Slika 7. Hidrološka mapa Republike Srbije sa označenim lokalitetima na kojima su uzorkovani sediment i ribe.

U tabeli 3 prikazani su parametri kvaliteta vode u Dunavu (merna stanica Zemun) i na Južnoj Moravi (merna stanica Aleksinac). Podaci su prikazani za ove dve reke jer su histopatološke analize rađene za jedinice sakupljene sa ova dva lokaliteta.

Tabela 3. Parametri kvaliteta vode u Dunavu (merna stanica Zemun) i Južnoj Moravi (merna stanica Aleksinac) za period 2010-2013; BPK – biološka potrošnja kiseonika; UPK – ukupna potrošnja kiseonika. Sve vrednosti su izražene u mg L⁻¹ ukoliko nije drugačije naznačeno.

Reka/godina	Dunav				Južna Morava			
	2010	2011	2012	2013	2010	2011	2012	2013
parametri								
pH	7.89±0.35	8.08±0.13	8.32±0.17	8.06±0.07	8.00±0.17	8.07±0.29	7.96±0.22	8.04±0.07
O ₂	9.12±2.32	9.25±2.53	9.48±1.78	9.28±0.28	10.63±1.20	10.11±1.91	9.60±2.56	10.02±0.92
% O ₂	90.67±12.47	88.36±8.48	86.25±10.43	88.50±0.71	100.67±10.58	94.42±7.74	90.64±23.82	99.83±4.95
NH ₄ ⁺	0.11±0.08	0.15±0.07	0.09±0.04	0.13±0.06	0.13±0.16	0.10±0.13	0.07±0.02	0.13±0.01
NO ₂ ⁻	0.02±0.01	0.02±0.01	0.01±0.01	0.02±0.01	0.03±0.03	0.10±0.24	0.06±0.04	0.05±0.03
NO ₃ ⁻	0.57±0.38	0.78±0.40	0.90±0.70	0.79±0.41	0.33±0.24	0.58±0.33	0.85±0.31	0.93±0.21
ukupni N	1.92±0.40	2.45±0.79	2.08±1.25	2.13±0.14	2.01±0.31	2.44±0.60	1.79±0.62	1.94±1.20
HPO ₄ ⁻	0.04±0.03	0.06±0.06	0.04±0.03	0.04±0.03	0.10±0.07	0.14±0.06	0.10±0.05	0.12±0.02
ukupni P	0.11±0.03	0.11±0.08	0.17±0.18	0.09±0.0	0.17±0.08	0.25±0.11	0.48±0.86	0.19±0.03
BPK	2.12±0.94	1.75±0.71	2.05±0.85	2.05±0.42	2.03±0.40	2.12±0.53	2.91±0.87	3.18±0.42
UPK	3.61±1.08	4.51±2.58	4.30±1.19	4.61±1.27	3.99±2.27	6.39±1.87	6.17±3.03	5.53±2.69

3.2 Sakupljanje uzoraka površinskog rečnog sedimenta

Za uzorkovanje površinskog rečnog sedimenta na sve tri reke određen je po jedan lokalitet za postavljanje transektne linije duge 10 m duž rečnog korita sa sledećim koordinatama: Dunav 44° 49' 22.04" N, 20° 26' 17.60" E, 77 m nadmorske visine (Beograd); Zapadna Morava 43° 53' 56.97" N, 20° 10' 47.18" E, 308 m nadmorske visine (Ovčar Banja); Južna Morava 43° 18' 47.84" N, 21° 47' 9.31" E, 178 m nadmorske visine (Niš) (Slika 7). Sediment je uzorkovan tokom tri sezone, u aprilu, julu i novembru 2012. godine. Na svakoj tački uzeto je po tri uzorka sedimenta duž transektne linije u sve tri sezone, koristeći plastične cevi dužine 20 cm. Plastične cevi su pod uglom od 45° uronjene u sediment rotirajućim pokretima. Cevi su potom pažljivo izvučene i zatvorene sa obe strane plastičnim zapašaćima i u vertikalnom položaju, kako bi se sačuvao vertikalni profil sedimenta, transportovane u laboratoriju gde su zamrznute na -20 °C. Ukupno je uzorkovano 27 vertikalnih profila sedimenta za sve tri sezone. Nakon odmrzavanja cevi u vertikalnom položaju, izdvojeni su profili sedimenta koji su potom isečeni na delove dužine 5 cm. Od svakog uzorka dobijeno je po 3 dela koji su predstavljali dubine od 0-5 cm, 5-10 cm i 10-15 cm. Nakon toga, delovi sedimenta osušeni su na 70 °C tokom 48h, do dostizanja konstantne težine. Sedimenti sakupljeni na Dunavu jesu uzorci sedimenta sakupljeni autonomnim ronjenjem, dok su Južna i Zapadna Morava bile dovoljno pristupačne da se uzorci sakupe prilazom sa obale.

3.3 Određivanje veličine čestica površinskog rečnog sedimenta

Osušeni uzorci sedimenta frakcionisani su koristeći sistem od 8 sita: <63 µm, 63–125 µm, 125–250 µm, 250–500 µm, 500 µm–1 mm, 1–2 mm, i >2 mm (Laboratory Test Sieve BS 410–1, Endecotts Ltd., UK) po metodi Blott i Pye (2001). Ukupna težina uzorka izmerena je na početku razdvajanja, a zatim je masa materijala sa svakog sita posebno izmerena i izražena u % od početne težine.

3.4 Određivanje ukupne i dostupne koncentracije elemenata u površinskom rečnom sedimentu

Uzorci sedimenta, osušeni na 70 °C do dostizanja konstantne težine, homogenizovani su u avanu. Za određivanje dostupne frakcije metala u sedimentu, uzorci težine oko 10 g homogenizovani su u avanu i inkubirani 1 h u 20 mL 0.005 mol L⁻¹ dietilentriaminpentaacetatne kiseline (DTPA) sa 0.01 mol L⁻¹ CaCl₂ i 0.1 mol L⁻¹ trietanolamina (TEA), pH 7.3, pod konstantnim mešanjem, kao što je naveo Quevauviller (1998). DTPA-metalni kompleksi pokazuju visoku stabilnost, dok se TEA dodaje kao pufer zbog nestabilnosti DTPA sa promenom pH (Carter 1993).

3.5 Uzorkovanje rečne mreže

Ukupno je uzorkovano 18 jedinki mreže u neposrednoj blizini lokaliteta za uzorkovanje sedimenta u sve tri reke u toku leta 2012. godine, uz pomoć rekreativnih ribolovaca: 6 jedinki iz Dunava, 6 jedinki iz Južne Morave i 6 jedinki iz Zapadne Morave. Prosečna ukupna dužina tela jedinki bila je 28.52 ± 2.88 cm, dok je prosečna ukupna masa iznosila 272.12 ± 47.27 g (srednja vrednost ± standardna devijacija). Ribe su žrtvovane brzim udarcem u glavu, disekovane, i prikupljeni su uzorci mišića sa leđa, prvi škržni luk, prednji deo creva i jetra. Organi su isprani u destilovanoj vodi i smešteni na temperaturu od -20 °C za dalju analizu.

3.6 Sakupljanje intestinalnih parazita mreže *Pomphorhynchus laevis*

Za određivanje metala u intestinalnom parazitu mreže, *P. laevis*, izabrane su mreže iz Dunava, jer je jedino kod njih bilo potvrđeno prisustvo ovog parazita. Mreže su uhvaćene uz pomoć lokalnih ribolovaca, usmrćene brzim udarcem u glavu, i iz prednjeg dela creva pažljivo su izvučeni paraziti koji su pijavkama zakačeni za zid creva. Ukupno je uhvaćeno 15 mreža iz kojih je izolovano 15 parazita. Paraziti su isprani u destilovanoj vodi i smešteni na temperaturu od -20 °C za dalju analizu.

3.7 Priprema uzoraka i analiza sadržaja elemenata u sedimentu, tkivu riba i parazita pomoću optičke emisije spektrometrije sa indukovano spregnutom plazmom

Za određivanje ukupne koncentracije elemenata, suvi uzorci sedimenta težine oko 0.4 g razoreni su u 10 ml 69% HNO₃ (Merck Suprapure, Darmstadt, Nemačka) u mikrotalasnom digestoru (Speedwave MWS-3+; Berghof Products + Instruments GmbH, Nemačka) i nakon toga razblaženi u 25 ml dejonizovane vode.

Tkiva riba su osušena u liofilizatoru (Freeze Dryers Rotational-Vacuum-Concentrator, GAMMA 1-16 LSC, Nemačka), i mali uzorci tkiva (0.2-0.5 g) su razoreni sa 6 mL 65 % HNO₃ i 4 mL 30 % H₂O₂ (Merck Suprapur, Darmstadt, Nemačka) na temperaturnom programu za hranu (100-170 °C) u mikrotalasnom digestoru (speedwave MWS-3⁺; Berghof Products+Instruments GmbH, Eningen, Nemačka). Na isti način pripremljeni su i izorci tkiva parazita.

Koncentracija metala u svim uzorcima određena je korišćenjem optičke emisije spektrometrije sa indukovano spregnutom plazmom (ICP-OES, Spectro-Genesis EOP II; Spectro Analytical Instruments GmbH, Kleve, Nemačka). Kalibracione krive dobijene su razblaživanjem ICP multi-element standardnog rastvora (1000 mg L⁻¹; Merck, Nemačka). Granice detekcije dobijene su korišćenjem standardnih kriva.

Moguće prisustvo analiziranih elemenata u korišćenim hemikalijama kontrolisano je pripremom slepih proba, koje su pripremane istovremeno sa uzorcima. Svi uzorci su filtrirani pre daljih analiza. Kontrola analitičkog procesa kvaliteta, korišćenjem BCR-185R referentnog materijala goveđe jetre i IAEA-336 referentnog materijala lišaja, ukazala je da su dobijene koncentracije bile unutar 90-115% sertifikovanih vrednosti za sve merene elemente.

3.8 Analiza sedimenta, tkiva riba i parazita pomoću skenirajuće elektronske mikroskopije sa energo-disperzivnom spektroskopijom (SEM-EDS)

Za SEM-EDS analizu, pet suvih uzoraka sedimenta sakupljenih sa Zapadne Morave propušteno je kroz sito promera 1 mm. Male količine sedimenta su fiksirane na nosač uz pomoć dvostruko samolepljive trake i prekrivene zlatom. Uzorci sedimenta sa Zapadne Morave izabrani su za analizu zbog najveće koncentracije metala u sedimentima ove reke.

Uzorci tkiva creva i škrge iz pet jedinki mrene uzorkovanih na Dunavu izabrani su za SEM-EDS detaljniju analizu bioakumulacije jona metala u tkivima, a kasnije su rezultati upoređeni sa SEM-EDS analizom intestinalnog parazita mrene. Uzorci tkiva mrene fiksirani su u 10 % formaldehidu. Uzorci tkiva creva longitudinalno su rasečeni, kratko osušeni pod lampomi i fiksirani za nosač uz pomoć dvostruko samolepljive trake, i nakon toga su prekriveni zlatom. Poprečni preseći škrge pripremljeni su na isti način.

Pet jedinki intestinalnog parazita mrene *P. laevis* izolovane su iz riba sakupljenih sa Dunava i fiksirane u 10% formaldehidu. Pre analize urađeni su uzdužni i poprečni preseći parazita koji su nakon toga osušeni i fiksirani na nosač uz pomoć dvostruko samolepljive trake, i nakon toga su prekriveni zlatom.

Analize su rađene na JEOL JSM-6610LV SEM instrumentu (Tokyo, Japan) opremljenom sa energo-disperzivnim detektorom X-zraka (X-Max Large Area Analytical Silicon Drift) povezanim sa sistemom INCA Energy 350 Microanalysis sa akceleratorskom voltažom od 25 kV.

3.9 Histološka analiza tkiva mrene

Za histološku analizu tkiva mrene izabrane su ribe iz Južne Morave i Dunava. Ukupno je analizirano 19 jedinki, 5 iz Južne Morave i 14 iz Dunava. Jedinke su sakupljene uz pomoć lokalnih ribolovaca u neposrednoj blizini lokacije uzorkovanja površinskog rečnog sedimenta. Nakon žrtvovanja jedinki brzim udarcem u glavu uzorkovane su škrge i jetra za dalju histološku analizu. Uzorci škrge sakupljeni su odmah nakon žrtvovanja ribe, i to drugi škržni luk, nakon uklanjanja levog operkuluma. Uzorci jetre sakupljeni su nakon pravljenja reza na ventralnoj strani ribe i pincetom su

preneseni na ohlađenu podlogu. Za pravljenje histoloških preseka za analizu na svetlosnom mikroskopu korišćen je protokol po Humasonu (1979). Uzorci tkiva su prvo fiksirani u 4% formaldehidu (Lach-Ner, Republika Češka), i nakon toga su smešteni u automatski procesor tkiva Leica TP 1020 (Leica, Nemačka), te su nakon toga sprovedeni kroz rastući gradijent etanola (70% – 2 x 30 minuta; 85% – 30 minuta; 95% – 30 minuta; 100% – 2 x 30 minuta), a nakon dehidracije, uzorci su inkubirani 2 x 30 minuta u ksilenu. Tkiva su zatim kalupljena u parafinu prethodno rastopljenom na temperaturi od 60 °C. Kalupi su postavljeni na plastične držače i zatim sečeni na mikrotomu SM 2000R (Leica, Nemačka). Nominalna debljina preseka je iznosila 5 µm. Nakon kratkog vremena u vodenom kupatilu (temperatura vode 40 °C), preseci su smešteni na mikroskopske pločice i bojani u automatizovanom centru za bojenje preparata ST 4040 (Leica, Nemačka). U radu je korišćen hematoksilin-eozin za histološko bojenje preseka, po metodi Bancroft i Stevens (1977). Histološki preseci škrge i jetre ocenjivani su semikvantitativnom analizom po metodi koju su dali Bernet i sar. (1999). Promene na organima klasifikovane su u 5 grupa (rp, *engl.* reaction pattern), a u okviru svake grupe, u zavisnosti od značaja, svaka promena dobija vrednost od 1 do 3 na osnovu koje se određuje faktor značajnosti:

1. cirkulatorne promene: hemoragije, hiperemije ili aneurizme (1) i intercelularni edem (1);
2. regresivne promene: strukturne promene na ćelijama (1), promene u citoplazmi (1), depoziti u ćelijama (1), promene na jedru (2), atrofija ćelije (2), nekroza ćelije (3);
3. progresivne promene: hipertrofije (1) i hiperplazije (2);
4. inflamatorne promene: pojava eksudata (1), aktivacija retikuloendotelnog sistema (1), infiltracija leukocita u tkivo (2);
5. neoplazije: prisustvo benignih (2) i malignih tumora (3) u organizmu.

Pored faktora značajnosti, određivan je i intenzitet zahvaćenosti za oba tkiva (a, *engl.* score value), koji ima vrednosti od 0 do 6: 0 (normalna morfologija), 2 (blaga promena tkiva), 4 (umerena promena tkiva) i 6 (ozbiljna alteracija tkiva). Množenjem ova dva faktora dobija se vrednost koja označava histopatološki skor za svaku kategoriju promena:

- za histopatološki indeks organa

$$I_{org} = \sum_{rp} \sum_{alt} a_{org rp alt} \cdot w_{org rp alt},$$

- za ukupni histopatološki indeks dva ispitivana organa

$$I_{org uk} = \sum_{org} \sum_{rp} \sum_{alt} a_{org rp alt} \cdot w_{org rp alt},$$

gde rp označava kategoriju histološke promene, org – organ (L – jetra, G – škrge), alt – vrsta histopatološke promene, a – vrsta promene, i w – faktor značajnosti.

3.10 Statistička obrada podataka

Za statističku obradu ukupne koncentracije elemenata u sedimentima tri reke korišćena je analiza glavnih komponenti (PCA – Principal Component Analysis) kako bi se utvrdila varijabilnost podataka. Za analizu su korišćene vrednosti koncentracija 15 elemenata u svakoj reci i svakoj sezoni, kao i vrednosti granulacije sedimenata. PCA je korišćena za predstavljanje rezultata i određivanje varijabilnosti dobijenih vrednosti. Proračuni su dobijeni korišćenjem Solo Version 7.0 (Eigenvector Inc., Chelan, WA, USA) softvera. Eksploratorne i deskriptivne analize podataka urađene su korišćenjem SPSS 13.0 softvera. Test homogenosti varijanse baziran je na Levenovoj statistici. Trofaktorska MANOVA je korišćena za testiranje razlika između koncentracija 15 elemenata (Al, As, B, Ba, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sr i Zn) u sedimentima 3 reke (Dunav, Zapadna Morava i Južna Morava), za 3 sezone (april, jul i novembar), i različite dubine (5, 10 i 15 cm) u ukupno 27 opservacija (9 sedimenata po reci, tri po sezoni). Dankanov test je korišćen za međusobno poređenje grupa. Dvofaktorska MANOVA je korišćena za testiranje razlika u koncentraciji dostupne frakcije elemenata u sedimentima tri reke i u četiri različita tkiva (mišići, škrge, crevo i jetra). Dankanov test je i ovde korišćen za poređenje grupa. Tamhaneov test je korišćen kad nisu pretpostavljene jednake varijanse između grupa. Značajne razlike u ocenjivanju histopatoloških uzoraka dobijeni su korišćenjem Mann-Whitney U-testa, s obzirom na nehomogenost varijanse podataka koje je utvrdilo korišćenje Levene-ovog testa.

4. REZULTATI

4.1 Granulometrijska analiza čestica sedimenta

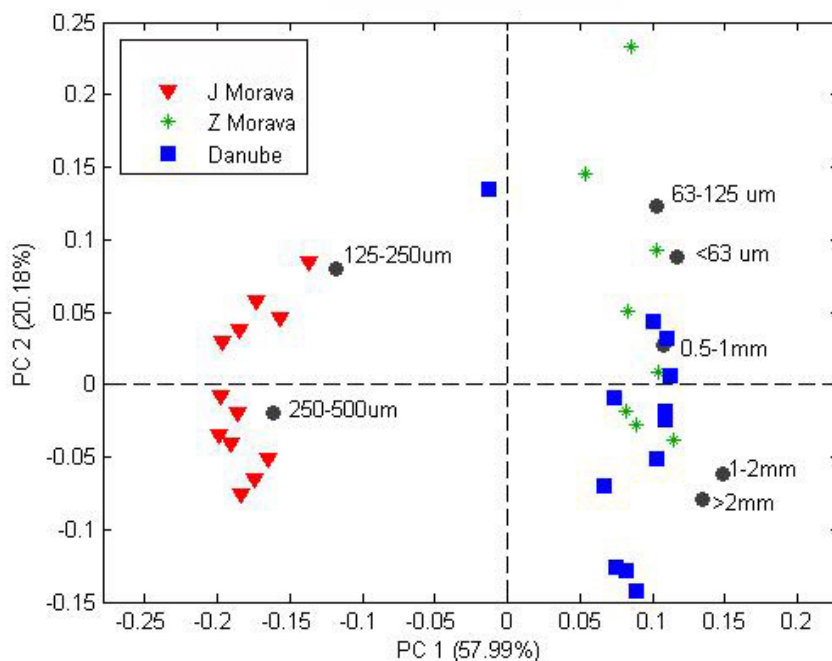
Distribucija čestica sedimenta po veličini bila je slična za sve tri dubine (0-5, 5-10, 10-15 cm) u sve tri reke (Tabela 3). Analiza sedimenta iz Južne Morave pokazala je da pesak srednje veličine čini 65%, vrlo fini pesak 22%, dok čestice >1 mm nisu pronađene. U sedimentu Dunava pronađene su čestice koje po veličini variraju od mulja do šljunka, najčešće u obliku grubog peska (17%) i vrlo grubog peska (22%). Jednosmerna MANOVA je pokazala postojanje značajnih razlika u veličini čestica sedimenta između tri analizirane reke ($F=26.022$, $P<0.001$). Najveći procenat čestica u sedimentu Zapadne Morave čine glina (13%) i jako sitni pesak (13%). Sediment Zapadne Morave je u odnosu na Dunav i Južnu Moravu sadržao najveću količinu gline. Sediment Južne Morave je sadržao značajno veću količinu sitnog i srednjeg peska u odnosu na ostale dve reke, ali i najmanju količinu gline i jako sitnog peska (Tabela 4).

Tabela 4. Procenat određene frakcije (%) čestica sedimenta Dunava, Zapadne Morave i Južne Morave. Vrednosti u tabeli su prikazane kao srednje vrednosti \pm standardna devijacija. Vrednosti označene različitim slovima (a, b, c) u istoj koloni značajno su različite (Dankanov test, $P < 0.05$).

REKA	Dunav	Zapadna Morava	Južna Morava
Veličina čestice	srednja vrednost \pm standardna devijacija (%)		
< 63 μm (mulj)	9.39 \pm 7.00 ^a	13.23 \pm 3.06 ^b	2.21 \pm 1.75 ^c
63-125 μm (jako fini pesak)	9.25 \pm 3.42 ^a	12.55 \pm 5.44 ^a	4.15 \pm 2.64 ^b
125-250 μm (fini pesak)	9.99 \pm 7.79 ^a	8.82 \pm 4.02 ^a	22.39 \pm 9.62 ^b
250-500 μm (srednji pesak)	9.79 \pm 2.41 ^a	11.19 \pm 2.90 ^a	64.32 \pm 13.66 ^b
0.5-1 mm (grubi pesak)	16.62 \pm 5.23 ^a	19.76 \pm 9.01 ^a	6.94 \pm 3.99 ^b
1-2 mm (jako grubi pesak)	21.54 \pm 5.06 ^a	15.84 \pm 6.07 ^b	n.d.
>2 mm (šljunak)	23.43 \pm 9.63 ^a	18.61 \pm 11.65 ^a	n.d.

n.d. – nije detektovano

PCA analiza granulometrijskog sastava sve tri analizirane reke jasno je odvojila Južnu Moravu od Zapadne Morave i Dunava, čiji je granulometrijski profil donekle sličan (Slika 8).

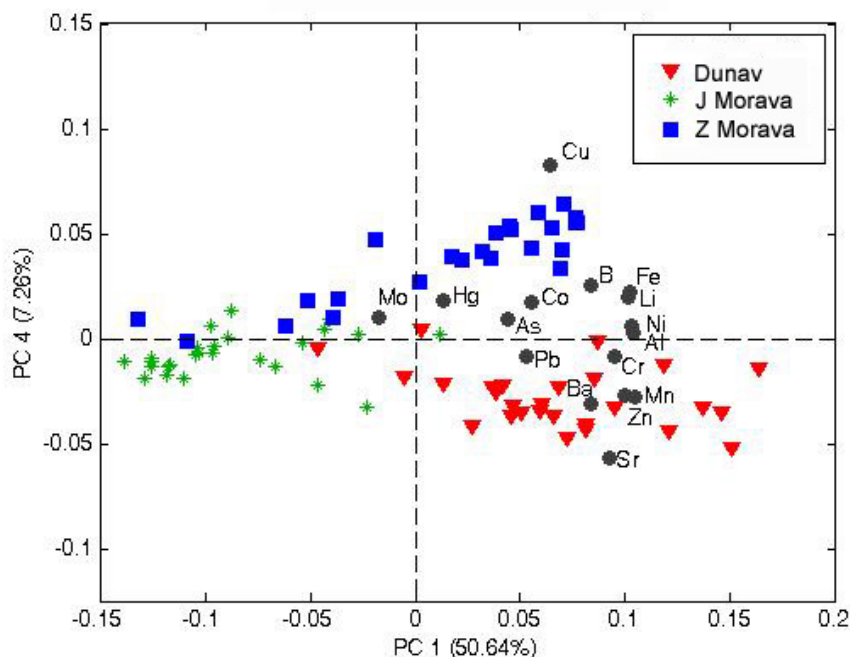


Slika 8. PCA grafik granulometrijske analize veličine čestica sedimenta Dunava, Zapadne Morave i Južne Morave.

4.2 Ukupna koncentracija elemenata u površinskim rečnim sedimentima

Prosečna ukupna koncentracija elemenata tokom tri sezone značajno je varirala upoređujući sve tri reke (Tabela 5). U površinskim sedimentima Dunava izmerene su najveće koncentracije Pb i Ba, dok su u sedimentima Dunava i Zapadne Morave koncentracije Fe, Co i B bile veće u odnosu na Južnu Moravu. Sve tri reke razlikovale su se međusobno po koncentraciji Al, Cr, Cu, Ni, Zn, Mn i Sr po sledećem redosledu: Dunav > Zapadna Morava > Južna Morava, osim za koncentraciju Cu koja je bila najveća u Zapadnoj Moravi. Prosečne koncentracije Hg i Mo bile su slične za sve tri reke (Tabela 5). PCA pokazuje da se sedimenti mogu grupisati na osnovu koncentracije analiziranih elemenata (Slika 9). Za sediment Dunava karakteristične su povećane

količine Pb, Zn, Ba, Mn, Cr, Ni, Al i Sr, za Zapadnu Moravu povećane koncentracije Cu, dok je Južna Morava je izdvojena kao najmanje zagađena reka.



Slika 9. PCA elemenata u sedimentu ispitivanih reka.

Koncentracija Ni u Dunavu i Zapadnoj Moravi u sva tri perioda uzorkovanja bila je veća od maksimalno dozvoljenih koncentracija određenih Nacionalnim standardom Republike Srbije (Tabela 5), koje su izdate u Nacionalnoj regulativi graničnih vrednosti metala u rečnim sedimentima Republike Srbije (2014). Koncentracija Hg bila je veća od maksimalno dozvoljenih vrednosti u sve tri reke, dok je koncentracija Cu u Zapadnoj Moravi bila veća od maksimalno dozvoljene koncentracije u sva tri perioda uzorkovanja. Koncentracije As, Cr, Pb i Zn bile su u granicama dozvoljenih koncentracija.

Trenutno ne postoji regulativa u Republici Srbiji koja određuje maksimalno dozvoljene koncentracije metala u rečnim sedimentima za ostale metale i elemente.

Tabela 5. Ukupna koncentracija elemenata (mg kg^{-1}) u sedimentima Dunava, Zapadne Morave i Južne Morave (srednja vrednost \pm standardna devijacija). Vrednosti obeležene različitim slovima (a, b, c) u istom redu se značajno razlikuju (Dankanov ili Tamhaneov test, $P < 0.05$).

Reka	Dunav	Zapadna Morava	Južna Morava	MDK (mg kg^{-1})
Element	srednja vrednost \pm standardna devijacija (mg kg^{-1})			
Al	10591.31 \pm 3521.31 ^a	8328.17 \pm 3344.92 ^b	3851.72 \pm 1529.14 ^c	n.d.
As	21.58 \pm 16.65 ^a	16.33 \pm 5.84 ^{a,b}	11.08 \pm 11.70 ^b	42
B	118.92 \pm 39.85 ^a	113.82 \pm 43.78 ^a	75.58 \pm 46.28 ^b	n.d.
Ba	128.09 \pm 34.95 ^a	66.57 \pm 40.37 ^b	61.09 \pm 46.62 ^b	n.d.
Co	15.61 \pm 7.23 ^a	14.40 \pm 11.62 ^a	8.83 \pm 8.43 ^b	n.d.
Cr	101.57 \pm 40.78 ^a	80.34 \pm 31.40 ^b	22.99 \pm 10.48 ^c	240
Cu	65.04 \pm 39.28 ^a	188.57 \pm 98.22 ^b	10.53 \pm 5.35 ^c	110
Fe	23064.12 \pm 6128.92 ^a	23237.56 \pm 6557.87 ^a	9400.78 \pm 3365.68 ^b	n.d.
Hg	16.67 \pm 10.00	14.48 \pm 8.64	18.76 \pm 15.95	1.6
Mn	626.07 \pm 210.84 ^a	418.42 \pm 153.00 ^b	272.96 \pm 119.70 ^c	n.d.
Mo	19.48 \pm 20.02	32.18 \pm 77.00	20.10 \pm 32.84	n.d.
Ni	108.52 \pm 22.01 ^a	92.67 \pm 20.96 ^b	27.75 \pm 20.97 ^c	44
Pb	90.09 \pm 44.38 ^a	50.14 \pm 67.04 ^b	38.98 \pm 53.47 ^b	310
Sr	95.13 \pm 32.27 ^a	36.95 \pm 13.43 ^b	22.53 \pm 12.61 ^c	n.d.
Zn	250.86 \pm 80.82 ^a	143.33 \pm 56.36 ^b	47.36 \pm 17.98 ^c	430

MDK – maksimalne dozvoljene koncentracije definisane Nacionalnom regulativom za granične vrednosti metala u rečnim sedimentima Republike Srbije (Nacionalna regulativa graničnih vrednosti metala u rečnim sedimentima Republike Srbije (2014))

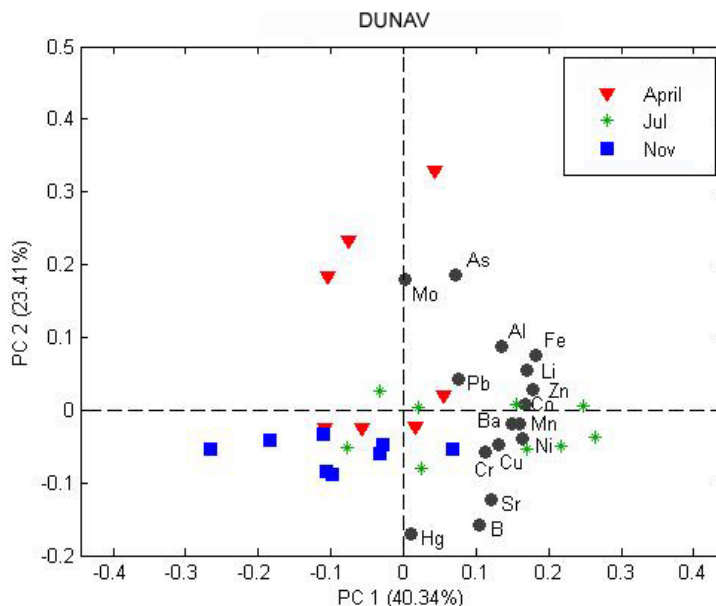
n.d. – nije detektovano

Tokom sve tri sezone koncentracije Al, Cr, Fe, Ni i Zn u Dunavu i Zapadnoj Moravi bile su veće u odnosu na Južnu Moravu (Tabela 6).

Tabela 6. Ukupna koncentracija elemenata u sedimentima Dunava, Zapadne Morave i Južne Morave u tri sezone (srednja vrednost \pm standardna devijacija). Vrednosti označene različitim slovima (a,b,c) u istoj koloni za jednu reku su značajno različite (Dankanov ili Tamhaneov test, $P < 0.05$). Slova označena masnim fontom ukazuju na Tamhaneov test. Sve vrednosti su izražene u (mg kg^{-1}) osim Al i Fe (g kg^{-1}).

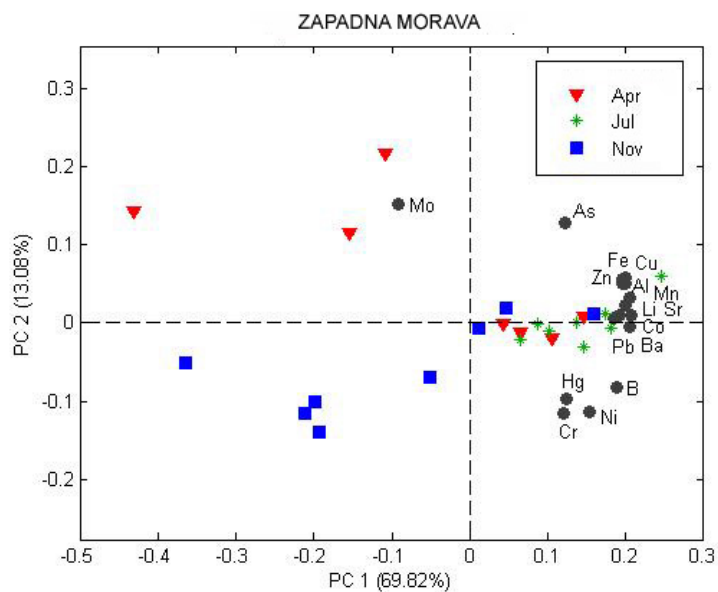
Reka	DUNAV			ZAPADNA MORAVA			JUŽNA MORAVA		
Element	APRIL	JUL	NOVEMBAR	APRIL	JUL	NOVEMBAR	APRIL	JUL	NOVEMBAR
Al (g kg^{-1})	11.7 \pm 4.7 ^{a,b}	11.7 \pm 2.7 ^a	8.2 \pm 1.9 ^b	8.4 \pm 3.1 ^{a,b}	10.2 \pm 1.9 ^b	6.1 \pm 3.5 ^a	4.4 \pm 1.1 ^a	2.7 \pm 8.1 ^b	4.7 \pm 1.9 ^a
As (mg kg^{-1})	32.3 \pm 25.4	17.9 \pm 3.9	14.5 \pm 6.6	17.7 \pm 5.0 ^a	19.0 \pm 5.3 ^a	11.9 \pm 4.3 ^b	16.2 \pm 12.1 ^a	3.2 \pm 2.1 ^b	14.0 \pm 13.8 ^{a,b}
B (mg kg^{-1})	106.7 \pm 63.1	133.0 \pm 24.4	117.1 \pm 13.7	89.1 \pm 59.0 ^{a,b}	142.3 \pm 15.9 ^a	103.2 \pm 31.0 ^b	66.3 \pm 57.0	72.5 \pm 51.1	89.3 \pm 24.6
Ba (mg kg^{-1})	135.3 \pm 42.2 ^{a,b}	147.4 \pm 22.0 ^a	101.6 \pm 21.0 ^b	54.0 \pm 30.3 ^a	94.5 \pm 93.0 ^b	46.0 \pm 23.9 ^a	71.6 \pm 57.0	32.6 \pm 9.4	81.2 \pm 47.9
Co (mg kg^{-1})	18.4 \pm 11.5	14.6 \pm 2.1	13.8 \pm 4.5	11.0 \pm 3.7	20.4 \pm 16.9	10.4 \pm 2.9	10.7 \pm 9.8	4.5 \pm 1.3	11.5 \pm 10.2
Cr (mg kg^{-1})	82.0 \pm 30.9 ^a	126.7 \pm 30.1 ^b	96.1 \pm 48.6 ^{a,b}	61.9 \pm 32.7	91.4 \pm 20.6	84.0 \pm 34.4	19.3 \pm 10.1	25.3 \pm 7.5	24.3 \pm 13.4
Cu (mg kg^{-1})	41.0 \pm 12.0 ^a	104.2 \pm 43.9 ^b	49.9 \pm 17.7 ^a	178.4 \pm 75.6 ^{a,b}	259.3 \pm 39.1 ^a	124.0 \pm 112.7 ^b	11.1 \pm 5.5	7.3 \pm 2.3	13.4 \pm 6.1
Fe (g kg^{-1})	23.5 \pm 7.4 ^{a,b}	26.1 \pm 3.8 ^b	19.5 \pm 5.2 ^a	23.7 \pm 6.3 ^{a,b}	26.5 \pm 3.9 ^a	19.1 \pm 7.0 ^b	10.8 \pm 2.5 ^a	6.8 \pm 1.7 ^b	10.5 \pm 4.1 ^{a,b}
Hg (mg kg^{-1})	16.3 \pm 14.6	14.5 \pm 6.0	19.3 \pm 8.0	9.7 \pm 9.1 ^a	20.0 \pm 7.6 ^b	12.3 \pm 6.0 ^{a,b}	18.3 \pm 18.3	17.6 \pm 16.2	20.5 \pm 14.6
Mn(mg kg^{-1})	625.4 \pm 256.7	739.9 \pm 152.5	513.00 \pm 162.4	416.7 \pm 148.7 ^{a,b}	515.1 \pm 81.7 ^a	311.1 \pm 148.6 ^b	283.3 \pm 62.0 ^a	186.5 \pm 47.2 ^b	358.6 \pm 161.5 ^{a,b}
Mo (mg kg^{-1})	30.2 \pm 31.3	14.6 \pm 8.4	13.7 \pm 7.8	86.2 \pm 130.2	11.8 \pm 6.7	7.8 \pm 5.3	34.9 \pm 52.3	11.1 \pm 11.5	13.3 \pm 12.4
Ni (mg kg^{-1})	108.5 \pm 19.6	117.7 \pm 24.9	99.4 \pm 19.5	79.7 \pm 25.4 ^a	102.9 \pm 12.4 ^b	92.3 \pm 18.5 ^{a,b}	29.0 \pm 24.6	21.1 \pm 8.2	33.7 \pm 26.4
Pb (mg kg^{-1})	104.6 \pm 75.2	86.4 \pm 14.1	79.3 \pm 13.0	30.3 \pm 18.1	84.9 \pm 98.6	28.2 \pm 14.7	45.9 \pm 64.1	18.3 \pm 7.8	54.3 \pm 67.5
Sr (mg kg^{-1})	65.6 \pm 20.6 ^a	121.8 \pm 14.8 ^b	97.9 \pm 30.9 ^c	35.2 \pm 14.0 ^{a,b}	45.3 \pm 5.3 ^a	28.9 \pm 13.7 ^b	20.5 \pm 6.9	16.6 \pm 5.5	31.3 \pm 18.4
Zn (mg kg^{-1})	229.9 \pm 74.7 ^a	325.7 \pm 49.8 ^b	197.0 \pm 55.8 ^c	142.6 \pm 43.0 ^{a,b}	177.9 \pm 33.2 ^a	104.9 \pm 63.0 ^b	55.2 \pm 14.7 ^a	32.2 \pm 9.0 ^b	55.4 \pm 19.0 ^a

PCA je pokazala različito grupisanje elemenata po sezonama u Dunavu (Slika 10), a najveće koncentracije zabeležene su u julu (Tabela 6).



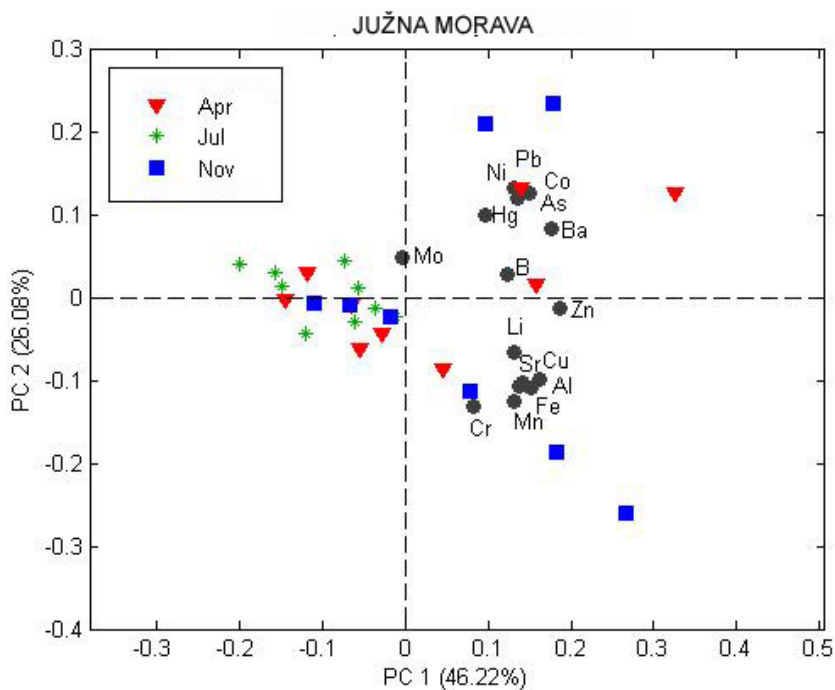
Slika 10. PCA elemenata u sedimentu Dunava za sve tri sezone uzorkovanja.

Grupisanje Al, As, B, Ba, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Sr i Zn po sezonama primećene su i u sedimentu Zapadne Morave (Slika 11), a najveće koncentracije izmerene su u julu (Tabela 6).



Slika 11. PCA elemenata u sedimentu Zapadne Morave za sve tri sezone uzorkovanja.

U Južnoj Moravi Al, As, Fe, Mn, i Zn su se različito grupisali u odnosu na sezonu uzorkovanja (Slika 12), a povišene koncentracije elemenata zabeležene su u aprilu i novembru u odnosu na jul (Tabela 6).



Slika 12. PCA elemenata u sedimentu Južne Morave za sve tri sezone uzorkovanja.

Statistička analiza ukupne koncentracije elemenata u sedimentu sve tri reke po dubini (MANOVA; dubina, $F=1.555$, $P=0.058$; reka x dubina, $F=0.855$, $P=0.777$; sezona x dubina, $F=1.163$, $P=0.222$) pokazala je da dubina nije bila značajni faktor (Tabela 7).

Tabela 7. Koncentracija elemenata na različitim dubinama sedimenta za sve tri analizirane reke. Vrednosti predstavljaju srednju vrednost \pm standardna devijacija.

Dubina (cm)	0-5	5-10	10-15
Element	Srednja vrednost \pm standardna devijacija (mg kg ⁻¹)		
Al	7729.7 \pm 4182.5	6798.8 \pm 3281.6	8292.5 \pm 4602.0
As	16.3 \pm 10.2	14.32 \pm 9.87	18.4 \pm 17.7
B	108.8 \pm 49.7	100.6 \pm 42.6	98.0 \pm 48.4
Ba	82.8 \pm 52.6	91.5 \pm 53.6	84.8 \pm 46.9
Co	12.1 \pm 6.9	13.7 \pm 12.5	12.9 \pm 8.4
Cr	69.5 \pm 44.0	66.2 \pm 45.7	69.2 \pm 47.2
Cu	78.6 \pm 91.9	70.1 \pm 80.8	109.2 \pm 108.1
Fe	18869.8 \pm 8827.4	17329.0 \pm 7219.6	19285.6 \pm 9433.3
Hg	17.9 \pm 12.6	17.1 \pm 11.9	14.9 \pm 11.5
Mn	459.3 \pm 256.1	445.0 \pm 211.3	420.6 \pm 194.1
Mo	22.8 \pm 35.8	25.9 \pm 53.6	22.2 \pm 53.4
Ni	75.8 \pm 43.0	75.6 \pm 43.6	77.4 \pm 38.1
Pb	50.6 \pm 37.0	66.0 \pm 71.6	65.1 \pm 63.6
Sr	53.0 \pm 40.6	52.9 \pm 38.9	51.4 \pm 37.5
Zn	148.0 \pm 112.8	142.2 \pm 95.7	155.6 \pm 100.8

4.3 Dostupna frakcija elemenata u sedimentu

Srednja vrednost koncentracija elemenata u dostupnoj frakciji značajno varira između reka (Tabela 8). U sedimentima Zapadne Morave izmerene su veće koncentracije Co i Cu u poređenju sa Dunavom i Južnom Moravom. Pored toga sedimenti Dunava i Zapadne Morave sadržali su veće koncentracije As, B, Cr, Mn, Mo, Ni i Zn u poređenju sa Južnom Moravom. Srednje vrednosti koncentracija Ba, Se i Sr bile su slične između sve tri reke. Srednja vrednost koncentracije Hg bila je slična za Dunav i Južnu Moravu, dok Hg nije detektovana u Zapadnoj Moravi. Najveća koncentracija Pb izmerena je u Dunavu (Tabela 8).

Tabela 8. Dostupne koncentracije elemenata u sedimentima sve tri reke u sve tri sezone i ukupna srednja vrednost (srednja vrednost \pm standardna greška). Sve vrednosti su u mg kg⁻¹; vrednosti obeležene različitim slovima u istom redu (a, b, c) su značajno različite (Dankanov ili Tamhaneov test, P < 0.05). Meseci obeleženi sa * ukazuju na Tamhaneov test.

Element (mg kg ⁻¹)	Sezona	Dunav	Zapadna Morava	Južna Morava
Al	APRIL	0.44 \pm 0.13	6.99 \pm 2.57	5.66 \pm 9.54
	JUL	0.29 \pm 0.32 ^a	1.14 \pm 0.30 ^b	0.92 \pm 0.44 ^b
	NOVEMBAR*	0.53 \pm 0.34 ^a	1.39 \pm 0.26 ^b	0.41 \pm 0.25 ^a
	UKUPNO	0.39 \pm 0.31 ^a	2.48 \pm 2.65 ^b	2.52 \pm 6.09 ^b
As	APRIL	0.90 \pm 0.27 ^{ab}	1.47 \pm 0.33 ^b	0.67 \pm 0.82 ^a
	JUL	0.28 \pm 0.20 ^b	0.31 \pm 0.16 ^b	0.08 \pm 0.05 ^a
	NOVEMBAR	0.41 \pm 0.25 ^b	0.26 \pm 0.12 ^{ab}	0.13 \pm 0.06 ^a
	UKUPNO	0.45 \pm 0.33 ^{ab}	0.54 \pm 0.53 ^b	0.30 \pm 0.55 ^a
B	APRIL	3.40 \pm 0.85 ^b	8.47 \pm 2.40 ^c	0.64 \pm 0.85 ^a
	JUL	2.04 \pm 1.06 ^b	2.50 \pm 0.97 ^b	0.18 \pm 0.11 ^a
	NOVEMBAR	2.50 \pm 1.11 ^b	2.21 \pm 1.53 ^b	0.62 \pm 0.69 ^a
	UKUPNO	2.47 \pm 1.14 ^b	3.68 \pm 2.96 ^c	0.45 \pm 0.63 ^a
Ba	APRIL	2.94 \pm 1.05	4.59 \pm 1.57	11.22 \pm 11.20
	JUL	3.16 \pm 2.03 ^b	1.88 \pm 0.79 ^a	1.77 \pm 0.91 ^a
	NOVEMBAR	3.87 \pm 1.28 ^b	1.21 \pm 0.58 ^a	3.31 \pm 2.10 ^b
	UKUPNO	3.30 \pm 1.67 ^{ab}	2.22 \pm 1.58 ^a	5.52 \pm 8.35 ^b
Cd	APRIL	0.83 \pm 0.30 ^b	0.69 \pm 0.20 ^b	0.001 \pm 0.005 ^a
	JUL	0.57 \pm 0.34 ^b	0.68 \pm 0.27 ^b	0.005 \pm 0.01 ^a
	NOVEMBAR	0.86 \pm 0.24 ^c	0.37 \pm 0.36 ^b	0.07 \pm 0.11 ^a
	UKUPNO	0.71 \pm 0.33 ^c	0.57 \pm 0.32 ^b	0.02 \pm 0.06 ^a
Co	APRIL	1.78 \pm 0.43 ^b	5.34 \pm 0.99 ^c	0.80 \pm 0.80 ^a
	JUL	1.81 \pm 1.31 ^b	1.94 \pm 0.60 ^b	0.12 \pm 0.06 ^a
	NOVEMBAR	1.22 \pm 0.71 ^b	1.43 \pm 1.00 ^b	0.35 \pm 0.36 ^a
	UKUPNO	1.64 \pm 1.03 ^b	2.49 \pm 1.74 ^c	0.42 \pm 0.58 ^a
Cr	APRIL	2.37 \pm 0.63 ^b	6.30 \pm 0.77 ^c	0.47 \pm 0.60 ^a
	JUL	1.15 \pm 0.87 ^b	1.28 \pm 0.96 ^b	0.03 \pm 0.03 ^a
	NOVEMBAR	2.16 \pm 1.06 ^c	1.27 \pm 1.07 ^b	0.14 \pm 0.17 ^a
	UKUPNO	1.70 \pm 1.03 ^b	2.35 \pm 2.30 ^c	0.21 \pm 0.41 ^a
Cu	APRIL	59.26 \pm 12.81 ^a	516.79 \pm 103.71 ^b	11.76 \pm 12.25 ^a
	JUL	63.50 \pm 41.63 ^b	284.90 \pm 126.45 ^c	1.94 \pm 0.94 ^a
	NOVEMBAR	43.50 \pm 21.05 ^b	154.97 \pm 55.45 ^c	3.64 \pm 4.54 ^a
	UKUPNO	57.00 \pm 32.61 ^b	288.19 \pm 166.50 ^c	5.87 \pm 8.75 ^a
Hg	APRIL	0.012 \pm 0.025	n.d.	0.019 \pm 0.049
	JUL	n.d.	0.002 \pm 0.006	0.003 \pm 0.004
	NOVEMBAR	n.d.	n.d.	0.001 \pm 0.003
	UKUPNO	0.003 \pm 0.012	0.001 \pm 0.004	0.008 \pm 0.030

Mn		501.30 ±		
	APRIL*	130.86 ^c	368.57 ± 98.79 ^b	136.47 ± 75.43 ^a
	JUL*	193.83 ± 56.20 ^b	236.75 ± 104.76 ^b	74.61 ± 44.69 ^a
	NOVEMBAR	120.98 ± 24.30 ^b	89.69 ± 62.88 ^{ab}	61.94 ± 55.52 ^a
	UKUPNO	241.92 ± 160.80 ^b	212.48 ± 137.32 ^b	94.13 ± 66.58 ^a
Mo	APRIL	0.54 ± 0.11 ^b	0.64 ± 0.24 ^b	0.14 ± 0.13 ^a
	JUL	0.48 ± 0.26 ^b	0.43 ± 0.38 ^b	0.14 ± 0.30 ^a
	NOVEMBAR	0.27 ± 0.11 ^b	0.13 ± 0.08 ^a	0.05 ± 0.04 ^a
	UKUPNO	0.44 ± 0.22 ^b	0.37 ± 0.33 ^b	0.12 ± 0.20 ^a
Ni	APRIL	11.91 ± 2.58 ^b	33.21 ± 6.77 ^c	1.73 ± 1.42 ^a
	JUL	11.94 ± 8.84 ^b	11.74 ± 3.92 ^b	0.32 ± 0.23 ^a
	NOVEMBAR	8.80 ± 5.22 ^b	9.12 ± 7.08 ^b	0.75 ± 0.97 ^a
	UKUPNO	11.06 ± 6.95 ^b	15.40 ± 11.07 ^c	0.92 ± 1.14 ^a
Pb	APRIL*	61.10 ± 14.10 ^b	51.46 ± 11.27 ^b	25.52 ± 29.84 ^a
	JUL	75.04 ± 38.90 ^b	18.03 ± 7.20 ^a	6.40 ± 4.54 ^a
	NOVEMBAR	91.90 ± 22.34 ^b	12.32 ± 9.03 ^a	5.27 ± 2.83 ^a
	UKUPNO	76.62 ± 32.04 ^b	23.15 ± 17.47 ^a	13.05 ± 20.14 ^a
Se	APRIL	0.19 ± 0.08	0.19 ± 0.09	0.27 ± 0.37
	JUL	0.09 ± 0.07 ^b	0.10 ± 0.04 ^b	0.02 ± 0.02 ^a
	NOVEMBAR*	0.05 ± 0.04	0.02 ± 0.02	0.04 ± 0.04
	UKUPNO	0.10 ± 0.08	0.09 ± 0.08	0.11 ± 0.25
Sr	APRIL	10.61 ± 2.50	15.59 ± 4.47	22.87 ± 24.61
	JUL	7.90 ± 4.00 ^b	7.70 ± 3.12 ^b	3.99 ± 1.00 ^a
	NOVEMBAR*	10.04 ± 3.89 ^b	4.61 ± 2.73 ^{ab}	7.72 ± 5.57 ^a
	UKUPNO	9.09 ± 3.80	8.29 ± 5.21	11.64 ± 17.02
Zn	APRIL	77.04 ± 21.30 ^b	189.23 ± 40.99 ^c	16.85 ± 16.22 ^a
	JUL	75.06 ± 48.26 ^b	99.97 ± 42.29 ^b	3.17 ± 1.21 ^a
	NOVEMBAR	97.63 ± 45.40 ^b	59.69 ± 47.86 ^b	7.52 ± 9.73 ^a
	UKUPNO	81.77 ± 43.04 ^b	104.71 ± 64.43 ^c	9.08 ± 12.15 ^a

Statistički testovi su pokazali postojanje značajne razlike između Dunava i ostale dve reke u koncentracijama Co, Cu i Pb u sedimentu. Najveća koncentracija Al, As, Cu, Mn, Mo i Se izmerena je u aprilu u sve tri reke. Zapadna Morava i Južna Morava imale su najveće koncentracije Ba, Co, Ni, Pb, Sr i Zn u aprilu, dok u Dunavu nisu primećene statistički značajne sezonske promene u koncentraciji elemenata.

4.4. Koncentracija elemenata u tkivima mrene

Koncentracije elemenata u različitim tkivima mrene (mišići, škrge, crevo i jetra) iz Dunava, Zapadne Morave i Južne Morave prikazane su u Tabeli 9. Interakcija faktora (reka x tkivo) pokazala je statistički značajne efekte za koncentracije Ba, Cr, Cu, Ni, Se, Sr i Zn ($P < 0.05$). Koncentracija As značajno je varirala između uzoraka mišića ($P < 0.05$). Koncentracija As bila je značajno veća u mišićima mrene iz Dunava u odnosu na Zapadnu i Južnu Moravu. Pored toga, u crevima i jetri mrene iz Dunava izmerene su značajno veće koncentracije Se u odnosu na jedinke iz druge dve reke. Koncentracije Ba i Sr u škragama, Cr i Sr u jetri i Sr u mišićima bile su značajno veće u mreni iz Južne Morave u odnosu na Dunav i Zapadnu Moravu. U jedinkama sa Zapadne Morave izmerene su značajno veće koncentracije Cu u crevu, Ni u jetri i Zn u mišiću u poređenju sa jedinkama iz druge dve reke.

Tabela 9. Koncentracija elemenata (srednja vrednost \pm standardna greška) u različitim tkivima mrene uzorkovane u Dunavu, Zapadnoj Moravi i Južnoj Moravi. Koncentracije su izražene u $\mu\text{g g}^{-1}$ suve mase; ND ukazuje na vrednosti niže od nivoa detekcije. Vrednosti obeležene različitim slovima u istom redu (a, b, c) značajno su različite (Dankanov test, $P < 0.05$).

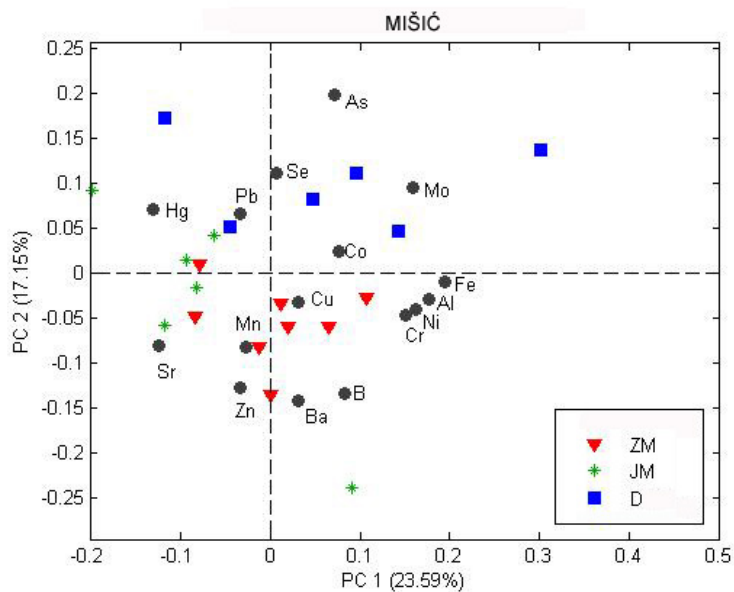
Element	Tkivo	Dunav	Zapadna Morava	Južna Morava
Al	mišići	64.08 \pm 23.01	11.89 \pm 2.87	42.73 \pm 24.29
	škrge	63.45 \pm 15.92	73.43 \pm 10.16	71.59 \pm 14.96
	crevo	67.15 \pm 31.55	56.62 \pm 33.10	108.50 \pm 44.45
	jetra	27.48 \pm 20.76	16.79 \pm 4.61	53.77 \pm 26.89
As	mišići	1.57 \pm 0.12 ^b	0.94 \pm 0.21 ^a	0.71 \pm 0.20 ^a
	škrge	0.85 \pm 0.15	0.33 \pm 0.12	0.62 \pm 0.21
	crevo	1.80 \pm 0.16	1.74 \pm 0.16	1.33 \pm 0.21
	jetra	1.74 \pm 0.15	1.51 \pm 0.15	1.38 \pm 0.56
B	mišići	0.04 \pm 0.04	0.05 \pm 0.05	0.12 \pm 0.12
	škrge	0.68 \pm 0.25	0.56 \pm 0.31	1.29 \pm 0.21
	crevo	ND	0.07 \pm 0.07	0.05 \pm 0.05
	jetra	0.15 \pm 0.15	0.20 \pm 0.20	3.06 \pm 3.06
Ba	mišići	1.34 \pm 0.83	2.09 \pm 0.74	2.45 \pm 0.80
	škrge	25.34 \pm 2.20 ^a	14.41 \pm 1.90 ^a	41.84 \pm 8.07 ^b
	crevo	0.89 \pm 0.59	0.55 \pm 0.09	1.35 \pm 0.60
	jetra	2.66 \pm 0.99	2.97 \pm 1.09	0.74 \pm 0.23
Co	mišići	0.09 \pm 0.03	0.06 \pm 0.01	0.05 \pm 0.02
	škrge	0.08 \pm 0.02	0.09 \pm 0.01	0.13 \pm 0.02
	crevo	0.14 \pm 0.04	0.30 \pm 0.11	0.15 \pm 0.05
	jetra	0.09 \pm 0.03	0.43 \pm 0.30	0.12 \pm 0.07

Cr	mišići	0.41 ± 0.06	0.44 ± 0.06	0.36 ± 0.04
	škrge	0.64 ± 0.06 ^{ab}	0.55 ± 0.07 ^a	0.88 ± 0.11 ^b
	crevo	0.57 ± 0.06	0.70 ± 0.08	0.81 ± 0.21
	jetra	0.37 ± 0.07 ^a	0.67 ± 0.18 ^a	1.42 ± 0.33 ^b
Cu	mišići	1.90 ± 0.31	1.92 ± 0.12	1.72 ± 0.16
	škrge	2.68 ± 0.14	3.62 ± 0.39	3.25 ± 0.19
	crevo	5.81 ± 0.89 ^a	25.50 ± 7.47 ^b	5.33 ± 1.33 ^a
	jetra	25.85 ± 6.87	67.79 ± 20.89	19.75 ± 4.36
Hg	mišići	0.27 ± 0.23	0.11 ± 0.04	0.37 ± 0.08
	škrge	0.02 ± 0.02	ND	ND
	crevo	ND	ND	ND
	jetra	0.09 ± 0.09	ND	ND
Mn	mišići	0.90 ± 0.16	1.20 ± 0.29	1.24 ± 0.23
	škrge	18.40 ± 3.43	32.18 ± 5.05	36.69 ± 9.09
	crevo	1.41 ± 0.33	5.50 ± 1.77	11.12 ± 9.80
	jetra	1.28 ± 0.49	2.29 ± 0.84	2.40 ± 0.22
Mo	mišići	0.18 ± 0.05	0.13 ± 0.08	0.01 ± 0.01
	škrge	0.09 ± 0.04	0.14 ± 0.04	0.14 ± 0.06
	crevo	0.30 ± 0.13	0.04 ± 0.02	0.14 ± 0.05
	jetra	0.36 ± 0.09	0.27 ± 0.08	0.42 ± 0.14
Ni	mišići	0.19 ± 0.04	0.15 ± 0.03	0.11 ± 0.02
	škrge	0.22 ± 0.03	0.28 ± 0.05	0.22 ± 0.06
	crevo	0.33 ± 0.09	0.71 ± 0.15	0.42 ± 0.13
	jetra	0.16 ± 0.06 ^a	0.59 ± 0.10 ^b	0.41 ± 0.13 ^{ab}
Pb	mišići	0.11 ± 0.11	0.09 ± 0.09	0.17 ± 0.17
	škrge	ND	ND	ND
	crevo	0.37 ± 0.16	0.37 ± 0.23	0.63 ± 0.17
	jetra	0.12 ± 0.12	0.36 ± 0.24	ND
Se	mišići	0.54 ± 0.19	0.32 ± 0.07	0.63 ± 0.24
	škrge	1.05 ± 0.10 ^b	0.67 ± 0.08 ^a	1.08 ± 0.12 ^b
	crevo	2.02 ± 0.40 ^b	0.70 ± 0.20 ^a	1.01 ± 0.16 ^a
	jetra	2.22 ± 0.40 ^b	0.76 ± 0.27 ^a	0.55 ± 0.33 ^a
Sr	mišići	0.81 ± 0.32 ^a	2.33 ± 0.55 ^a	5.84 ± 0.84 ^b
	škrge	68.00 ± 12.44 ^a	69.86 ± 5.98 ^a	107.80 ± 7.94 ^b
	crevo	1.05 ± 0.33	0.29 ± 0.05	1.05 ± 0.31
	jetra	0.32 ± 0.11 ^a	0.28 ± 0.07 ^a	1.05 ± 0.33 ^b
Zn	mišići	18.37 ± 3.03 ^a	30.09 ± 1.92 ^b	24.86 ± 2.76 ^a
	škrge	68.33 ± 2.23	71.31 ± 2.84	73.87 ± 2.17
	crevo	49.76 ± 7.06	25.97 ± 1.36	34.09 ± 7.53
	jetra	59.50 ± 11.96	52.67 ± 10.19	42.78 ± 11.77

Razlike između tri ispitivane reke u koncentracijama Al, B, Co, Mn, Mo i Pb u analiziranim tkivima mrene nisu bile statistički značajne. Koncentracije B, Hg i Pb bile su ispod nivoa detekcije u nekim uzorcima.

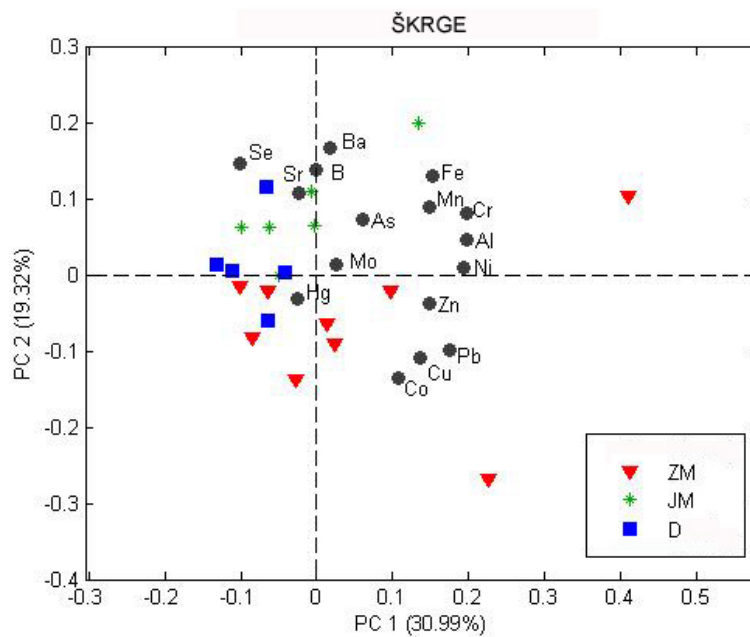
Na Slici 13 prikazana je PCA grupisanja jedinki mrene po elementa u mišiću. Jedinke iz Dunava grupišu se po većim vrednostima As i Se, jedinke iz Južne Morave

po višim vrednostima Sr, a jedinke iz Zapadne Morave po većoj vrednosti Zn u mišićima.



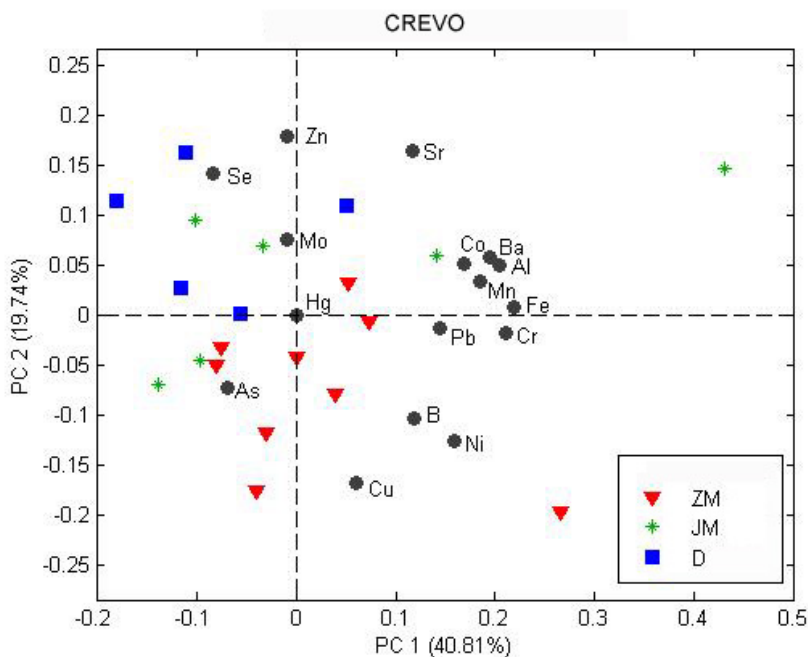
Slika 13. PCA elemenata u mišiću mrene.

Na Slici 14 prikazana je PCA grupisanja jedinki mrene po elementima u škragama. Jedinke iz Južne Morave grupišu se po Ba i Sr, a jedinke iz Dunava i Južne Morave po Cr i Se.



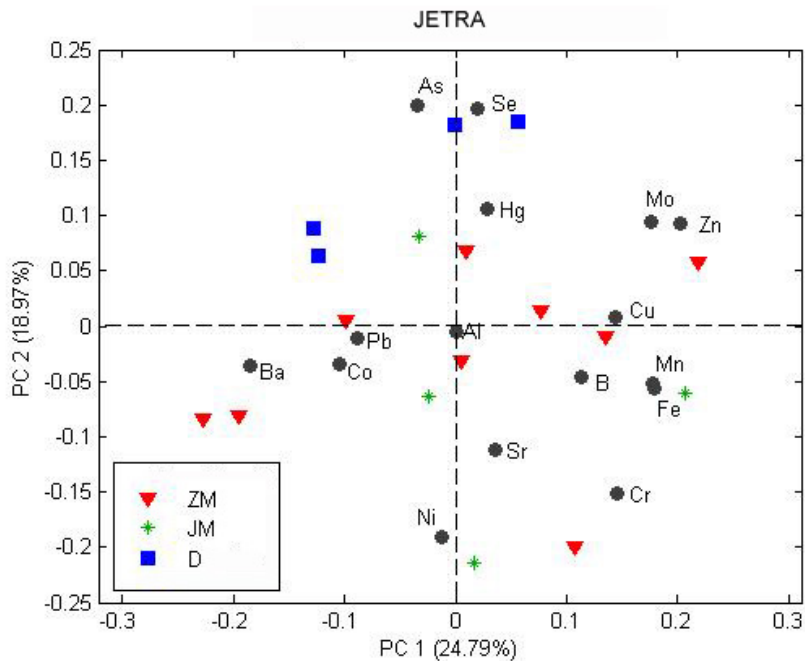
Slika 14. PCA elemenata u škragama mrene.

Na Slici 15 prikazana je PCA grupisanja jedinki mrene po elementima u crevu. Jedinke iz Dunava grupišu se po Se, a jedinke iz Zapadne Morave po Cu.



Slika 15. PCA koncentracije elemenata u crevu mrene

Na Slici 16 prikazana je PCA grupisanja jedinki mrene po elementima u jetri. Jedinke iz Dunava grupišu se po Se, a jedinke iz Zapadne Morave po Ni.



Slika 16. PCA elemenata u jetri mrene.

4.4. Koncentracija elemenata u intestinalnom parazitu mrene *P. laevis*

Koncentracije elemenata u intestinalnom parazitu mrene *P. laevis* izolovanim iz primeraka mrene iz Dunava prikazane su u Tabeli 10. Koncentracije svih elemenata osim B bile su veće u *P. laevis* u odnosu na crevo mrene. Izmerena je čak 27 puta veća koncentracija Cu i Pb po suvoj masi u *P. laevis*, dok su koncentracije ostalih elemenata bile 4 do 10 puta veće, osim Hg, Mg i Mo u odnosu na crevo. U odnosu na jetru i mišić koncentracije Cd, Cu, Hg, Mn, Pb i Sr bile su veće u *P. laevis* za razliku od škrge koje su akumulirale više Ba, Cr i Sr u odnosu na parazita.

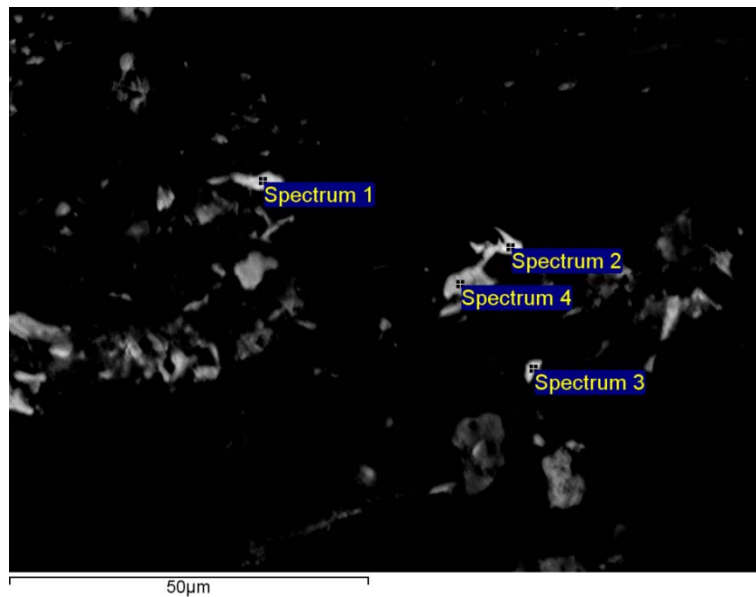
Tabela 10. Koncentracija elemenata (srednja vrednost \pm stanardna devijacija) u intestinalnom parazitu (*P. laevis*) i organima mreke uzorkovane na Dunavu izražene u $\mu\text{g g}^{-1}$ suve mase. ND-nije detektovano. * Srednje vrednosti u istom redu su značajno različite od koncentracije elemenata u parazitu. (Tamhaneov test, $P < 0.05$).

ELEMENTI	PARAZIT	CREVO	JETRA	ŠKRGE	MIŠIĆ
Al	16.00 \pm 23.00	7.00 \pm 13.00	4.00 \pm 9.00	9.00 \pm 24.00	5.00 \pm 12.00
B	0.20 \pm 1.00	1.00 \pm 2.00	1.00 \pm 2.00	0.30 \pm 1.00	1.00 \pm 2.00
Ba	1.00 \pm 1.00	0.30 \pm 0.5 0	0.20 \pm 0.40 *	8.00 \pm 2.00 *	0.30 \pm 0.60
Cd	0.50 \pm 0.20	0.10 \pm 0.30	0.10 \pm 0.10 *	0.50 \pm 1.80	0.01 \pm 0.02 *
Co	0.02 \pm 0.03	0.01 \pm 0.02	0.01 \pm 0.01	0.01 \pm 0.01	ND
Cr	0.20 \pm 0.10	0.10 \pm 0.10	0.10 \pm 0.10	0.40 \pm 0.10 *	0.10 \pm 0.04
Cu	46.00 \pm 34.00	2.00 \pm 1.00 *	9.00 \pm 5.00 *	1.00 \pm 0.30 *	0.6 0 \pm 0.60 *
Fe	71.00 \pm 83.00	22.00 \pm 17.00	47.00 \pm 22.00	67.00 \pm 36.00	4.00 \pm 2.00
Hg	0.50 \pm 0.20	0.20 \pm 0.10 *	0.30 \pm 0.00 *	0.20 \pm 0.05 *	0.60 \pm 0.20
Mg	306.00 \pm 78.00	174.00 \pm 98.00 *	179.00 \pm 68.00 *	895.00 \pm 173.00 *	390.00 \pm 107.00

Mn	5.00 ± 2.00	1.00 ± 1.00 *	1.00 ± 0.40 *	5.00 ± 2.00	0.40 ± 0.20 *
Mo	1.00 ± 1.00	1.00 ± 0.40	0.80 ± 0.30	1.00 ± 0.20	0.60 ± 0.20
Ni	0.10 ± 0.10	0.04 ± 0.04	0.03 ± 0.04	0.04 ± 0.05	0.30 ± 0.90
Pb	6.00 ± 5.00	0.20 ± 0.20 *	0.30 ± 0.60 *	3.00 ± 8.00	0.10 ± 0.30 *
Sr	4.00 ± 1.00	0.90 ± 0.20 *	0.30 ± 0.60 *	38.00 ± 17.00 *	1.00 ± 1.00 *
Zn	131.00 ± 133.00	18.00 ± 14.00	21.00 ± 9.00	23.00 ± 3.00	8.00 ± 7.00

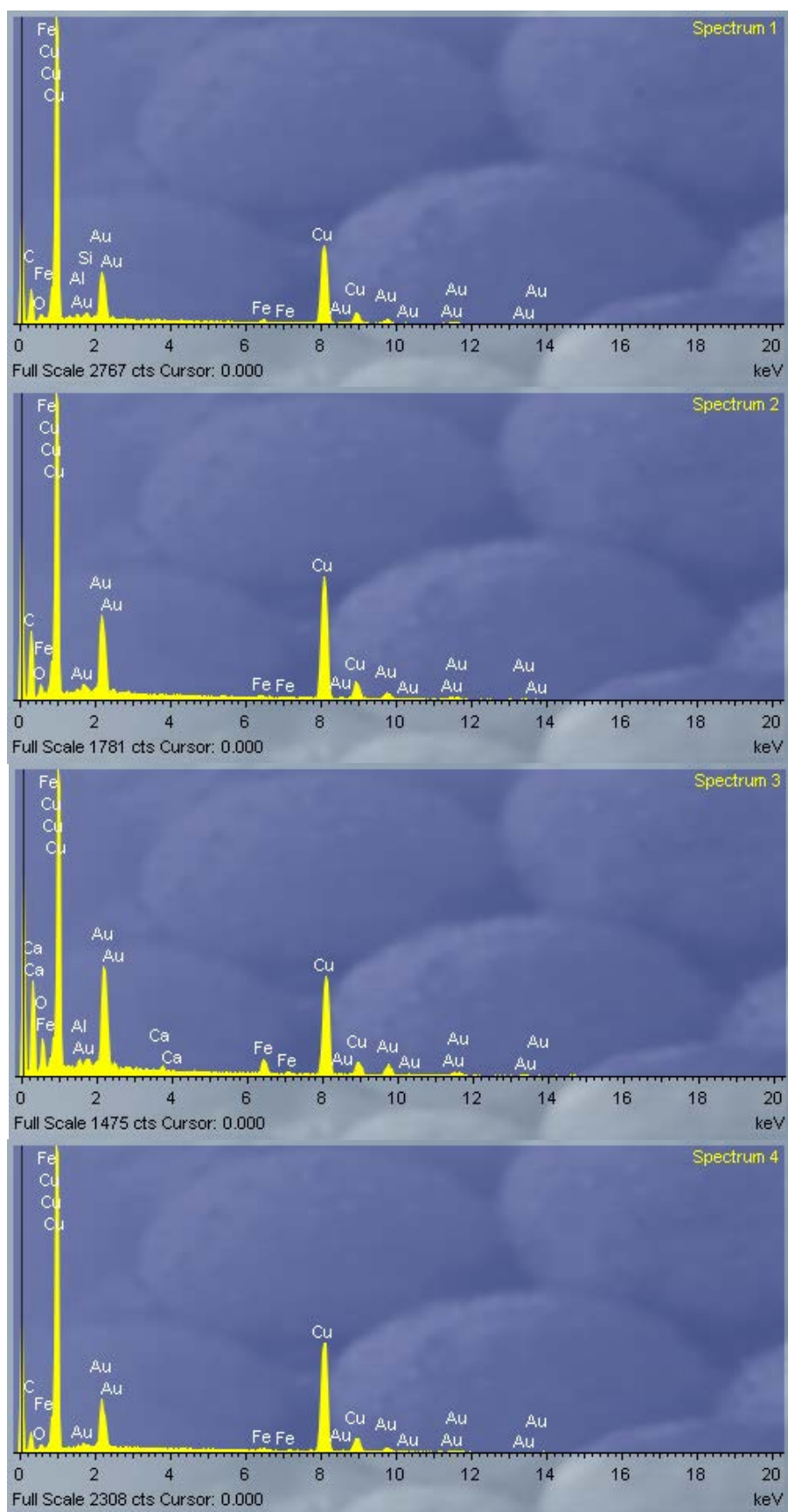
4.5 SEM-EDS analiza čestica sedimenta

U sedimentima Zapadne Morave na dubinama od 0 do 15 cm zastupljene su sledeće vrste minerala: kvarc, feldspat, liskun, gips, pirit i kalcit. Uočeni su i oksidi i hidroksidi gvožđa kao i različite Cu faze (Slika 17).



Slika 17. SEM snimak čestica sedimenta Zapadne Morave; prikazana su mesta odakle su prikupljeni spektri 1-4.

SEM-EDS analiza sedimenta Zapadne Morave pokazala je da je Cu najverovatnije prisutan u obliku karbonatnih hidroksida, i to kao malahit ($\text{Cu}_2(\text{CO}_3)(\text{OH})_2$) i azurit ($\text{Cu}_3(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_2$) (Slika 18; Tabela 11).



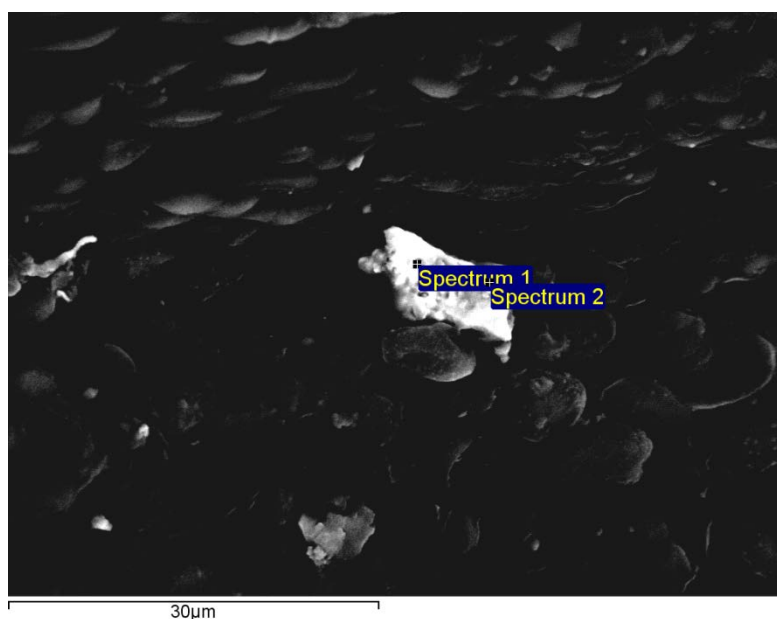
Slika 18. EDS analiza uzoraka sedimenta Zapadne Morave. Maseni udeo Cu u prikazanim spektrima iznosi 47-80%, a C 26-47%.

Tabela 11. Analiza masenog udela elemenata u navedenim spektrima uzoraka sedimenta Zapadne Morave.

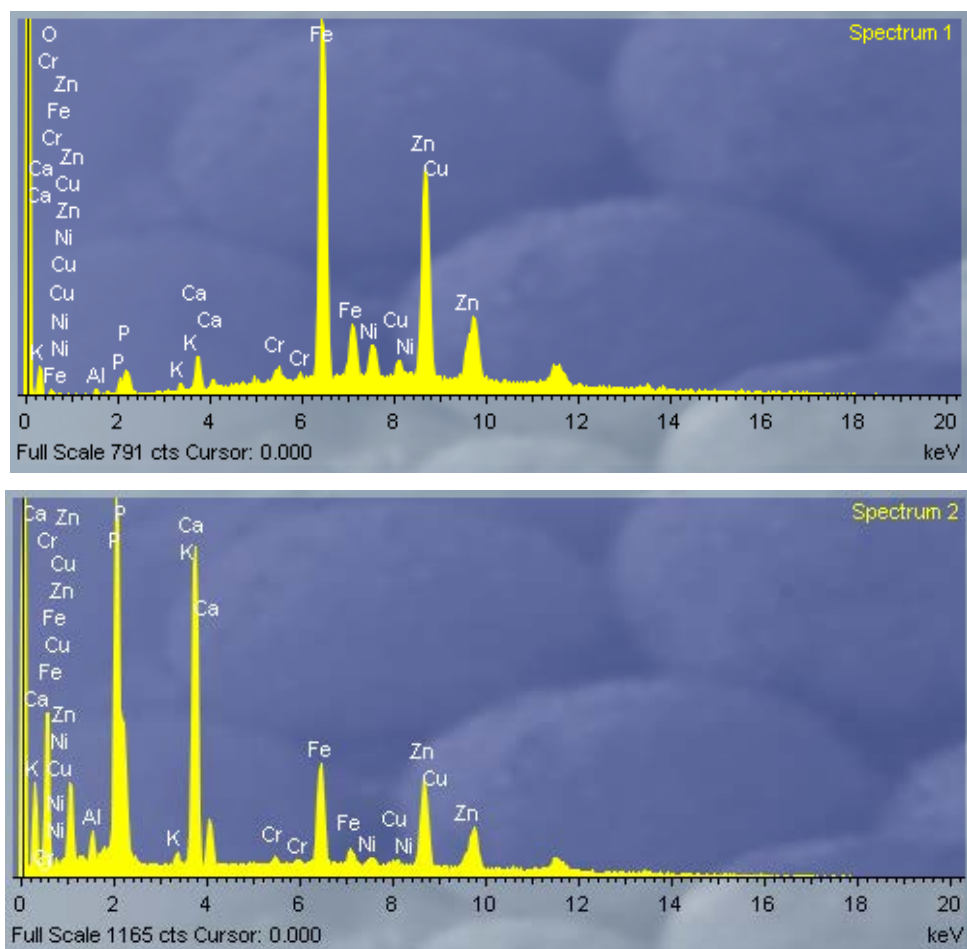
težina %	C	O	Al	Si	Ca	Fe	Cu	ukupno
Spektar 1	33.2	5.1		0.5		0.9	60.3	100.0
Spektar 2	47.6	4.8				0.3	47.3	100.0
Spektar 3		13.7	1.7		0.7	5.0	78.9	100.0
Spektar 4	26.4	2.5				0.6	70.5	100.0

4.6 SEM-EDS analiza škrge mreže iz Dunava

U škragama mreže iz Dunava uočeno je prisustvo Zn^{2+} jona, najverovatnije u formi cink fosfata (Slike 19 i 20; Tabela 12).



Slika 19. SEM snimak škrge mreže iz Dunava, prikazana su mesta odakle su prikupljeni spektri 1 i 2.



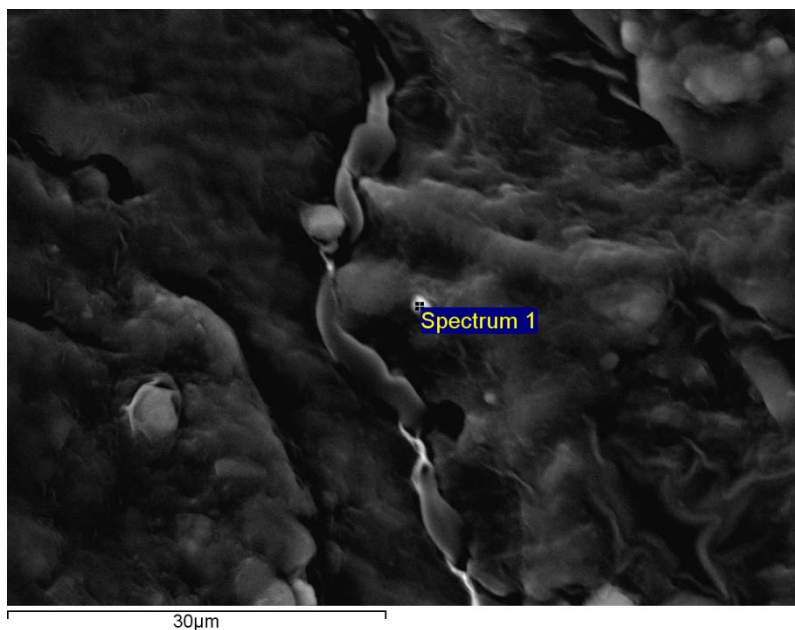
Slika 20. EDS analiza čestica u škragama mreže iz Dunava.

Tabela 12. Analiza masenog udela elemenata u navedenim spektrima uzoraka škraga mreže sa Dunava.

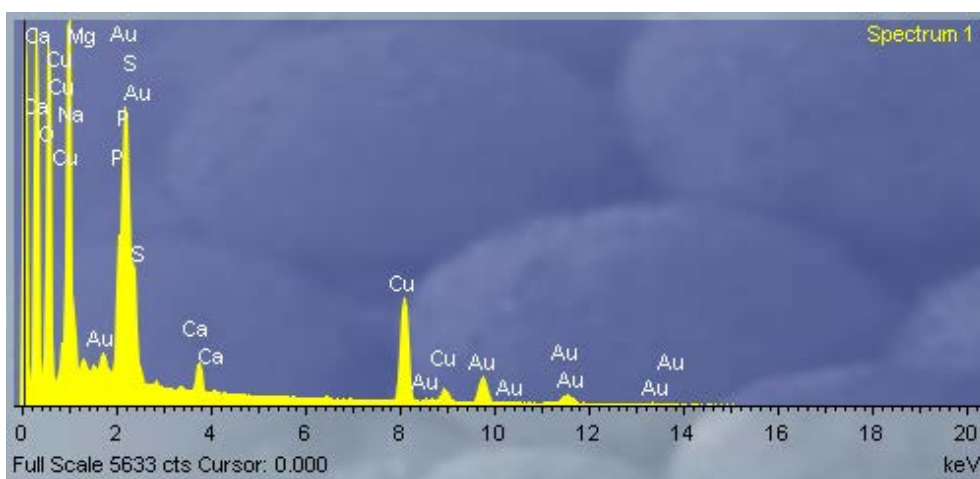
težina %	O	Al	P	K	Ca	Cr	Fe	Ni	Cu	Zn	ukupno
Spektar 1	0.44	0.36	0.31	0.20	1.30	0.75	32.19	4.54	3.78	56.13	100.0
Spektar 2	34.25	1.17	11.29	0.45	14.35	0.66	10.87	1.52	1.32	24.13	100.0

4.7 SEM-EDS analiza creva mreže iz Dunava

U crevu mreže iz Dunava uočeno je prisustvo Cu^{2+} jona, najverovatnije u formi bakar sulfata (Slike 21 i 22; Tabela 13).



Slika 21. SEM snimak preseka creva mrene iz Dunava, prikazano je mesto odakle je prikupljen spektar 1.



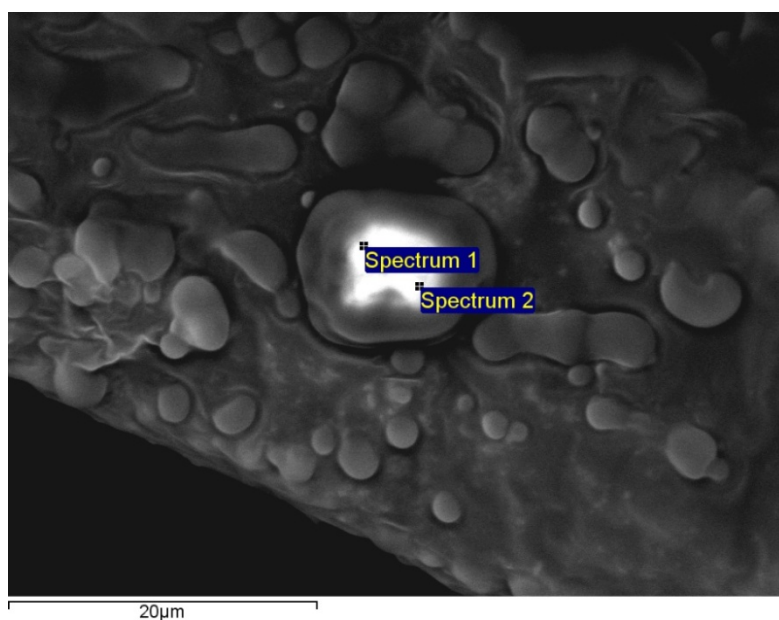
Slika 22. EDS analiza čestica u crevu mrene sa Dunava.

Tabela 13. Analiza masenog udela elemenata u spektru uzorka creva mrene sa Dunava.

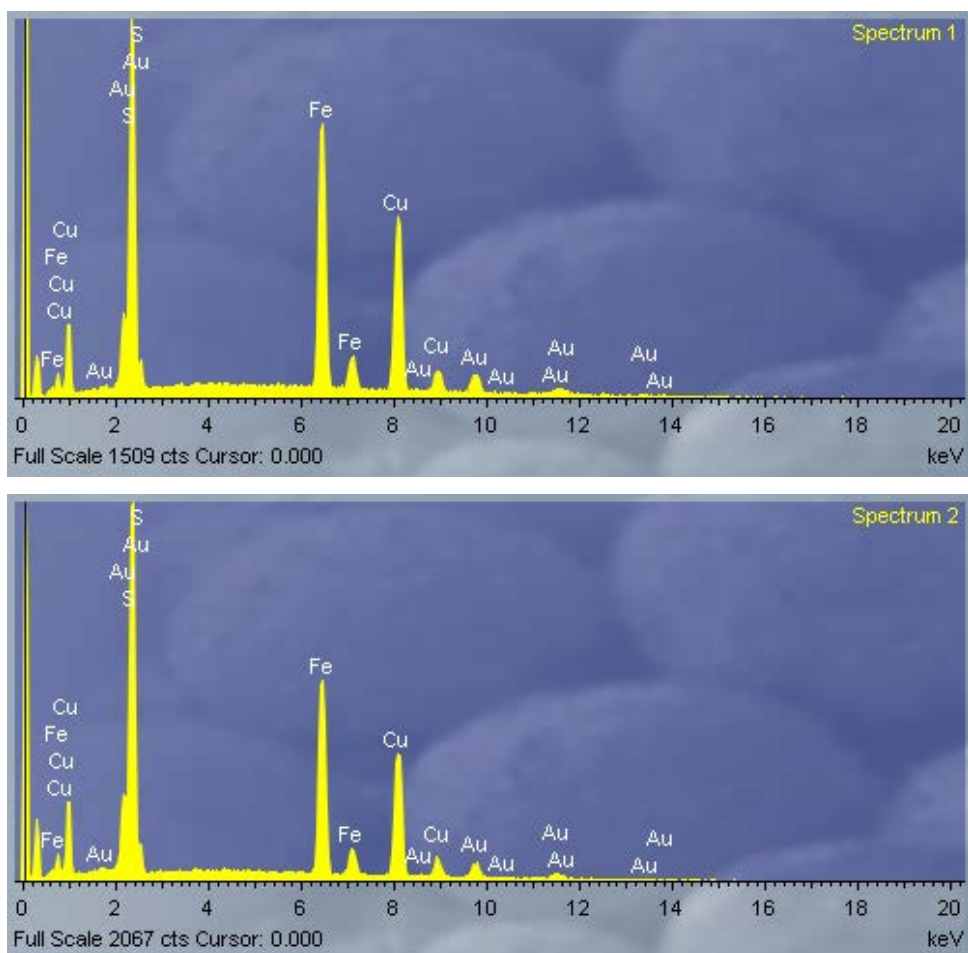
težina %	O	Na	Mg	P	S	Ca	Cu	ukupno
Spektar 1	51.28	4.33	0.81	6.13	6.13	1.72	29.59	100.0

4.8 SEM-EDS analiza crevnog sadržaja mrene iz Dunava

U crevnom sadržaju mrene otkrivene su čestice bakra, najverovatnije u obliku halkopirita, značajnog industrijskog minerala (Slike 23 i 24; Tabela 14).



Slika 23. SEM snimak crevnog sadržaja mrene iz Dunava, prikazana su mesta odakle su prikupljeni spektri 1 i 2.



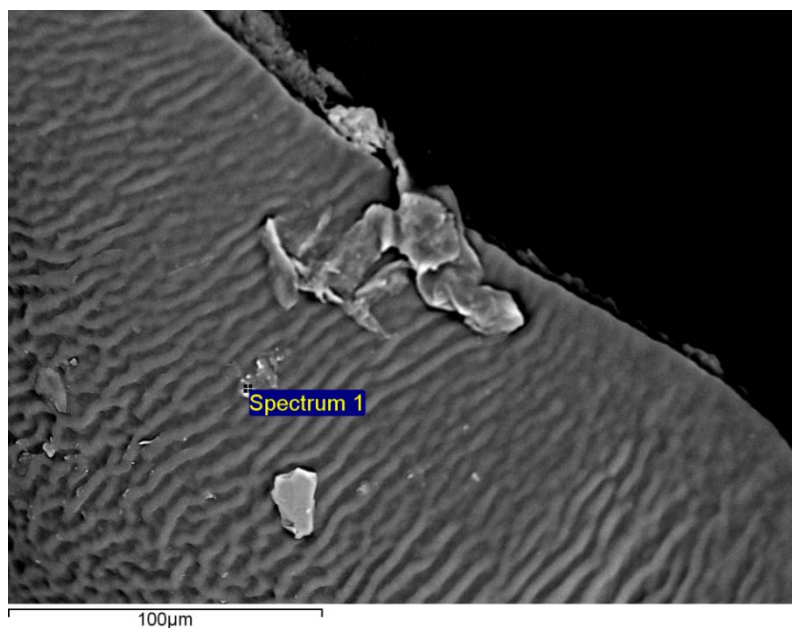
Slika 24. EDS analiza čestica u crevu mrene sa Dunava.

Tabela 14. Analiza masenog udela elemenata u spektru uzorka crevnog sadržaja mrene sa Dunava.

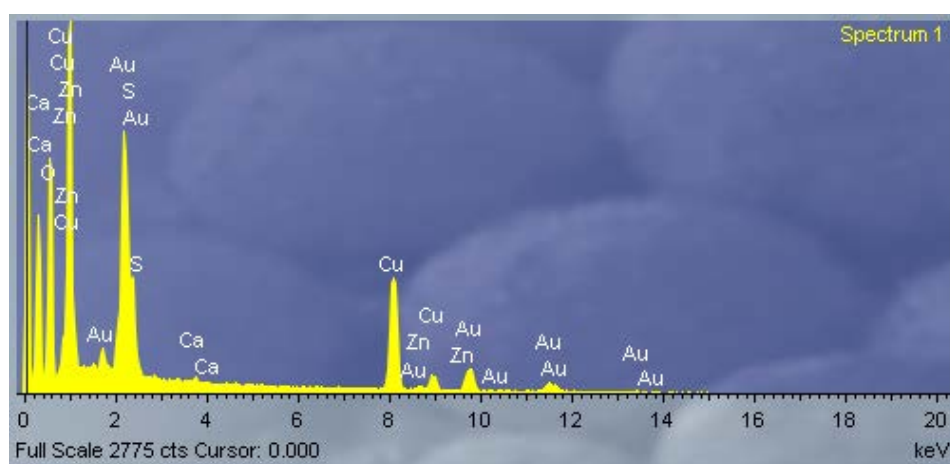
težina %	S	Fe	Cu	O	ukupno
Spektar 1	12.48	21.77	32.61	33.13	100.0
Spektar 2	15.01	20.48	28.90	35.61	100.0

4.9 SEM-EDS analiza intestinalnog parazita *P. laevis* mreine iz Dunava

Na površini *P. laevis* uočeni su različiti sulfidi ili sulfati bakra, moguće kao kristalisani halkantit (plavi kamen), koji ima značajnu primenu u poljoprivredi (Slike 25, 26, 27 i 28; Tabele 15 i 16).



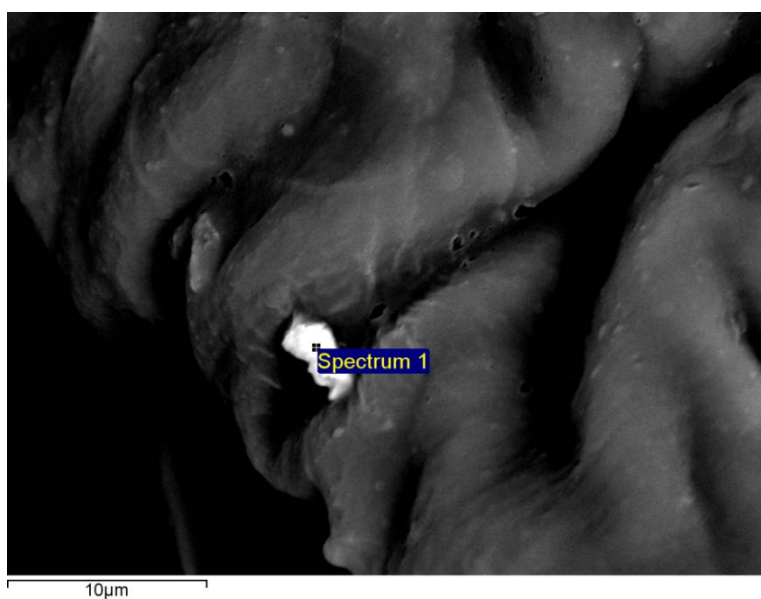
Slika 25. SEM snimak površine *P. laevis* iz creva mreine iz Dunava, prikazano je mesto odakle je prikupljen spektar 1 (lokalitet 1).



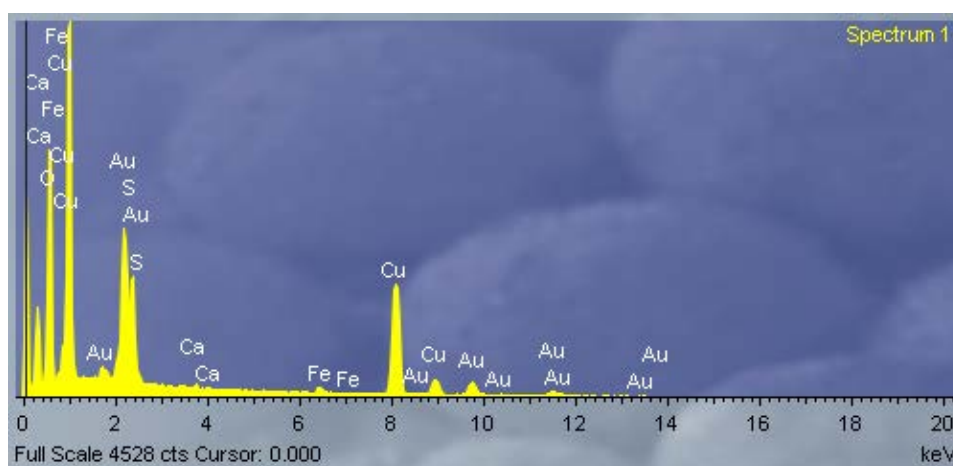
Slika 26. EDS analiza čestica na intestinalnom parazitu mreine iz Dunava (lokalitet 1).

Tabela 15. Analiza masenog udela elemenata u spektru uzorka površine *P. laevis* iz mreine sa Dunava (lokalitet 1).

težina %	O	S	Ca	Cu	Zn	ukupno
Spectrum 1	45.05	6.71	0.43	45.89	1.91	100.0



Slika 27. SEM snimak površine *P. laevis* iz creva mreine iz Dunava, prikazano je mesto odakle je prikupljen spektar 1 (lokalitet 2).



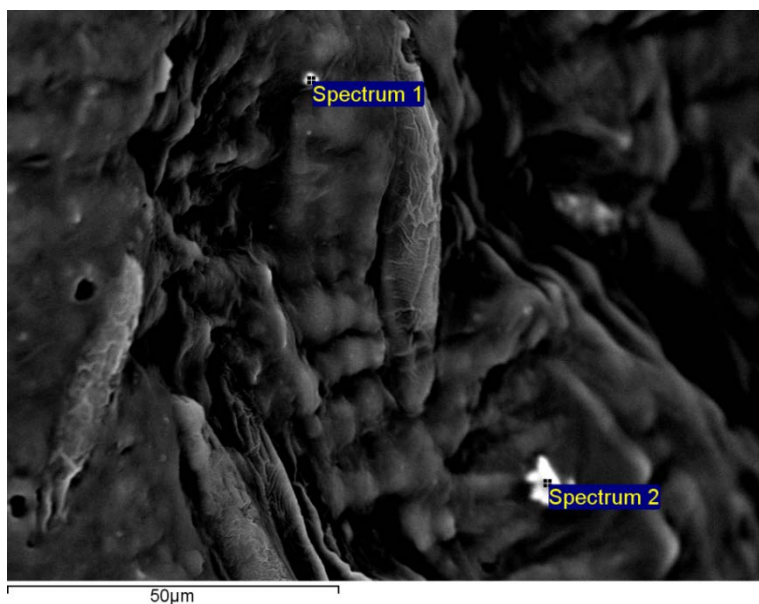
Slika 28. EDS analiza masenog udela čestica na intestinalnom parazitu mreine iz Dunava (lokalitet 2).

Tabela 16. Analiza masenog udela elemenata u spektru uzorka površine *P. laevis* iz mreže sa Dunava (lokalitet 2).

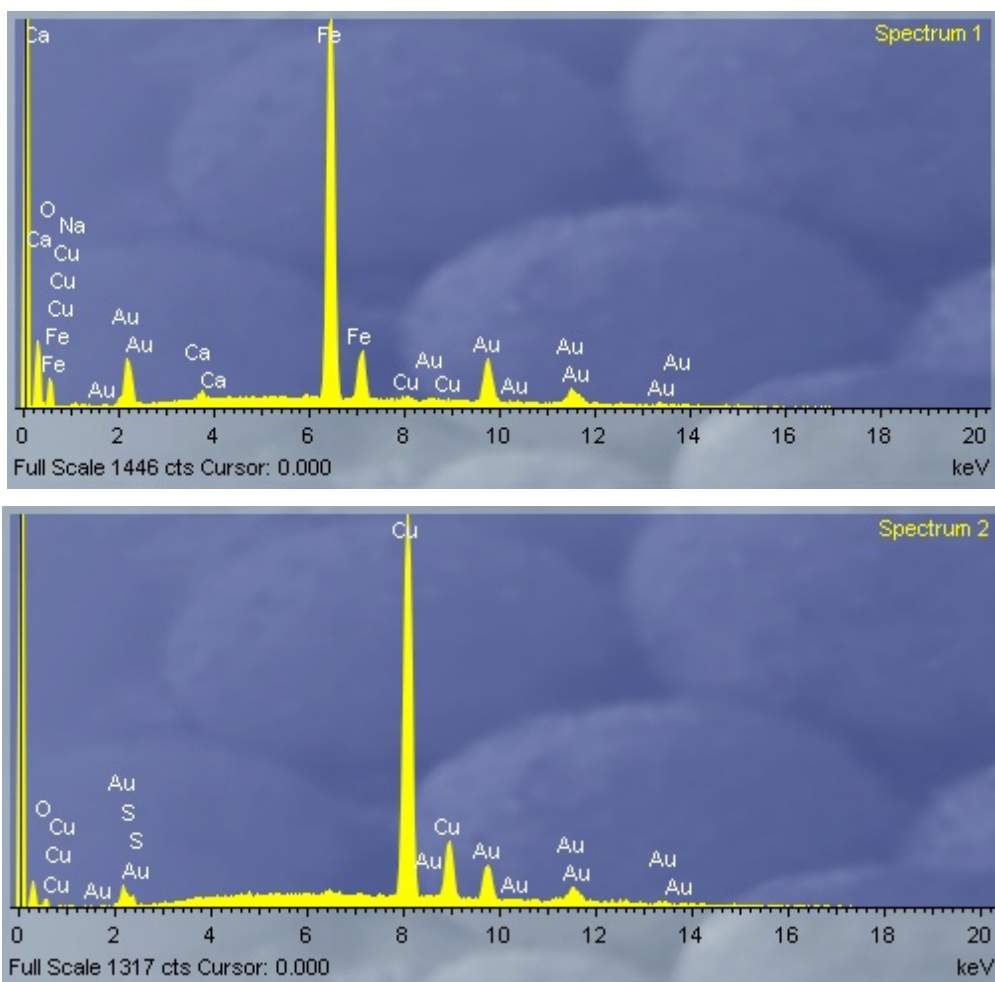
težina %	O	S	Ca	Fe	Cu	ukupno
Spektar 1	46.12	7.17	0.27	1.04	45.40	100.0

4.10 SEM-EDS analiza creva intestinalnog parazita *P. laevis* mreže iz Dunava

Na zidu creva *P. laevis* uočeni su Fe oksidi i/ili hidroksidi i sulfidi ili sulfati bakra (Slike 29 i 30; Tabela 17).



Slika 29. SEM snimak creva *P. laevis* uzorkovanog iz mreže iz Dunava, spektri 1 i 2.



Slika 30. EDS analiza čestica creva intestinalnog parazita mreene iz Dunava.

Tabela 17. Analiza masenog udela elemenata u spektru uzorka creva *P. laevis* iz mreene sa Dunava.

težina %	O	Na	S	Ca	Fe	Cu	ukupno
Spectrum 1	6.45	1.20		0.77	89.23	2.35	100.0
Spectrum 2	1.66		0.65			97.69	100.0

4.11 Histološka analiza škrge i jetre mrene iz Dunava i Južne Morave

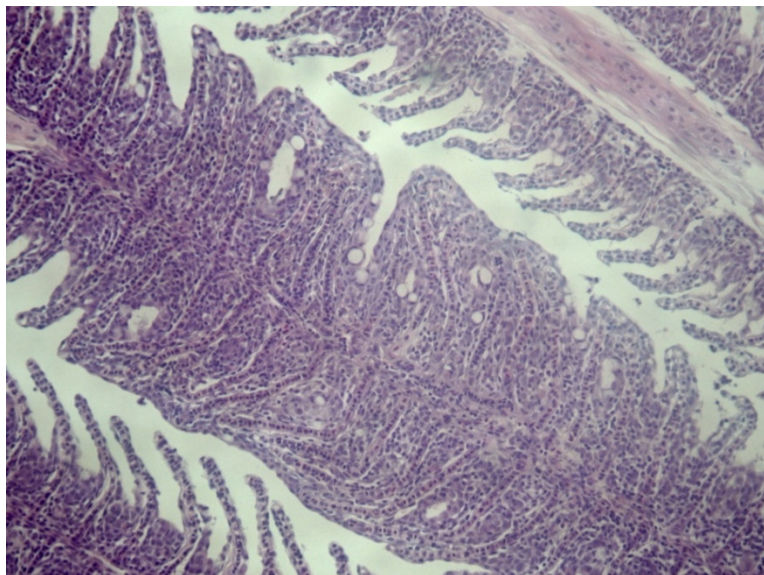
Histološke analize na škržnom aparatu pokazale su blage promene. I pored činjenice da su uočene različite promene (Tabela 18), prosečan histopatološki skor bio je nizak, sa samo dve promene koje su imale prosečne vrednosti veće od 2, što je gornja granica blagih promena po Bernet *et al.* (1999).

Tabela 18. Razlike između histopatoloških skorova (srednja vrednost \pm standardna devijacija) za škrge i jetru mrene iz Južne Morave i Dunava (za pojedinačnu promenu: minimalna vrednost = 0, maksimalna vrednost = 6); (* P<0.05).

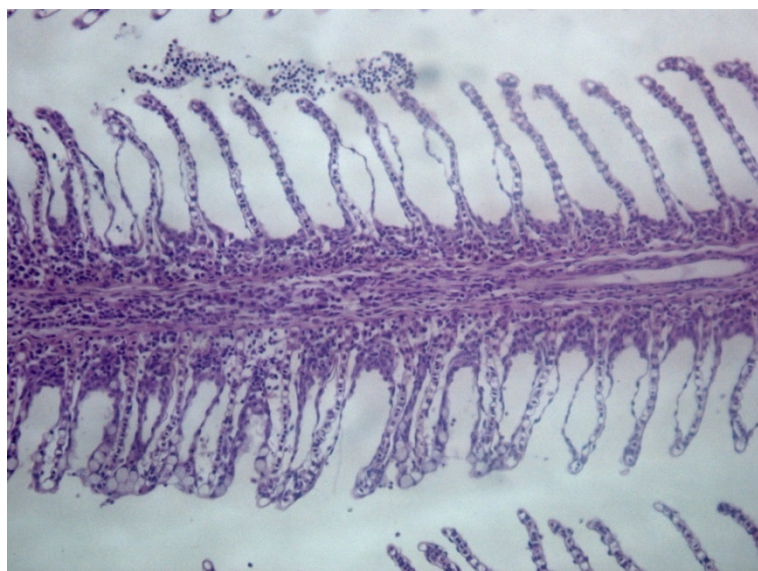
Promene na organima	Južna Morava	Dunav	P - vrednost
Škrge			
Hiperemija	1.5 \pm 1.5	1.3 \pm 1.2	0.823
Aneurizma	0.9 \pm 1.4	0.2 \pm 0.5	0.087
Hipertrofija respiratornog epitela	0.6 \pm 0.9	0.0 \pm 0.1	0.257
Hiperplazija epitela	1.3 \pm 1.2*	0.4 \pm 0.5	0.046
Hiperplazija peharastih ćelija	3.2 \pm 1.4*	0.4 \pm 0.7	<0.001
Izdizanje epitela	0.2 \pm 0.4*	2.3 \pm 1.8	0.019
Nekroza	0.0 \pm 0.0	0.2 \pm 0.3	0.257
Strukturalne promene	1.8 \pm 1.2	0.8 \pm 0.7	0.156
Indeks škrge (I _G)	14.0 \pm 3.7*	7.0 \pm 4.1	0.007
Jetra			
Izmeštanje jedra	6.0 \pm 0.0*	1.3 \pm 1.9	<0.001
Kongestija krvnih sudova	4.2 \pm 1.6*	1.1 \pm 1.2	0.003
Staze	3.2 \pm 2.3*	0.8 \pm 1.4	0.044
MMC	0.4 \pm 0.9	0.0 \pm 0.0	0.559
Fibroza	0.2 \pm 0.4	0.0 \pm 0.0	0.559
Infiltracija leukocita	0.0 \pm 0.0	0.2 \pm 0.4	0.500
Masna degeneracija	4.8 \pm 1.6*	2.5 \pm 1.8	0.019
Nekroza	0.4 \pm 0.9	0.1 \pm 0.3	0.687
Indeks jetre (I _L)	20.2 \pm 4.5*	6.4 \pm 4.5	<0.001
Ukupni indeks (I _T)	34.2 \pm 6.4*	13.3 \pm 7.6	<0.001

Analiza škrge je pokazala da je najveći broj promena imao više prosečne vrednosti kod mrene iz Južne Morave, a dve promene su pokazale i postojanje statističke značajnosti (P<0.05) – hiperplazija epitela (Slika 31) i hipertrofija peharastih ćelija, dok je izdizanje epitela (Slika 32) bilo učestalije i većeg intenziteta kod mrene iz Dunava (P<0.05). U škragama mrene iz Južne Morave primećeni su i

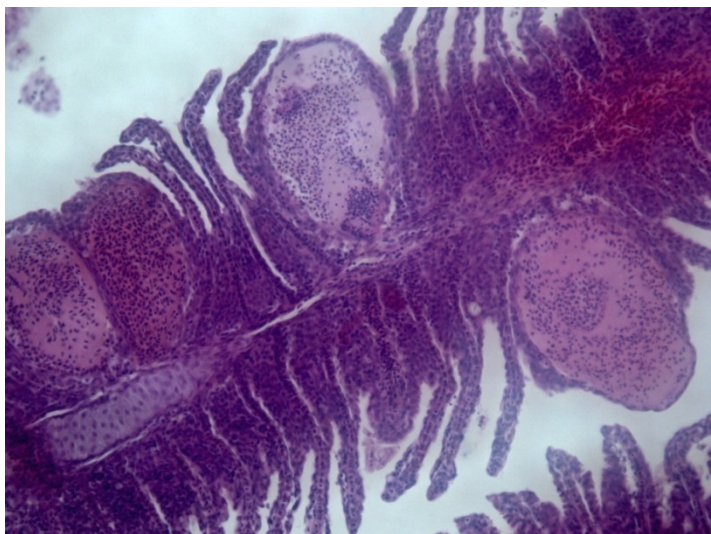
hematomi (Slika 33). Hiperemija i strukturne promene (uvrtanje sekundarnih lamela, naborani respiratorni epitel i granjanje primarnih i sekundarnih lamela) imale su histopatološki skor veći od 1, ali nisu pokazivale razlike u odnosu na reke iz kojih su jedinke uzorkovane.



Slika 31. Potpuna fuzija primarne lamele i hipertrofija peharastih ćelija u preparatima škrge mrene iz Južne Morave (HE x 20).

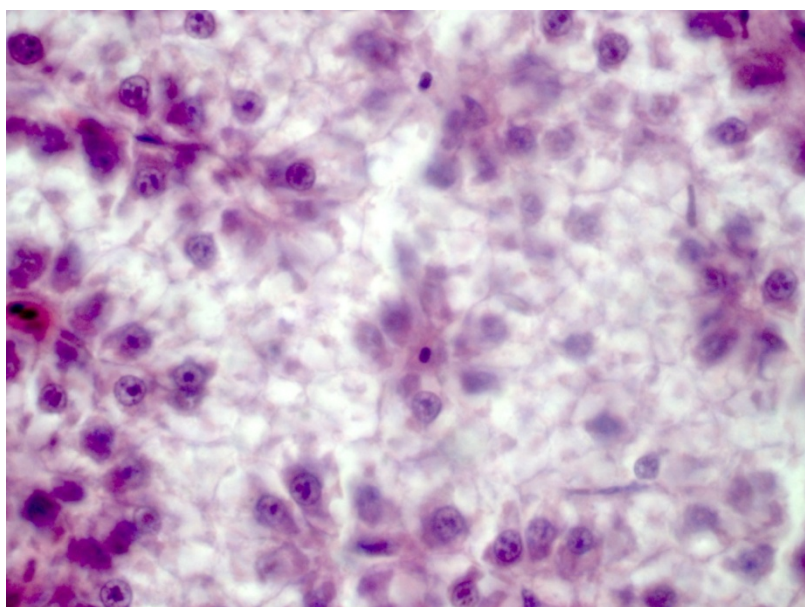


Slika 32. Izdizanje epitela i hiperpazija hloridnih i mukoznih ćelija i njihova migracija ka vrhu sekundarnih lamela u preparatima škrge mrene iz Dunava (HE x 20).



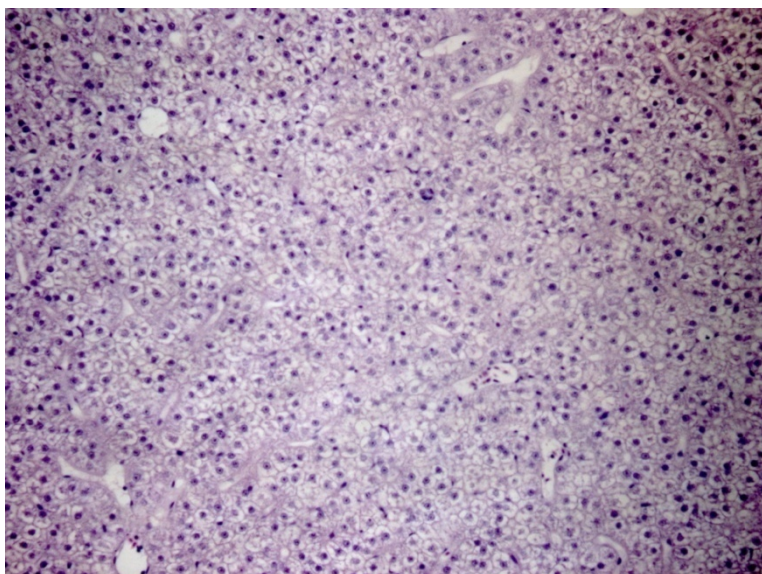
Slika 33. Prisustvo hematoma u sekundarnim lamelama škrge mrene iz Južne Morave (HE x 10).

U jetri, prikaz hepatocita se značajno razlikuje kod jedinki sa ova dva lokaliteta. Sve jedinke mrene sakupljene iz Južne Morave imale su hepatocite sa karakteristično dislociranim jedrom. Jedra su bila okrugla i smeštena naviše uz sinusoidne kapilare, dok je citoplazma neobojena i svetla, sa brojnim vakuolama (Slika 34).



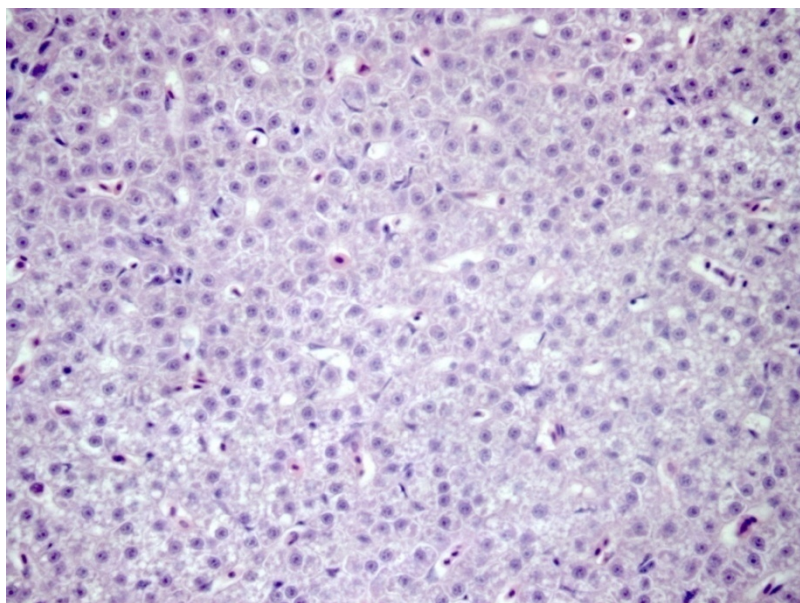
Slika 34. Dislociranost jedara hepatocita mrene iz Južne Morave i njihovo grupisanje oko sinusoida. Prisutna je i vakuolizacija hepatocita jer je citoplazma vidljiva samo u malom delu ćelije (HE x 100).

Hepatociti jedinki iz Dunava bili su normalni, sa jedrom u sredini ćelije i obojenom citoplazmom, eozinofilno ili bazofilno (Slika 35).

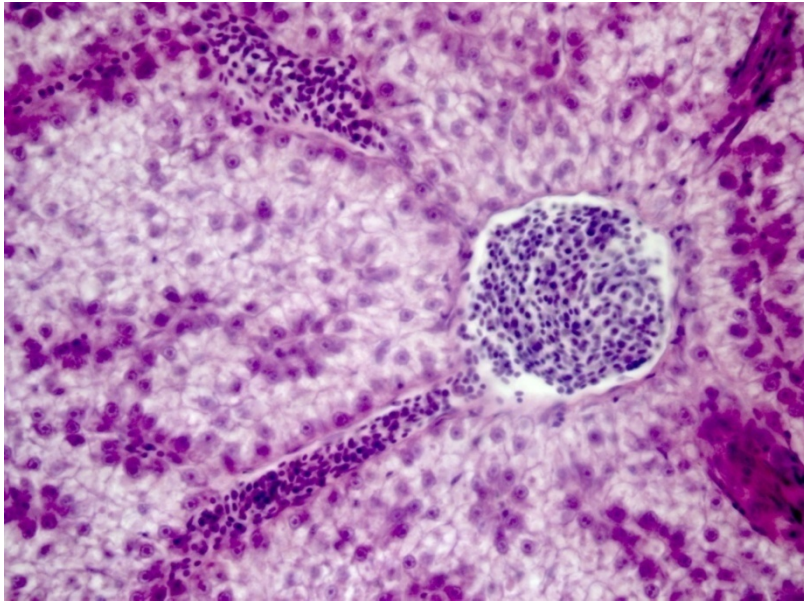


Slika 35. Histološki preparat jetre mrene iz Dunava (HE x 20).

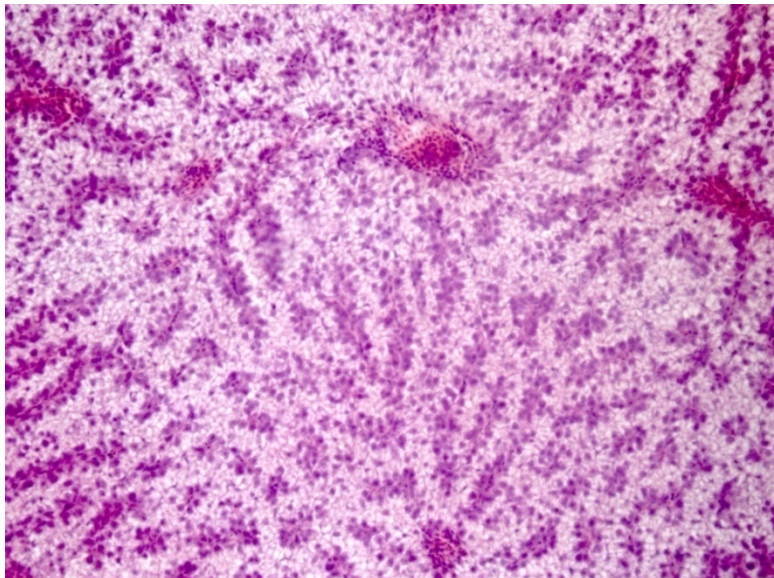
Osim karakterističnog dislociranja jedra u hepatocitima, najčešće histološke promene na jetri mrene uključivale su prisustvo masne degeneracije (Slika 36), kongestiju sinusoida (Slika 37) i prisustvo staza (Slika 38). Sve četiri promene na jetri imale su veći skor kod jedinki mrene iz Južne Morave ($P < 0.05$; Tabela 18).



Slika 36. Nakupljanje lipidnih kapljica u jetri mrene iz Dunava (HE x 40).

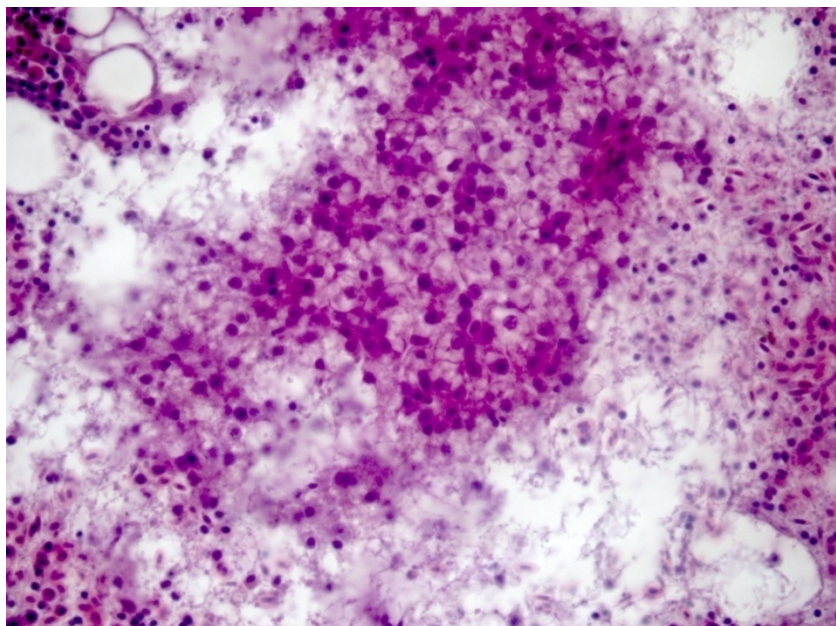


Slika 37. Kongestija sinusoida i većih krvnih sudova u jetri mrene iz Južne Morave (HE x 40).

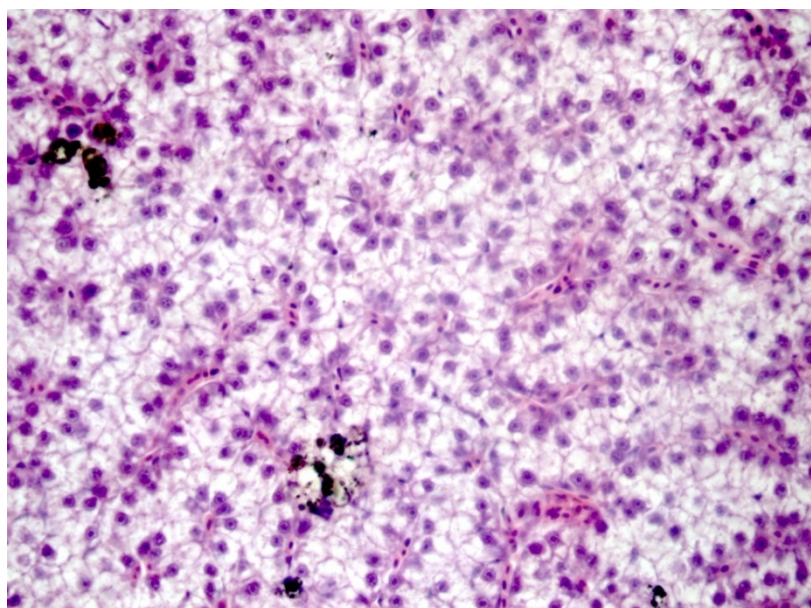


Slika 38. Prisustvo staza u jetri mrene iz Južne Morave (HE x 20).

U jetri mrene iz Južne Morave uočene su još i nekroze (Slika 39) i prisustvo melanomakrofagnih centara (Slika 40).



Slika 39. Nekroza jetre mreene iz Južne Morave (HE x 40).



Slika 40. Prisustvo melanomakrofagnih centara u mreeni iz Južne Morave (HE x 40).

Ostale promene na jetri su malobrojne i nijedna nije imala skor veći od 0.5. Sve tri analize (škrge, jetra i totalni indeks) bile su statistički značajno više kod jedinki iz Južne Morave ($P < 0.05$) u poređenju sa jedinkama iz Dunava.

5. DISKUSIJA

5.1 Koncentracija elemenata u sedimentu i sezonske promene

Analiza ukupne koncentracije elemenata u površinskim rečnim sedimentima pokazala je prisustvo većih prosečnih koncentracija i različitu sezonsku dinamiku Al, B, Co, Cr, Cu, Fe, Mn i Ni u Zapadnoj Moravi u odnosu na Južnu Moravu (Tabele 5 i 6; Slike 11 i 12). U sedimentu Dunava izmerena je najveća koncentracija Zn, Pb, Ni, Mn, Cr, Al i Sr u odnosu na Zapadnu i Južnu Moravu (Tabela 5; Slika 10). Koncentracije Pb, Zn, Ni, Cr i As izmerene u sedimentima sve tri reke bile su približne koncentraciji ovih elemenata u reci Savi, dok je koncentracija Cu u Zapadnoj Moravi bila veća u odnosu na Savu (Milačić *et al.* 2010). U poređenju sa nekim ranijim studijama u kojima su ispitivane koncentracije elemenata u sedimentu Dunava na nekoliko lokaliteta u Republici Srbiji (Milenković *et al.* 2005), izmerene su veće koncentracije Pb, As i Cu u sedimentu Dunava. Ista grupa autora određivala je koncentracije elemenata pre i posle ušća Velike Morave u Dunav i uočila je veće koncentracije Cu, Cr, Ni, Pb i Zn nizvodno od ušća. Na osnovu rezultata možemo pretpostaviti da zagađenje elementima u Dunav dospeva iz Zapadne Morave, jer su koncentracije elemenata u Južnoj Moravi značajno niže u poređenju sa Zapadnom Moravom (Tabela 5). Woitke *et al.* (2003), u okviru projekta "The Joint Danube Survey", identifikovali su zonu sa povećanom koncentracijom elemenata u Dunavu koja je zahvatala oblast od 1 300 do 1 000 km od ušća Dunava. Ova oblast obuhvata i ušće Velike Morave i ova reka je označena kao tačkasti izvor zagađenja Dunava elementima (Woitke *et al.* 2003). Rezultati ove teze dodatno potvrđuju ovu hipotezu, dok su povećane koncentracije Pb, Ni, Cr i Zn u Dunavu u odnosu na koncentracije iz 2003. godine pokazale da je došlo do akumulacije ovih elemenata u sedimentu. Rečni sediment je podložan kretanju nizvodno od mesta taloženja ka rečnoj delti, estuaru ili ušću, i na kraju završi u depositima obalske zone u kojima se može uočiti povećana koncentracija nekih elemenata (Rovira *et al.* 2014).

Sliv Zapadne Morave je više ekonomski razvijen u odnosu na sliv Južne Morave. Zajedničko za sva naselja duž ove reke jeste jako zastarela kanalizaciona mreža bez postrojenja za preradu otpadnih voda drvne, tekstilne i metalne industrije

koja karakteriše ovaj region. Poljoprivredna aktivnost u ovom regionu predstavlja još jedan difuzni izvor zagađenja Zapadne Morave (Urošev 2006). Uzvodno od mesta uzorkovanja na Zapadnoj Moravi, u Sevojnu, nalazi se valjaonica bakra i aluminijuma, dok su u Arilju, Ivanjici i Užicu prisutne tekstilna i metalo-prerađivačka industrija. Sliv Zapadne Morave bogat je rudnicima, najčešće hroma i uglja. Neke od najbitnijih saobraćajnih i železničkih ruta nalaze se duž toka Zapadne Morave, a prometne saobraćajnice i parkirališta bitni su izvori zagađenja zemljišta niklom, bakrom, kadmijumom, cinkom i olovom (Wei i Yang 2010; Duong i Lee 2011), odakle spiranjem mogu dospeti u akvatične ekosisteme. Zapadna Morava je poznata kao reka koja se često izliva i tokom izlivanja plodno poljoprivredno zemljište može biti zagađeno metalima iz rečnog sedimenta, koji na taj način dospevaju u lanac ishrane (Kruger *et al.* 2005; Adamo *et al.* 2006).

Koncentracija Cu izmerena u Zapadnoj Moravi (Tabela 5) bila je veća od maksimalnih MDK vrednosti za metale u sedimentima reka Republike Srbije. Cu može biti povezan sa organskom materijom, oksidima gvožđa i mangana, silikatima, glinom i ostalim mineralima (Koshy 2002), a povezan sa organskom materijom najčešće je prisutan u finom sedimentu (Duong i Lee 2011). Granulometrijsko ispitivanje lokaliteta na sve tri reke pokazalo je da Zapadna Morava poseduje najveću količinu mulja i jako finog peska (Tabela 4; Slika 8), u poređenju sa Dunavom i Južnom Moravom. Pozitivne korelacije za koncentraciju Cu u glini i mulju, ali ne i za pesak u rečnim sedimentima primećene su i od strane drugih autora (Rangel *et al.* 2011), što se podudara sa većom koncentracijom elemenata u Zapadnoj Moravi u poređenju sa Dunavom i Južnom Moravom. U istraživanju koncentracije metala u reci Odra (Rybicka *et al.* 2005), metali su najčešće bili vezani za čestice sedimenta < 100 µm, a nije uočena ni značajna razlika u koncentraciji metala u odnosu na dubinu od 0 do 15 cm.

Tokom leta, koncentracija elemenata je povećana u odnosu na proleće u Dunavu i Zapadnoj Moravi, dok je suprotan trend primećen u Južnoj Moravi (Tabela 6; Slike 10-12). Koncentracija elemenata u jesen u Zapadnoj i Južnoj Moravi bila je slična koncentracijama izmerenim u proleće. Zapadna i Južna Morava imaju drugačije vrednosti protoka vode u periodima uzorkovanja. Prosečni protok vode na kontrolnoj tački Kratovska stena, najbližoj mestu uzorkovanja na Zapadnoj Moravi, za vremenski

period od 1954. do 2005. godine iznosio je $55.0 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ u aprilu, $22.1 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ u julu i $25.6 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ u novembru. Tokom istog vremenskog perioda, na kontrolnoj tački Aleksinac, protok vode na Južnoj Moravi iznosio je $174.1 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ u aprilu, $48.6 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ u julu i $33.0 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ u novembru. Najveće vrednosti Ba, Ni, Hg i Cu uočene su u letnjem periodu na Zapadnoj Moravi, što odgovara najmanjem protoku vode i najmanjoj mobilnosti sedimenta (Tabela 6), dok je niža koncentracija elemenata u sedimentu tokom jeseni najverovatnije posledica povećanog protoka vode i nizvodnog transporta čestica sedimenta. Promene u koncentraciji elemenata u sedimentu Južne Morave takođe mogu biti posledica promene protoka vode i atmosferskih padavina u ovoj reci. Vremenske promene u koncentraciji metala primećene su i u rekama Morava i Drevnice (Bednarova *et al.* 2013). Ova studija je ukazala na povećanu koncentraciju Cu i njegovu opasnost po životnu sredinu, što se podudara sa rezultatima koncentracije Cu u Zapadnoj Moravi. Na povećanu koncentraciju metala u proleće mogu uticati i visoka količina atmosferskih padavina, topljenje snega i porast nivoa podzemnih voda. Na mobilnost metala u sedimentu Zapadne Morave utiče i morfologija same reke koja je karakteristična po brojnim meandrima i peščanim sprudovima, što nije karakteristično za morfologiju Južne Morave. Najmanje sezonske promene u koncentraciji elemenata primećene su u Dunavu, što se može pripisati velikoj vodenoj masi te reke.

Analiza koncentracije dostupne frakcije elemenata u sedimentima tri reke pokazala je da je Zapadna Morava najviše zagađena sa B, Co, Cu, Ni i Zn, dok je Južna Morava najmanje zagađena reka (Tabela 8). Ovi rezultati su u skladu sa analizom ukupne koncentracije elemenata u sedimentima proučavanih reka i odražavaju antropogeni unos elemenata u akvatične ekosisteme. Razlike u koncentraciji dostupne frakcije elemenata ukazuju na različitu akumulaciju u akvatičnim organizmima, naročito kod riba koje se najčešće nalaze na vrhu lanca ishrane u ovim ekosistemima.

SEM-analiza sedimenta Zapadne Morave pokazala je komplekse Cu sa visokim udelom C i O, kao i malim udelom Fe. Ovi rezultati ukazuju da je Cu najverovatnije kompleksiran sa karbonatnim hidroksidima, najverovatnije u obliku malahita i azurita, ili sa oksidima/hidroksidima gvožđa (Tabela 11; Slike 17 i 18). Cu se može vezivati za organsku materiju i Fe okside u rečnim sedimentima (Yu *et al.* 2001). Visoke

koncentracije Cu u rečnim sedimentima primećene su u blizini zona izlivanja industrijskih i gradskih otpadnih voda (Chen *et al.* 2012), kao i u blizini rudarske industrije (Sracek *et al.* 2012). Visoke koncentracije Cu u sedimentu Zapadne Morave najverovatnije su posledica kombinacije rudarske i ostalih grana industrije uzvodno od mesta uzorkovanja. Uzvodno od mesta uzorkovanja nalaze se i veći gradovi Arilje, Ivanjica i Užice. Privredu Arilja karakteriše prerada poljoprivrednih proizvoda, metalska, drvno-prerađivačka i tekstilna industrija. Ivanjicu karakteriše drvno-prerađivačka i tekstilna industrija, a u Užicu su prisutne metalska, drvno-prerađivačka i tekstilna industrija. Navedene grane industrije ubrajaju se u izvore zagađenja životne sredine bakrom (Nagajyoti *et al.* 2010).

5.2 Koncentracija elemenata u organima mrene

Više studija je obuhvatilo analizu koncentracije elemenata u različitim vrstama riba prisutnim u Dunavu, međutim saznanja o akumulaciji elemenata u mreni iz Zapadne i Južne Morave još uvek su nedovoljno ispitana. Najveća koncentracija Ba, Mn i Sr izmerena je u škragama mrene iz sve tri reke, dok su se crevo i jetra karakterisali po povećanoj koncentraciji As, Cu i Ni. Koncentracija Zn bila je najveća u jetri i škragama, a najmanja u mišićima (Tabela 9). Rašković *et al.* (2014) su uočili slične koncentracije Cu, As, Mn i Sr u jetri, Ba, Mn, Sr i Zn u škragama i Mo u mišićima mrene sakupljene na Dunavu, u blizini mesta uzorkovanja mrene iz ove teze. Sunjog *et al.* (2012) su takođe na lokalitetu u Beogradu, na Dunavu, detektovali slične koncentracije Cu, Mn, Mo i Zn u jetri, Al i Sr u škragama i Zn u mišićima. U radu Nachev *et al.* (2013) analizirane su koncentracije elemenata u različitim tkivima mrene na donjem toku Dunava i uočene su slične koncentracije Zn u mišićima, crevu i jetri, pri čemu je najmanja koncentracija Zn primećena u mišićima, a najveća u jetri, što se podudara sa rezultatima ove teze. Ista grupa autora uočila je sličnu koncentraciju Cu u jetri, As u jetri i crevu, i Pb, Co i Mn u jetri, što se podudara sa rezultatima koncentracije elemenata u jetri iz ove teze. Andreji *et al.* (2005) su, analizirajući koncentraciju elemenata u mišiću mrene iz reke Nitra (Slovačka), utvrdili slične koncentracije Ni i Co kao u ovoj tezi, veće koncentracije Pb i Hg, kao i niže koncentracije Mn, Zn, Cu i Cr u mišićnom tkivu.

Koncentracije elemenata u suvim uzorcima tkiva mrene preračunate su u mg kg^{-1} sveže mase zbog poređenja sa maksimalno dozvoljenim koncentracijama u mesu riba za upotrebu u ljudskoj ishrani po preporuci Evropske Unije (European Commission Regulation 2006), Food and Agriculture Organization of United Nations (FAO 1983), i nacionalnih standarda Republike Srbije (Tabela 19). Koncentracija Cu je bila veća od preporučene MDK vrednosti ($30 \mu\text{g g}^{-1}$ sveže mase) u uzorcima jetre kod dve jedinke, dok je koncentracija Ni bila veća od MDK ($0.4 \mu\text{g g}^{-1}$ sveže mase) u jednom uzorku jetre i tri uzorka creva mrene iz Zapadne Morave.

Tabela 19. Vrednosti MDK za određene elemente u mišićnom tkivu (sve vrednosti su izražene u mg kg^{-1} vlažne mase).

Metal (mg kg^{-1})	As	Cu	Hg	Ni	Pb	Zn
EU MAK			0.5		0.3	
FAO MAK		10			4	50
SER MAK	2	30	0.5	40	0.3	100

SEM-EDS analiza je upotrebljena za dodatno ispitivanje interakcije metalnih jona i tkiva mrene. Analizom škrge mrene iz Dunava, detektovani su Zn^{2+} joni, najverovatnije u formi cink fosfata (Slika 20), dok je u prednjem delu creva mrene uočeno prisustvo Cu^{2+} jona, najverovatnije u formi bakar sulfata (Slike 21 i 22). Gastrointestinalni trakt je najbitniji deo organizma riba preko kojeg se vrši unos Cu u organizam, i najčešće se taj unos odvija u distalnim intestinalnim segmentima (Nadella *et al.* 2006a), a značajnu ulogu u unosu Cu u organizam riba može imati i mukoza creva (Nadella *et al.* 2011). Eksperimenti na pojedinačnim intestinalnim segmentima pokazali su da je najveći transepitelni transport Cu lokalizovan u anteriornom delu creva (Ojo *et al.* 2009). Bazolateralna membrana creva je najverovatnije ograničavajući faktor za Cu akumulaciju u unutrašnjim organima, jer prilikom unosa Cu preko ishrane riba, Cu se više i brže akumulira u intestinalnim tkivima nego u unutrašnjim organima (Kamunde *et al.* 2001; Clearwater *et al.* 2002). Apikalni ulaz Cu u ćelije epitela creva uključuju nekoliko mogućih puteva. Kod riba, povećana koncentracija Na^+ stimuliše unos Cu (Wapnir 1991). Nadella *et al.* (2007) su pretpostavili da povećana koncentracija Na^+ u crevu stimuliše potiskivanje H^+ kroz

apikalnu membranu uz pomoć Na^+/H^+ pumpe ili uz pomoć apikalne H^+ -ATPaze, koja pospešuje unos Na^+ kroz apikalne Na^+ kanale. Povećana koncentracija H^+ blizu apikalne površine najverovatnije stimuliše unos Cu preko visoko afinitetnog transportera bakra (Ctr1) i/ili divalentnog metalnog transportera (DMT1), čije funkcionisanje stimulišu protoni. Ctr1 transporter je najverovatnije zadužen za apikalni unos Cu, kada preovlađuju redukujući uslovi, dok preko DMT1 dospeva Cu^{2+} , kada preovlađuju oksidujući uslovi (Nadella *et al.* 2006b). Alternativa ovim pretpostavkama jeste da aktivnost endogenih reduktaza u apikalnoj membrani kontroliše oksidaciono stanje Cu bez obzira na prisustvo oksidujućih ili redukjućih agenasa u lumenu creva. Prisustvo citohrom *b* proteina u crevu, koji utiče na transport Cu kroz DMT1 i Ctr1, potvrđeno je i kod riba (Scheiber *et al.* 2010). Još jedan mogući način unosa Cu u organizam riba preko creva je i uz pomoć histidin-Cu kompleksa (Glover i Wood 2008a,b).

Epitelijalni Ca kanali spadaju u familiju TRP proteina i primarno su eksprimirani u škragama, gde učestvuju u apikalnom transportu kalcijuma (Liao *et al.* 2007). Poznato je da putem ovih kanala Zn ulazi u organizam kada se u vodi nalazi u povećanoj koncentraciji, ali još uvek nije poznato da li ovi kanali učestvuju u unosu Zn preko ishrane u organizam riba. Ukoliko se riba eksperimentalno hrani hranom bogatom kalcijumom, smanjen je unos i Ca i Zn preko škruga (Niyogi i Wood 2006), a iste rezultate je pokazalo i intraperitonealno ubrizgavanje kalcijuma (Hogstrand *et al.* 1996). Ukoliko se riba tretira kalciotropnim hormonom, dolazi do povećanog unosa Zn^{2+} preko škruga i povećane ekspresije epitelijalnih Ca^{2+} kanala (ECaC) (Qiu *et al.* 2007). Jednosmerni unos Zn preko škruga je pod jakim uticajem koncentracije Ca u vodi (Spry i Wood 1989). Dve familije proteina kod životinja imaju ulogu Zn transportera, Slc30 i Slc39. Slc30 familija ima ulogu u izbacivanju Zn iz citosola. ZNT1 je bio prvi transporter Zn koji je identifikovan kod riba (Balesaria i Hogstrand 2006) i, zajedno sa ZNT2-4 i ZNT6-8, nalazi se u membrani svih unutarćelijskih organela (Hogstrand *et al.* 2009). Slc39 familija sadrži 13 Zn transportera kod riba (Feeney *et al.* 2005) i, za razliku od Slc30 familije, uloga ovih transportera je da unose Zn u citosol (Hogstrand *et al.* 2009). Za razliku od Slc30 familije, većina transportera Slc39 familije se nalazi u plazma membrani i učestvuje u tkivno-specifičnom unosu

Zn. Zip3 transporter je okarakterisan kao najčešći tip ove familije transportera Zn u škrigama riba (Feeney *et al.* 2005) i najbitniji je za unos Zn^{2+} u organizam riba.

5.3. Analiza elemenata u crevnom parazitu mrene *P. laevis*

SEM-EDS analiza intestinalnog parazita mrene *P. laevis* pokazala je prisustvo bakarnih jona Cu^{2+} , najverovatnije u formi sulfida i/ili sulfata bakra (Slike 25-28), najverovatnije u obliku halkantita, koji ima široku primenu u voćarstvu, a region Dunava uzvodno od mesta uzorkovanja ovog parazita upravo je karakterističan po poljoprivredi i voćarstvu. Cu/Fe sulfidi i/ili sulfati uočeni su i u crevnom sadržaju mrene (Slika 24), što ukazuje da Cu u organizam mrene dospeva preko hrane, što odgovara povećanoj koncentraciji Cu u crevu i jetri, u odnosu na koncentraciju Cu u mišiću i tkivu mrene. Nachev i Sures (2016) su analizirali koncentraciju elemenata u organima mrene i *P. laevis* sakupljenim u donjem toku Dunava, nizvodno od mesta uzorkovanja mrene i parazita iz ove teze. Ovi autori su ustanovili veće koncentracije Cd, Co, Cu, i Ni u jetri, Co, Cu i Ni u crevu, i Ni i Pb u mišiću mrene. Koncentracije Mo i Pb u jetri, Mn, Mo i Pb u crevu i Mo u mišiću mrene bile su niže, dok su koncentracije Mn i Zn u jetri, Cd i Zn u crevu, Cd, Cu, Mn i Zn u mišiću bile slične koncentracijama iz ove teze. Koncentracija Cd, Cu i Ni u parazitu bila je veća u odnosu na koncentraciju elemenata u parazitu iz ove teze, dok su koncentracije Co, Mn, Pb i Zn bile slične. Povećane koncentracije elemenata u organima mrene mogu se tumačiti nizvodnim kretanjem elemenata sa sedimentom i njegovim taloženjem u donjem toku Dunava, a taj trend je očigledan i u akumulaciji elemenata u parazitu. Sures i Sidall (1999) su pratili koncentraciju Pb u parazitu i organima mrene i ustanovio da je najveća koncentracija Pb u parazitu, što se podudara sa rezultatima ove teze. Thielen *et al.* (2004) su analizirali koncentracije elemenata u parazitu mrene na srednjem toku Dunava kod Budimpešte i detektovali su sličnu koncentraciju Pb kao i u ovoj tezi. *P. laevis* najviše akumulira Cu, Pb i Zn, što je najverovatnije posledica kombinacije visoke koncentracije ovih elemenata u sedimentu i hrani mrene.

5.4. Histopatološke promene u škragama i jetri mrene

Histopatološka analiza škrगा i jetre mrene iz Dunava i Južne Morave pokazala je znatno veća oštećenja na mrenama poreklom iz Južne Morave. Oštećenja na tkivima najverovatnije su posledica visokog stepena organskog zagađenja vode Južne Morave u poređenju sa Dunavom, jer su ispitivanja koncentracije ukupnih i dostupnih elemenata pokazala da je sediment Južne Morave najmanje zagađen od sve tri reke (Tabele 5, 6, i 8).

U Južnoj Moravi uočene su najveće vrednosti ukupnog P upravo u 2012. godini, kada je vršeno uzorkovanje za analizu u okviru teze, u odnosu na ostale prikazane godine. Ukupna potrošnja kiseonika takođe je bila veća u Južnoj Moravi u poređenju sa Dunavom tokom sve četiri godine. Povećan nivo nutrijenata i potrošnja kiseonika koji su uočeni tokom 2012. godine su indikatori moguće eutrofikacije Južne Morave. Eutrofni uslovi ukazuju na povećano zagađenje čiji izvori mogu biti spiranje đubriva sa poljoprivrednog zemljišta i kanalizacione vode naselja uzvodno od mesta uzorkovanja na Južnoj Moravi. Histološke promene uočene su kod riba koje nastanjuju eutrofne sisteme (Corsi *et al.* 2003; Marchand *et al.* 2012). Promene na škragama su nespecifične, s obzirom na to da organi poseduju ograničeni tkivni odgovor i samim tim slične promene mogu izazvati različiti zagađivači (Ferguson 2006). Smatra se da hiperplazija, koja dovodi do smanjenja efektivne respiratorne površine, i izdizanje epitela, što dovodi do povećanja krvno-vodene barijere, predstavljaju odbrambene mehanizme škrगा kad su izložene zagađivačima (Parashar i Banerjee 2002). Međutim, ove promene mogu dovesti i do otežane razmene gasova kod riba. Degenerativne promene mogu biti rezultat direktnog efekta visoke koncentracije ksenobiotika poput pesticida i herbicida na škrge (Capkin *et al.* 2006). Ukupni indeks škrगा bio je značajno veći kod mrene iz Južne Morave u poređenju sa mrenom iz Dunava (Tabela 19). Promene na škragama poput hiperplazije epitela mogu se smatrati posledicom hronične subletalne izloženosti mrene zagađujućim faktorima (Benli *et al.* 2008; Miron *et al.* 2008; Spencer *et al.* 2008). Povećana pH vrednost vode uz prisustvo zagađivača takođe može izazvati poremećaje na škragama povećavajući distancu difuzije kiseonika (Lease *et al.* 2003). Do povećanja pH može doći izlivanjem industrijskih otpadnih voda u akvatične ekosisteme kao i usled eutrofikacije (Dallas i Day 2004). U baznoj

sredini, a pogotovo u situaciji gde su temperature visoke, povećava se toksičnost amonijaka pa time i njegovo štetno dejstvo na ribe, zbog nedostatka mehanizma za detoksifikaciju, što izaziva histopatološke promene na škragama (Miron *et al.* 2008). Otpadne vode, razlaganje organskog otpada, spiranje veštačkih đubriva i industrijska aktivnost glavni su izvori zagađenja akvatičnih ekosistema amonijakom (Matson *et al.* 1997) sa brojnim negativnim posledicama po ribe (Benli *et al.* 2008; Miron *et al.* 2008; Spencer *et al.* 2008). Ukupni indeks jetre mreene iz Južne Morave bio je značajno veći u poređenju sa jetrom mreene iz Dunava. Promene su uključivale izmeštanje jedara, kongestiju krvnih sudova, staze i nekrozu (Slike 37-40). Slične promene uočene su kod riba izloženih mikrocistinima (Gupta i Guha 2006). Ovi autori su uočili strukturne promene na jetri soma *Heteropneustes fossilis* poput hemoragije, vakuoalizacione hepatocita i piknotička jedra. Mikrocistini su hepatotoksini koje proizvodi cijanobakterije *Microcystis aeruginosa*, najčešće u asocijaciji sa cvetanjem algi u eutrofičnim sistemima. Postoji preko 50 mikrocistina, a najčešći je mikrocistin L-R. Atencio *et al.* (2008) je opisao slične promene na jetri riba izazvane ovim hepatotoksinom. Van Dyk je sa saradnicima (2012) opisao histopatološke promene na jetri afričkog soma (*Clarias gariepinus*) u Južnoj Africi, u eutrofnim slatkovodnim ekosistemima sa povećanim P, i uočio prisustvo melanomakrofagnih centara, staze, infiltraciju leukocita, i hipertrofiju jedra hepatocita. Dijagnostička vrednost prisustva melanomakrofagnih centara u jetri je nepouzdana (Haaparata *et al.* 1996). Pored zavisnosti od vrste i starosti ribe, melanomakrofagni centri često su povezani sa detoksikacionim procesima poput vezivanja za metale i radikale ili fagocitoze ćelijskog materijala tokom izloženosti toksičnim materijama, bolesti i gladi (Meinelt *et al.* 1997). Marchand sa saradnicima (2012) je histopatološki analizirala dve vrste riba afričkog soma i nilsku tilapiju (*Oreochromis mossambicus*) u eutrofičnim slatkovodnim ekosistemima i na jetri obe vrste su uočili prisustvo melanomakrofagnih centara, izmeštanje nukleusa hepatocita, vakuoalizacionu hepatocita i infiltraciju leukocita, dok su promene na škragama uključivale izdizanje epitela škruga i hiperplaziju epitela škruga i mukoznih ćelija. Ispitivajući efekte hipoksije na škrge morune (*Huso huso*), Bagherzadeh Lakani i saradnici (2013) su uočili zadebljanje sekundarnih lamela, hemoragiju, hiperplaziju i zadebljanje epitela primarnih lamela, što se podudara sa histopatološkim promenama na škragama mreene iz Južne Morave.

Ribe iz Južne Morave imale su povećane koncentracije Ba i Sr u škragama, Cr i Sr u jetri i Sr u mišićima u odnosu na ribe iz ostale dve analizirane reke. Istraživanja o hroničnom uticaju Ba na vrsti usnjače (*Tautogolabrus adspersus*) pokazala su da nije bilo histopatoloških promena na škragama i jetri (Payne *et al.* 2011). Obzirom da je poznato da se Ba najčešće akumulira u škragama potrebna su dodatna istraživanja o histopatološkim promenama koje Ba kod riba izaziva.

Za razliku od Ba i Sr, rađeno je dosta histopatoloških istraživanja promena na organima riba izazvanim povećanom koncentracijom Cr. Mishra i Mohany (2008) su ispitivanjem efekata Cr na zmijoglavoju ribi (*Channa punctatus*) uočili hiperplaziju epitela škrge, fuziju lamella, izdizanje i nekrozu epitela škrge, a na jetri uočili su vakuolizaciju citoplazme sa dislokacijom nukleusa i atrofiju hepatocita. Velma i Tchounwou (2010) su ispitujući efekat Cr na zlatnoj karašu (*Carassius auratus*) uočili vakuolizaciju hepatocita, te piknozu i kondenzaciju njihovih jedara, dok su Alazemi i saradnici (1996) ispitujući uticaj Cr na ribi slonu (*Gnathonemus petersii*) uočili hiperplaziju epitela i fuziju sekundarnih lamela na škragama ove vrste.

Pored ispitivanja uticaja Cr na ribe u laboratorijskim uslovima postoje brojni podaci o histopatološkim promenama u tkivima ribe u prirodnim uslovima, u ekosistemima zagađenim metalima. Na primer, na jetri su uočene promene koje su obuhvatale nekrozu, vakuolizaciju hepatocita i hemoragiju (Fatima *et al.* 2015), dislociranost jedara hepatocita, staze i vakuolizacija hepatocita (Savassi *et al.* 2016), vakuolizaciju jetre sa masnim degeneracijama, piknotička jedra infiltraciju leukocita, hemoragiju i kongestiju sinusoida (Javed *et al.* 2016). Greenfield sa saradnicima (2008) je u delti reke Sacramento-San Joaquin, SAD, ispitivao vrstu šarana (*Pogonichthys macrolepidotus*) i histopatološke promene izazvanim brojnim zagađivačima, među kojima i Cr, i na jetri uočio masne degeneracije. Schwaiger je sa saradnicima (1997) ispitivala histopatološke promene na dve vrste potočnoj pastrmki (*Salmo trutta*) i brkici (*Barbatula barbatula*) u dva kanala otpadnih voda u Nemačkoj karakterističnim po povećanoj koncentraciji metala i pesticida, i uočila inflamatorne procese na jetri, a promene na škragama uključivale su proliferaciju epitela primarnih i sekundarnih lamela, hiperplaziju mukoznih ćelija i nekrotične promene epitela škrge. Zanimljivo je da povećana koncentracija Cr zabeležena u jetri mreke iz Južne Morave, ali ne i u jetri mreke iz Zapadne Morave i pored značajno veće koncentracije

dostupnog Cr u sedimentu Zapadne Morave. Ovo može ukazati da mrena nije najprecizniji bioindikator zagađenja akvatičnih ekosistema hromom.

Kao i u slučaju hroma, povećane koncentracije Sr u organima mreke iz Južne Morave nisu bile očekivane uzimajući u obzir koncentraciju Sr u sedimentu ove reke. Postoji jako malo podataka histopatološkim promenama koje Sr kod riba izaziva, te su potrebna dalja istraživanja. McPherson i saradnici (2014) su ukazali na neophodnost utvrđivanja kriterijuma za kvalitet vode po pitanju zagađenja stroncijuma.

6. ZAKLJUČCI

- Ukupna koncentracija elemenata u sedimentu jasno je ukazala na Zapadnu Moravu kao izvor zagađenja Dunava nakon ušća Velike Morave u Dunav. Kao posledica brojnih antropogenih aktivnosti, koncentracija Cu je najveća u ovoj reci. Morfologija rečnog toka kao i granulometrijski sastav sedimenta dodatno pospešuju vezivanje elemenata za sediment i njegovo taloženje i nizvodno kretanje. Koncentracija dostupne frakcije elemenata pratila je trend ukupne koncentracije elemenata u sve tri reke.

- Ispitivanje koncentracije elemenata po dubini nije pokazalo postojanje značajnih razlika, što ukazuje na mobilnost sedimenta u posmatranim rekama.

- Na sezonske promene u koncentraciji elemenata u sedimentima sve tri reke uticale su atmosferske padavine i sezonska variranja protoka vode.

- Granulometrijska analiza sedimenta pokazala je najveću količinu finih čestica u sedimentu Zapadne Morave, koja je u isto vreme i najzagađenija sa Cu i Ni, dok je sediment Južne Morave bio karakterističan po većim česticama i manjoj koncentraciji elemenata.

- Koncentracija Ni u Dunavu i Zapadnoj Moravi u sva tri perioda uzorkovanja bila je veća od maksimalno dozvoljenih koncentracija određenih Nacionalnim standardom Republike Srbije koje su propisane Nacionalnom regulativom graničnih vrednosti metala u rečnim sedimentima Republike Srbije (2014), dok je koncentracija Hg bila veća od maksimalno dozvoljenih vrednosti u sve tri reke. Koncentracija Cu u Zapadnoj Moravi bila je veća od maksimalno dozvoljene koncentracije u sva tri perioda uzorkovanja.

- Najverovatniji izvori zagađenja Zapadne Morave jesu otpadne vode tekstilne, drvno-prerađivačke i metalske industrije, visoka rudarska aktivnost zastupljena uzvodno od mesta uzorkovanja, kao i visoko frekventna transportna mreža koja prati tok same reke. Najverovatniji izvori zagađenja na Dunavu i Južnoj Moravi potiču od poljoprivrednih aktivnosti i u akvatične ekosisteme zagađivači dospevaju spiranjem sa tog zemljišta.

- Jetra mrene je identifikovana kao organ u kome se Cu najviše akumulira, dok se Ba, Mn i Sr najviše akumuliraju u škragama, a Hg u mišićima. Akumulacija Cu u obliku Cu^{2+} jona u crevu mrene sa Zapadne Morave i Zn^{2+} u škragama mrene sa Dunava potvrđena je SEM-EDS analizom. Analiza *P. laevis* je pokazala da ovaj parazit najviše akumulira Cu, Zn i Pb. Bakar u organizam mrene dospeva najverovatnije preko hrane, dok Zn može dospeti u mrenu preko škrge i creva. Pb može biti u kompeticiji sa cinkom za transport kroz škrge i crevo preko još uvek neidentifikovanih transportera.

- Histološka analiza pokazala je da uprkos najmanjoj koncentraciji analiziranih elemenata u sedimentu, mrena iz Južne Morave ima statistički značajnija oštećenja škrge i jetre u odnosu na mrenu iz Dunava. Ove promene su nespecifične i mogu se pripisati organskom zagađenju u vidu povećanih koncentracija fosfora i azota, i smanjenoj količini kiseonika u Južnoj Moravi, što sugeriše na eutrofikaciju.

- U cilju održavanja kvaliteta životne sredine u delti Dunava, neophodno je utvrditi koncentracije elemenata i njihovu dinamiku u njegovim većim pritokama. Ova studija je ukazala na značajnost Zapadne Morave po pitanju dotoka zagađivača u Dunav, ali ostale su nerazjašnjene mnoge stvari poput analize brojnih pritoka Zapadne Morave, a među njima i reke Ibar koja se u Zapadnu Moravu uliva nizvodno od mesta uzorkovanja sedimenta, i koja protiče kroz rudarski region. Neophodno je ustanoviti sve tačkaste izvore zagađenja na Zapadnoj Moravi, i implementirati remedijacione mere na mestima smanjene mobilnosti sedimenta, uz konstantan monitoring. Preporučuje se i monitoring kvaliteta sedimenta Južne Morave, s obzirom na nizak nivo koncentracije elemenata u sedimentu ove reke, kao i da nadležne institucije Republike Srbije utvrde MDK za sve elemente koji doprinose zagađenju sedimenta i akvatičnih ekosistema.

- Rečna mrena se pokazala kao vrlo dobar indikator kvaliteta rečnog sedimenta iz više razloga: prisutna je u čitavom slivu Dunava, razvojni periodi i ishrana vezani su za sediment, nije naročito mobilna vrsta i može se vezivati za određeni lokalitet, i domaćin je intestinalnom parazitu *P. laevis* koji se takođe može koristiti za biomonitoring određenih elemenata. Ova vrsta ribe može pružiti značajne podatke koji se odnose i na organsko i na neorganskog zagađenje. Preporučuje se dalja analiza uticaja Cu na ponašanje i preživljavanje mrene u slivu Zapadne Morave, kao i

monitoring koncentracije elemenata u mreni iz Južne Morave, kako bi se pratili efekti niske koncentracije elemenata na ponašanje i preživljavanje riba u slivu ove reke. Pravljenje jedinstvene baze podataka za sediment reka Dunavskog sliva i korišćenje mreže kao bioindikatora kvaliteta sedimenta doprinelo bi utvrđivanju vrućih tačaka zagađenja, tačkastih izvora zagađenja i omogućilo efikasno ustanovljavanje remedijacionih tehnika.

7. LITERATURA

- Abdel-Baki A, Dkhil M, Al-Quraishy S. 2011. Bioaccumulation of some heavy metals in tilapia fish relevant to their concentration in water and sediment of Wadi Hanifah, Saudi Arabia. *Afr. J. Biotechnol.* 10, 2541-2547.
- Abdel-Dayem S, Abdel-Gawad S, Fahmy H. 2007. Drainage in Egypt: a story of determination, continuity, and success. *Irrig. Drain.* 56, S101-S111.
- Abdel-Moneim A, Al-Kahtani M, Elmenshawy O. 2012. Histopathological biomarkers in gills and liver of *Oreochromis niloticus* from polluted wetland environments, Saudi Arabia. *Chemosphere.* 88, 1028-1035.
- Adamo P, Zampella M, Gianfreda L, Renella G, Rutigliano F, Terribile F. 2006. Impact of river overflowing on trace element contamination of volcanic soils in south Italy: part I. Trace element speciation in relation to soil properties. *Environ. Pollut.* 144, 308–316.
- Ahuja S. 2008. The problem of arsenic contamination of groundwater. In: *Arsenic Contamination of Groundwater: Mechanism, Analysis and Remediation* (S. Ahuja, ed), 1-21. John Wiley and Sons, Hoboken.
- Alazemi B. M, Lewis J. W, Andrews E. B. 1996. Gill damage in the freshwater fish *Gnathonemus petersii* (family: Mormyridae) exposed to selected pollutants: an ultrastructural study. *Environ. Technol.* 17, 225-238.
- Al-Kahem H. 1995. Behavioural responses and changes in some haematological parameters of the cichlid fish, *Oreochromis niloticus*, exposed to trivalent chromium. *JKAU Sci.* 7, 5-13.
- Allin C, Wilson R. 2000. Effects of pre-acclimation to aluminium on the physiology and swimming behavior of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during a pulsed exposure. *Aquat. Toxicol.* 51, 213-224.
- Andreji J, Stranai I, Massanyi P, Valent M. 2005. Concentration of selected metals in muscle of various fish species. *J. Environ. Sci. Health.* 40, 899–912.
- Arillo A, Melodia F. 1990. Protective effects of fish mucus against Cr(VI) pollution. *Chemosphere.* 20, 397-402.
- Atencio L, Moreno I, Prieto A, Moyano R, Molina A, Cameán A. 2008. Acute effects of microcystins MC-LR and MC-RR on acid and alkaline phosphatase

- activities and pathological changes in intraperitoneally exposed tilapia fish (*Oreochromis* sp.). *Toxicol. Pathol.* 36, 449–458.
- Athikesavan S, Vincent S, Ambrose T, Velmurugan B. 2006. Nickel induced histopathological changes in different tissues of freshwater fish, *Hypophthalmichthys molitrix*. *J. Environ. Biol.* 37, 391-395.
- Atli G, Canli M. 2007. Enzymatic responses to metal exposures in a freshwater fish *Oreochromis niloticus*. *Comp. Biochem. Phys. C.* 145, 282-287.
- Azevedo J. S, Sarkis J. E. S, Hortellani M. A, Ladle R. J. 2012. Are Catfish (Ariidae) Effective Bioindicators for Pb, Cd, Hg, Cu and Zn?. *Water. Air. Soil. Pollut.* 223, 3911-3922.
- Bagherzadeh Lakani F, Sattari M, Falahatkar B. 2013. Effect of different oxygen levels on growth performance, stress response and oxygen consumption in two weight groups of great sturgeon *Huso huso*. *Iran. J. Fsh. Sci.* 12, 533-549.
- Balesaria S, Hogstrand C. 2006. Identification, cloning and characterization of a plasma membrane zinc efflux transporter, TrZnT-1, from fugu pufferfish (*Takifugu rubripes*). *Biochem. J.* 394, 485-493.
- Bancroft J, Stevens A. 1977. *Theory and practice of histological techniques*. Churchill Livingstone, Edinburgh, New York.
- Banerjee S, Bhattacharya S. 1995. Histopathological changes induced by chronic nonlethal levels of elsan, mercury, and ammonia in the small-intestine of *Channa punctatus*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 31, 62-68.
- Bano Y, Hasan M. 1990. Histopathological lesions in the body organs of catfish (*Heteropneustes fossilis*) following mercury intoxication. *J. Environ. Sci. Health.* B25, 67-85.
- Baras E, Cherry B. 1990. Seasonal activities of female barbel, *Barbus barbus* in the River Ourthe (Southern Belgium), as revealed by radio tracking. *Aquat. Living Resour.* 3, 283– 294.
- Baras E. 1993. A biotelemetry study of activity centres exploitation by *Barbus barbus* in the River Ourthe. *Cah. Ethol. Appl.* 3, 173–174.
- Baras E. 1995a. Seasonal activities of *Barbus barbus* L.: Effect of temperature on time-budgeting. *J. Fish Biol.* 46, 816–828.

- Baras E. 1995b. Thermal related variations of seasonal and daily spawning periodicity in *Barbus barbus*. J. Fish Biol. 46, 915–917.
- Baras E. 1997. Environmental determinants of residence area selection by *Barbus barbus* in the River Ourthe. Aquat. Living. Resour. 10, 195–206.
- Baras E, Philippart J. 1999. Adaptive and evolutionary significance of a reproductive thermal threshold in *Barbus barbus*. J. Fish Biol. 55, 354–375.
- Barišić J, Dragun Z, Ramani S, Marijić V, Krasnići N, Čož-Rakovac R, Jordanova M. 2015. Evaluation of histopathological alterations in the gills of Vardar chub (*Squalius vardarensis* Karaman) as an indicator of river pollution. Ecotoxicol. Environ. Safety. 118, 158-166.
- Baudin J, Veran M, Adam C, Garnier-Laplace J. 1997. Co-60 transfer from water to the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Arch. Environ. Contam. Toxicol. 33, 230-237.
- Bednarova Z, Kuta J, Kohut L, Machat J, Klanova J, Holoubek I, Jarkovsky J, Dusek L, Hilscherova K. 2013. Spatial patterns and temporal changes of heavy metal distributions in river sediments in a region with multiple pollution sources. J. Soils. Sediments. 13, 1257–1269.
- Bellucci L, Frignani M, Paolucci D, Ravanelli M. 2002. Distribution of heavy metals in sediments of the Venice lagoon: the role of the industrial area. Sci. Total. Environ. 295, 35-49.
- Benli A, Köksal G, Ozkul A. 2008. Sublethal ammonia exposure of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.): effects on gill, liver and kidney histology. Chemosphere. 72, 1355–1358.
- Berg V, Zerihun MA, Jørgensen A, Lie E, Dale OB, Skaare JU, Lyche JL. 2013. High prevalence of infections and pathological changes in burbot (*Lota lota*) from a polluted lake (Lake Mjøsa, Norway). Chemosphere. 90, 1711-1718.
- Bernet D, Schmidt H, Meier W, Burkhardt-Holm P, Wahli T. 1999. Histopathology in fish: proposal for the protocol to assess aquatic pollution. J. Fish Dis. 22, 25–34.
- Berntssen M, Hylland K, Julshamn K, Lundebye A, Waagbo R. 2004. Maximum limits of organic and inorganic mercury in fish feed. Aquacult. Nutr. 10, 83-97.

- Besser J, Brumbaugh W, Allert A, Poulton B, Schmitt C, Ingersoll CG. 2009. Ecological impacts of lead mining on Ozark streams: toxicity of sediment and pore water. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 72, 516-526.
- Besser J, Mebane C, Mount D, Ivey C, Kunz J, Greer I, May T, Ingersoll C. 2007. Sensitivity of mottled sculpins (*Cottus bairdi*) and rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) to acute and chronic toxicity of cadmium, copper, and zinc. *Environ. Toxicol. Chem.* 26, 1657-1665.
- Bidhendi N, Karbassi A, Nasrabad T, Hoveidi H. 2007. Influence of copper mine on surface water quality. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 4, 85-91.
- Bischoff A, Freyhof J. 1999. Seasonal shifts in day-time resource use of 0+ barbel, *Barbus barbus*. *Environ. Biol. Fish.* 56, 199–212.
- Blott S, Pye K. 2001. GRADISTAT: a grain size distribution and statistics package for the analysis of unconsolidated sediments. *Earth. Surf. Process. Landf.* 26, 1237–1248.
- Bodar C, Pronk M, Sijm D. 2005. The European Union risk assessment on zinc and zinc compounds: the process and the facts. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 1, 301-319.
- Boon P, Davies B, Petts G. 2000. Global perspectives on river conservation. Science, policy and practice. Wiley, Chichester.
- Boubonari T, Malea P, Koyro H. W, Kevrekidis T. 2008. The red macroalga *Gracilaria bursa-pastoris* as a bioindicator of metals (Fe, Zn, Cu, Pb, Cd) in oligohaline coastal environments. *Fresenius Environmental Bulletin*, 17, 2207-2216.
- Bouwer H. 1989. Agricultural contamination: problems and solutions. *Water. Environ. Technol.* 1, 292-297.
- Boyle D, Brix K, Amlund H, Lundebye A, Hogstrand C, Bury N. 2008. Natural arsenic contaminated diets perturb reproduction in fish. *Environ. Sci. Technol.* 42, 5354-5360.
- Brodeur J, Okland F, Finstad B, Dixon D, McKinley R. 2001. Effects of subchronic exposure to aluminium in acidic water on bioenergetics of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 49, 226-234.

- Brown A, Pascoe D. 1989. Parasitism and host sensitivity to cadmium: an acanthocephalan infection of the freshwater amphipod *Gammarus pulex*. *Journ. Appl. Ecol.* 473-487.
- Brown A. F, Pascoe D. 1989. Parasitism and host sensitivity to cadmium: an acanthocephalan infection of the freshwater amphipod *Gammarus pulex*. *J. App. Ecol.* 473-487.
- Brown J. (ed). 2000. Radionuclide Uptake and Transfer in Pelagic Food-Chains of the Barents Sea and Resulting Doses to Man and Biota. Norwegian Radiation Protection Authority, Ostersas.
- Buccolieri A, Buccolieri G, Cardellicchio N, Dell'Atti A, Leo A, MaciA. 2006. Heavy metals in marine sediments of Taranto Gulf (Ionian Sea, Southern Italy). *Mar. Chem.* 99.
- Buhl K, Hamilton S. 1990. Comparative toxicity of inorganic contaminants released by placer mining to early life stages of salmonids. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 20, 325-342.
- Buhl K, Hamilton S. 1991. Relative sensitivity of early life stages of Arctic grayling, coho salmon, and rainbow trout to nine inorganics. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 22, 184-197.
- Burk R, Hill K. 2009. Selenoprotein P-expression, functions and roles in mammals. *Biochim. Biophys. Acta.* 1790, 1441-1447.
- Caccia V, Millero F, Palanques A. 2003. The distribution of trace metals in Florida Bay sediment. *Mar. Pollut. Bull.* 46, 1420-1433.
- Cairns J, McCormick P, Niederlehner B. 1993. A proposed framework for developing indicators of ecosystem health. *Hydrobiologia.* 263, 1-44.
- Canli M, Kargin F. 1995. A comparative study on heavy metal (Cd, Cr, Pb and Ni) accumulation in the tissue of the carp *Cyprinus carpio*. *Turk. J. Zool.* 20, 161-168.
- Capkin E, Altinok I, Karahan S. 2006. Water quality and fish size affect toxicity of endosulfan, an organochlorine pesticide, to rainbow trout. *Chemosphere.* 64, 1793-1800.

- Carreau N, Pyle G. 2005. Effects of copper exposure during embryonic development on chemosensory function of juvenile fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 61, 1-6.
- Carter M. 1993. Soil sampling and methods of analysis. Canadian Society of Soil Science, Lewis Publishers, Boca Raton, Florida,
- CCME. 1999. Canadian water quality guidelines for the protection of aquatic life: molybdenum. In Canadian environmental quality guidelines. Winnipeg: Canadian Council of Ministers of the Environment.
- Çevik F, Göksu M, Derici O, Findik O. 2009. An assessment of metal pollution in surface sediments of Seyhan dam by using enrichment factor, geo accumulation index and statistical analyses. *Environ. Monit. Assess.* 152, 309-317.
- Chen C, Chen C, Dong C. 2012. Cadmium contamination in the sediments of love river mouth, Taiwan. *Appl. Mech. Mater.* 178–181, 988–991.
- Chovanec A, Schiemer F, Waidbacher H, Spolwind R. 2002. Rehabilitation of a heavily modified riversection of the Danube in Vienna (Austria): biological assessment of landscape linkages on different scales. *Internat. Rev. Hydrobiol.* 87, 183–195.
- Chubb J. 1997. Fish parasites as indicators of environmental quality: a second perspective. *Parassitologia.* 39, 255.
- Clearwater S, Farag A, Meyer J. 2002. Bioavailability and toxicity of dietborne copper and zinc to fish. *Comp. Biochem. Physiol.* C132, 269-313.
- Cooper C, Bury N. 2007. The gills as an important uptake route for the essential nutrient iron in freshwater rainbow trout *Onchorhynchus mykiss*. *J. Fish. Biol.* 71, 115-128.
- Copp G, Bennetts A. 1996. Short-term effects of removing riparian and instream cover on barbel (*Barbus barbus*) and other fish populations in stretch of English chalk stream. *Folia. Zool.* 45, 283–288.
- Copp G, Doherty S, Faulkner H, Watkins M, Majecki J. 2002. Diel drift behaviour of fish eggs and larvae, in particular barbel, *Barbus barbus* in an English chalk stream. *Fisheries. Manag. Ecol.* 9, 95–104.

- Copp G, Guti G, Rovny B, Cerny J. 1994. Hierarchical analysis of habitat use by 0+ juvenile fish in the Hungarian/Slovak flood plain of the River Danube. *Environ. Biol. Fish.* 40, 329–348.
- Copp G. 1992. Comparative microhabitat use of cyprinid larvae and juveniles in a lotic floodplain channel. *Environ. Biol. Fish.* 33, 181–193.
- Copp G. 1996. Effect of regulation on 0+ fish recruitment in the Great Ouse, a lowland river. *River. Res. Appl.* 5, 251-263.
- Corsi I, Mariottini M, Sensini C, Lancini L, Focardi S. 2003. Cytochrome P450, acetylcholinesterase and gonadal histology for evaluating contaminant exposure levels in fishes from a highly eutrophic brackish ecosystem: the Orbetello Lagoon, Italy. *Marine. Pollut. Bull.* 46, 203-212.
- Costa PM, Diniz MS, Caeiro S, Lobo J, Martins M, Ferreira AM, Caetano M, Vale C, DelValls TÁ, Costa MH. 2009. Histological biomarkers in liver and gills of juvenile *Solea senegalensis* exposed to contaminated estuarine sediments: a weighted indices approach. *Aquat.Toxicol.* 92, 202-212.
- Czaplicka-Kotas A, Lodowska J. 2014. Biomonitoring of surface water by synchronous culture of *Chlorella vulgaris* algae. *Environ. Prot. Eng.* 40.
- da Cruz A, Prado T, da Silva Maciel L, Couto R. 2015. Environmental effects on the gills and blood of *Oreochromis niloticus* exposed to rivers of Bahia, Brazil. *Ecotoxicol. Environ. Safety.* 111: 23-31.
- Dallas H, Day J. 2004. The effect of water quality variables on aquatic ecosystems: a review. WRC Report No. TT 224/04.Pretoria: Water Research Commission.
- Dalzell D, MacFarlane N. 1999. The toxicity of iron to brown trout and effects on the gills: a comparison of two grades of iron sulphate. *J. Fish. Biol.* 55, 301-315.
- Davies P, Goettl J, Sinley J, Smith N. 1976. Acute and chronic toxicity of lead to rainbow trout *Salmo gairdneri*, in hard and soft water. *Water. Res.* 10, 199-206.
- de Castro M, Ventura Lima J, de Freitas D, de Souza-Valente R, Dummer N, de Aguiar R, dos Santos L, Martins L, Geracitano L, Monserrat J, Barros D. 2009. Behavioral and neurotoxic effects of arsenic exposure in zebrafish (*Danio rerio*). *Comp. Biochem. Physiol. C* 150, 337-342.

- De Vocht A, Baras E. 2005. Effect of hydropeaking on migrations and home range of adult barbel (*Barbus barbus*) in the River Meuse, pp. 35–44. In: Aquatic Telemetry: Advances and Applications. Proceedings of the Fifth Conference on Fish Telemetry held in Europe (G. Lembo, and G. Marmulla, eds.), 9–13 June 2003, Ustica, Italy. Rome: FAO/COISPA.
- Dean R, Shimmield T, Black K. 2007. Copper, zinc and cadmium in marine cage fish farm sediments: an extensive survey. *Environ. Poll.* 145, 84-95.
- Devaux A, Bony S, Plenet S, Sagnes P, Segura S, Suaire R, Novak M, Gilles A, Olivier JM. 2015. Field evidence of reproduction impairment through sperm DNA damage in the fish nase (*Chondrostoma nasus*) in anthropized hydrosystems. *Aquat. Toxicol.* 169, 113-122.
- Đikanović V, Skorić S, Gačić Z, Lenhardt M. 2015. Barbel (*Barbus barbus* Linnaeus, 1758) endoparasite fauna and diet in the Belgrade section of the Danube river (Serbia). VII International Conference “Water & Fish” - Zbornik predavanja: 231.
- do Carmo Langiano V, Martinez CB. 2008. Toxicity and effects of a glyphosate-based herbicide on the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Comp. Biochem. Phys. C.* 147, 222-231.
- Duffus J. 2002. "Heavy metals" - a meaningless term? (IUPAC Technical Report). *Pure. Appl. Chem.* 74, 793-807.
- Duong T, Lee B. 2011. Determining contamination level of heavy metals in road dust from busy traffic areas with different characteristics. *J. Environ. Manag.* 92, 554–562.
- Eckhart C. 1983. Elemental concentrations in ocular tissues of various species. *Exp. Eye. Res.* 37, 639-647.
- Eisler J. 1989. Molybdenum hazards to fish, wildlife and invertebrates: a synoptic review. U.S. Fish. Wildl. Serv. Biol. Rep. 85, 61.
- Emmenegger L, Schonenberger R, Sigg L, Sulzberger B. 2001. light-induced redox cycling of iron in circumneutral lakes. *Limnol. Oceanogr.* 46, 49-61.
- European Commission Regulation, Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Off J Eur Union No 1881/2006.

- Evans D.H, Piermarini P.M, Choe K.P. 2005. The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. *Physiol. Rev.* 85, 97-177.
- Fatima M, Usmani N, Firdaus F, Zafeer M, Ahmad S, Akhtar K, Hossain M. 2015. In vivo induction of antioxidant response and oxidative stress associated with genotoxicity and histopathological alteration in two commercial fish species due to heavy metals exposure in northern India (Kali) river. *Comp. Biochem. Physiol. Part C: Toxicology & Pharmacology*, 176: 17-30.
- Feeney G, Zheng D, Kille P, Hogstrand C. 2005. The phylogeny of teleost ZIP and ZnT zinc transporters and their tissue specific expression and response to zinc in zebrafish. *Biochim. Biophys. Acta.* 1732, 88-95.
- Ferguson H. 2006. *Systemic Pathology of Fish: A Text and Atlas of Normal Tissues in Teleosts and their Responses in Disease.* 2nd edition. Scotianpress, London.
- Fernandes C, Fontainhas-Fernandes A, Peixoto F, Salgado MA. 2007. Bioaccumulation of heavy metals in *Liza saliens* from the Esomriz-Paramos coastal lagoon, Portugal. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 66, 426-431.
- Fernandes D, Bebianno MJ, Porte C. 2008. Hepatic levels of metal and metallothioneins in two commercial fish species of the Northern Iberian shelf. *Sci. Total. Environ.* 391, 159-167.
- Fialho A. P, Oliveira L. G, Tejerina-Garro F. L, de Mérona B. 2008. Fish-habitat relationship in a tropical river under anthropogenic influences. *Hydrobiologia.* 598, 315-324.
- Fialho AP, Oliveira LG, Tejerina-Garro FL, de Mérona B. 2008. Fish-habitat relationship in a tropical river under anthropogenic influences. *Hydrobiologia.* 598, 315-324.
- Fonseca A, Fernandes L, Fontainhas-Fernandes A, Monteiro S, Pacheco F. 2016. From catchment to fish: Impact of anthropogenic pressures on gill histopathology. *Sci.Tot. Environ.* 550, 972-986.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO, 1983).
- Gavrilović D, Dukić LJ. 2014. *Reke Srbije. Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Beograd.*

- Geng B, Jin Z, Li T, Qi X. 2009. kinetics of hexavalent chromium removal from water by chitosan-FeO nanoparticles. *Chemosphere*. 75, 825-830.
- Gensemer R, Playle R. 1999. The bioavailability and toxicity of aluminum in aquatic environments. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 29, 315-450.
- Giari L, Simoni E, Manera M, Dezfuli B. 2008. Histo-cytological responses of *Dicentrarchuslabrax* following mercury exposure. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 70, 400-410.
- Gipps J, Coller B. 1980. Effect of physical and culture conditions on uptake of cadmium by *Chlorella pyrenoidosa*. *Mar. Freshwat. Res.* 31, 747-755.
- Global Water Intelligence, GWI. 2010. New directions in Chinese wastewater.11(10), 22.
- Glover C, Wood C. 2008a. Absorption of copper-histidine complexes across the apical surface of freshwater rainbow trout intestine. *J. Comp. Physiol. B.* 178, 101-109.
- Glover C, Wood C. 2008b. Histidine absorption across apical surface of freshwater rainbow trout intestine: mechanistic characterization and the influence of copper. *J. Membr. Biol.* 221, 87-95.
- Govil P, Sorlie J, Murthy N, Sujatha D, Reddy G. 2008. Soil contamination of heavy metals in the Katedan industrial development area, Hyderabad, India. *Environ. Monit. Assess.* 140, 313-323.
- Goyer R. 1986. Toxic effects of metals. In: Casarett and Doull's Toxicology. (C.D. Klassen, M.O. Amdur and J. Doull, eds), 3rd edn, 582-635. MacMillan, New York.
- Greenfield B, Teh S, Ross J, Hunt J, Zhang G, Davis J, Teh, F. 2008. Contaminant concentrations and histopathological effects in Sacramento splittail (*Pogonichthys macrolepidotus*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 55, 270-281.
- Grobler E, Du Preez H, Van Vuren J. 1989. Toxic effects of zinc and iron on the routine oxygen-consumption of *Tilapia sparrmanii*. *Comp. Biochem. Physiol.* C94, 207-214.
- Grosell M, McGeer J, Wood C. 2001. Plasma copper clearance and biliary copper excretion are stimulated in copper-acclimated trout. *Am. J. Physiol.* 280, R796-R806.

- Gupta S.C, Sharma A, Mishra M, Mishra R.K, Chowdhuri D.K. 2010. Heat shock proteins in toxicology: how close and how far? *Life. Sci.* 86, 377-384.
- Gupta U, Guha S. 2006. Microcystin toxicity in a freshwater fish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Curr. Sci.* 91, 1261–1271.
- Haaparata A, Valtonen E, Hoffmann R, Holmes J. 1996. Do macrophage centres in freshwater fishes reflect the differences in water quality? *Aquat. Toxicol.* 34, 253–272.
- Hamilton E. 1994. The geobiochemistry of cobalt. *Sci. Tot. Environ.* 150, 7-39.
- Hancock R, Jones J, Shaw R. 1976. A preliminary report on the spawning behaviour and nature of sexual selection of barbel, *Barbus barbus*. *J. Fish Biol.* 9, 21–28.
- Harding J, Whitton B. 1981. Accumulation of zinc, cadmium and lead by field populations of Lemanea. *Water. Res.* 15, 301-319.
- Harris Z, Gitlin J. 1996. Genetic and molecular basis for copper toxicity. *Am. J. Clin. Nutr.* 63, 836S-841S.
- Hassan N, Murimboh J, Chakrabarti C. 2008. Kinetic Speciation of Ni (II) in model solutions and freshwaters: competition of Al (III) and Fe (III). *Wat. Air. Soil. Pollut.* 193, 131-146.
- Hermenean A, Damache G, Albu P, Ardelean A, Ardelean G, Ardelean D, Kéki S. 2015. Histopathological alterations and oxidative stress in liver and kidney of *Leuciscus cephalus* following exposure to heavy metals in the Tur River, North Western Romania. *Ecotoxicol. Environ. Safety.* 119, 198-205.
- Hertz Y, Madar Z, Hepper B, Gertler A. 1989. Glucose metabolism in the common carp (*Cyprinus carpio*): the effects of cobalt and chromium. *Aquaculture.* 76, 255-267.
- Hine P, Kennedy C. 1974. Observations on the distribution, specificity and pathogenicity of the acanthocephalan *Pomphorhynchus laevis* (Muller). *J. Fish Biol.* 6, 521–535.
- Hinton D. E, Couch J. A, Teh S. J, Courtney L. A. 1988. Cytological changes during progression of neoplasia in selected fish species. *Aquat. Toxicol.* 11, 77-112.
- Hjortenkrans D, Bergback B, Haggerud A. 2006. New metal emission patterns in road traffic environments. *Environ. Monit. Assess.* 117, 85-98.

- Hodson M. 2004. Heavy metals—geochemical bogey men? *Environ. Pollut.* 129, 341-343.
- Hodson P, Blunt B, Spry D. 1978. Chronic toxicity of water-borne and dietary lead to rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in Lake Ontario water. *Water. Res.* 12, 869-878.
- Hogstrand C, Kille P, Nicholson R, Taylor K. 2009. Zinc transporters and cancer: a potential role for ZIP7 as a hub for tyrosine kinase activation. *Trends. Mol. Med.* 15, 101-111.
- Hogstrand C, Verbost P, Bonga S, Wood C. 1996. Mechanisms of zinc uptake in gills of freshwater rainbow trout: interplay with calcium transport. *Am. J. Physiol.* 270, R1141-R1147.
- Holcombe G, Benoit D, Leonard E, McKim J. 1976. Long-term effects of lead exposure on three generations of brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *J. Fish. Res. Bd. Can.* 33, 1731-1741.
- Holt EA, Miller SW. 2011. Bioindicators: Using Organisms to Measure Environmental Impacts. *Nature Education Knowledge.* 2, 8-10.
- Horning W, Neiheisel T. 1979. Chronic effect of copper on the bluntnose minnow, *Pimephalesnotatus*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 8, 545-522.
- Hossein E, Abbas M, Shohreh B. 2008. Effects of cobalt as growth promotant on the growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *World Aquaculture 2008: Aquaculture for Human Wellbeing – The Asian Perspective*, 19-23 May 2008. Busan, Korea.
- Hu Q, Weng J, Wang J. 2010. Sources of anthropogenic radionuclides in the environment: a review. *J. Environ. Radioactiv.* 101, 426-437.
- Huet M. 1949. Aperçu des relations entre la pente et les populations piscicoles des eaux courantes [Overview of the relationship between the slope and fish populations in streams]. *Schweiz. Z. Hydrol.* 11, 333–351.
- Hughes G, Perry S, Brown V. 1979. A morphometric study of effects of nickel, chromium and cadmium on the secondary lamellae of rainbow trout gills. *Wat. Res.* 13, 665-679.

- Hugla J, Thom´e J. 1999. Effects of polychlorinated biphenyls on liver ultrastructure, hepatic monooxygenases, and reproductive success in the barbel. *Ecotox. Environ. Safe.* 42, 265–273.
- Humason G. 1979. *Animal tissue techniques*. W. H. Freeman, San Francisco.
- Hunt P, Jones J. 1974. A population study of *Barbus barbus* L. in the River Severn, England III. Growth. *J. Fish Biol.* 7, 361–376.
- International Union for the Conservation of Nature (IUCN). 2013. IUCN Red List of Threatened Species. Version 3.1.
- Jansen R, van Leeuwen H, Cleven R, van den Hoop M. 1998. Speciation and lability of zinc(II) in river waters. *Environ. Sci. Technol.* 32, 3882-3886.
- Janssen J. 2000. Toxicity of Co^{2+} : implications for lateral line studies. *J. Comp. Physiol. A* 186, 957-960.
- Janz D, DeDorest D, Brooks M, Chapman P, Gilron G, Hoff D, Hopkins W, McIntyre D, Mebane C, Palace V, Skorupa J, Wayland M. 2010. Selenium toxicity to aquatic organisms. In: *Ecological Assessment of Selenium in the Aquatic Environment* (P.M. Champman, W.J. Adams, eds). 141-231. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Javed M, Ahmad I, Usmani N, Ahmad M. 2016. Studies on biomarkers of oxidative stress and associated genotoxicity and histopathology in *Channa punctatus* from heavy metal polluted canal. *Chemosphere.* 151, 210-219.
- Jebali J, Banni M, Gerbej H, Boussetta H, López-Barea J, Alhama J. 2008. Metallothionein induction by Cu, Cd and Hg in *Dicentrarchus labrax* liver: assessment by RP-HPLC with fluorescence detection and spectrophotometry. *Mar. Environ. Res.* 65, 358-363.
- Jordanova M, Rebok K, Dragun Z, Ramani S, Ivanova L, Kostov V, Kapetanović D. 2016. Histopathology investigation on the Vardar chub (*Squalius vardarensis*) populations captured from the rivers impacted by mining activities. *Ecotoxicol. Environ. Safety.* 129, 35-42.
- Jurajda P. 1999. Comparative nursery habitat use by 0+ fish in a modified lowland river. *Regul. River.* 15, 113–124.

- Kaminski R, Kamler E, Wolnicki J, Sikorska J, Walowski J. 2010. Condition, growth and food conversion in barbel, *Barbus barbus* (L.) juveniles under different temperature/diet combinations. *J. Therm.Biol.* 35, 422–427.
- Kamunde C, Grosell M, Higgs D, Wood C. 2002. Copper metabolism in actively growing rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*): interactions between dietary and waterborne copper uptake. *J. Exp. Biol.* 205, 279-290.
- Kamunde C, Grosell M, Lott J, Wood C. 2001. Copper metabolism and gut morphology in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chronic sublethal dietary copper exposure. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 58, 293-305.
- Kamunde C, Wood C. 2003. The influence of ration size on copper homeostasis during sublethal dietary copper exposure in juvenile rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*. *Aquat. Toxicol.* 62, 235-254.
- Kashiwada K, Teshima S, Kanazawa A. 1970. Studies on the production of B vitamins by intestinal bacteria of fish – V. Evidence of the production of vitamin B₁₂ by microorganisms in the intestinal canal of carp *Cyprinus carpio*. *Nippon. Suisan. Gakk.* 36, 421-424.
- Kavitha P, Rao J. V. 2008. Toxic effects of chlorpyrifos on antioxidant enzymes and target enzyme acetylcholinesterase interaction in mosquito fish, *Gambusia affinis*. *Environ. Toxicol. Phar.* 26, 192-198.
- Kennedy C. 1997. Freshwater fish parasites and environmental quality: an overview and caution. *Parassitologia.* 39, 249–254.
- Kim R, Yoon J, Kim T, Yang J, Owens G, Kim K. 2015. Bioavailability of heavy metals in soils: definitions and practical implementation—a critical review. *Environ. Geochem. Hlth.* 37, 1041-1061.
- Kirchhofer A, Hefti D. 1996. Introduction. In: *Conservation of endangered freshwater fish in Europe*. Basel, Switzerland: BirkhauserVerlag.
- Knoll J, Fromm O. 1960. Accumulation and elimination of hexavalent chromium in rainbow trout. *Physiol. Zool.* 33, 1-8.
- Koca S, Koca Y, Yildiz Ş, Gürcü B. 2008. Genotoxic and histopathological effects of water pollution on two fish species, *Barbus capito pectoralis* and *Chondrostoma nasus* in the Büyük Menderes River, Turkey. *Biol. Trace. Elem. Res.* 122, 276-291.

- Kock G, Triendl M, Hofer R. 1996. Seasonal patterns of metal accumulation in Arctic char (*Salvelinus alpinus*) from oligotrophic Alpine lakes related to temperature. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 53, 780–786.
- Koshy M. 2002. Study of metals in the sediments of river Padma. *Acta. Ciencia. Indica.* 28, 243–254.
- Kotlik P, Berrebi P. 2001. Phylogeography of the barbel (*Barbus barbus*) assessed by mitochondrial DNA variation. *Mol. Ecol.* 10, 2177–2185.
- Kraemer LD, Campbell PG, Hare L. 2005. Dynamics of Cd, Cu and Zn accumulation in organs and sub-cellular fractions in field transplanted juvenile yellow perch (*Perca flavescens*). *Environ. Pollut.* 138, 324-337.
- Krishnani K, Azad I, Kailasam M, Thirunavukkarasu A, Gupta B, Joseph K, Muralidhar M, Abraham M. 2003. Acute toxicity of some heavy metals to *Lates calcarifer* fry with a note on its histopathological manifestations. *J. Environ. Sci. Health.* A38, 645-655.
- Kroupova H, Machova J, Piackova V, Blahova J, Dobsikova R, Novotny L, Svobodova Z. 2008. Effects of subchronic nitrite exposure on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Ecotox. Environ. Safe.* 71, 813-820.
- Kroupova H, Machova J, Svobodova Z. 2005. Nitrite influence on fish: a review. *Veterinarni Medicina-Praha.* 50, 461.
- Krüger F, Meissner R, Gröngröft A, Grunewald K. 2005. Flood induced heavy metal and arsenic contamination of Elbe River floodplain soils. *Acta. Hydrochim. Hydrobiol.* 33, 455–465.
- Kuhnert P, Kuhnert B. 1976. The effects of in vivo chromium exposure to Na/K- and Mg-ATPase activity in several tissues of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 15, 383-390.
- Lafabrie C, Pergent G, Kantin R, Pergent-Martini C, Gonzalez J. L. 2007. Trace metals assessment in water, sediment, mussel and seagrass species—Validation of the use of *Posidonia oceanica* as a metal biomonitor. *Chemosphere*, 68, 2033-2039.
- Laimgruber S, Schludermann C, Konecny R, Chovanec A. 2005. Helminth communities of the barbel *Barbus barbus* from large river systems in Austria. *J. Helminthol.* 79, 143–149.

- Lease H, Hansen J, Bergman H, Meyer J. 2003. Structural changes in gills of Lost River suckers exposed to elevated pH and ammonia concentrations. *Comp. Biochem. Physiol.* 134, 491–500.
- Lelek A, Lusk S. 1965. Occurrence of fishes in relation to formation of the bed. *Folia. Zool.* 14, 225–234.
- Lenhardt M, Poleksić V, Vuković-Gačić B, Rašković B, Sunjog K, Kolarević S, Jarić I, Gačić Z. 2015. Integrated use of different fish related parameters to assess the status of water bodies. *Slov. Vet. Res.* 52, 5-13.
- Liao B, Deng A, Chen S, Chou M, Hwang P. 2007. Expression and water calcium dependence of calcium transporter isoforms in zebrafish gill mitochondrion-rich cells. *BMC Genom.* 8.
- Liao C, Zhou O, Fu J, Shi J, Yuan C, Jiang G. 2007. Interaction of methylmercury and selenium on the bioaccumulation and histopathology in medaka (*Oryzias latipes*). *Environ. Toxicol.* 22, 69-77.
- Lide D. 1998. *CRC Handbook of Chemistry and Physics* (78th edn.). CRC Press, Boca Raton, FL.
- Limsuwan T, Lovell R. 1981. Intestinal synthesis and absorption of vitamin B, in channel catfish. *J. Nutr.* 111, 2125-2132.
- Loganathan K, Velmurugan B, Howrelia J.H, Selvanayagam M, Patnaik B.B. 2006. Zinc induced histological changes in brain and liver of *Labeo rohita* (Ham.). *J. Environ. Biol.* 27, 107-110.
- Lucas M, Batley E. 1996. Seasonal movements and behaviour of adult barbel *Barbus barbus*, a riverine cyprinid fish: Implications for river management. *J. Appl. Ecol.* 33, 1345–1358.
- Lucas M. 2000. The influence of environmental factors on movements of lowland river fish in the Yorkshire Ouse system. *Sci. Total Environ.* 251/252, 223–232.
- Lujić J, Matavulj M, Poleksić V, Rašković B, Marinović Z, Kostić D, Miljanović B. 2015. Gill reaction to pollutants from the Tamiš River in three freshwater fish species, *Esox lucius* L. 1758, *Sander lucioperca* (L. 1758) and *Silurus glanis* L. 1758: a comparative study. *Anat. Histol. Embryol.* 44, 128-137.
- Luoma S, Rainbow P. 2008. *Metal Contamination in Aquatic Environments: Science and Lateral Management*. Cambridge University Press, New York.

- Luoma S. 1983. Bioavailability of trace metals to aquatic organisms-a review. *Sci. Total. Environ.* 28, 1-22.
- Lusk S. 1996. The status of the fish fauna in the Czech Republic, In: *Conservation of Endangered Freshwater Fish in Europe* (A. Kirchhofer and D. Hefti, eds.). 89–98. Basel, Switzerland: Birkhäuser Verlag.
- Lydersen E. 1990. The solubility and hydrolysis of aqueous aluminium hydroxides in dilute fresh waters at different temperatures. *Nord. Hydrol.* 21, 195-204.
- Mackay D, Fraser A. 2000. Bioaccumulation of persistent organic chemicals: mechanisms and models. *Environ. Pollut.* 110, 375–391.
- Maher W, Roach A, Doblin M, Fan T, Forester S, Garrett R, Möller G, Oram L, Wallschlager D. 2010. Environmental sources, speciation, and partitioning of selenium. In: *Ecological Assessment of Selenium in the Aquatic Environment* (P.M. Champman, W.J. Adams, eds). 47-92. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Maitland P, Campbell R. 1992. *Freshwater Fishes of the British Isles*. London: HarperCollins Publishers.
- Majmudar K, Burleson M. 2006. An evaluation of cobalt chloride as an O₂-sensitive chemoreceptor stimulant in channel catfish. *Comp. Biochem. Physiol. C* 142, 136-141.
- Mallatt J. 1985. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 42, 630-648.
- Mandal B, Suzuki K. 2002. Arsenic round the world: a review. *Talanta.* 58, 201-235.
- Manly R, George W. 1977. The occurrence of some heavy metals in populations of the freshwater mussel *Anodonta anatina* (L.) from the River Thames. *Environ. Pollut.* 14, 139-154.
- Marchand M. J, Van Dyk J. C, Barnhoorn I. E, Wagenaar G. M. 2012. Histopathological changes in two potential indicator fish species from a hyper-eutrophic freshwater ecosystem in South Africa: a baseline study. *Afr. J. Aquat. Sci.* 37, 39-48.
- Markert B. 1994. Biomonitoring – Quo vadis. *UWSF-Z. Umweltchem. Okotox.* 6, 145–149.

- Marr J, Hansen J, Meyer J, Cacela D, Podrabsky T, Lipton J, Bergman H. 1998. Toxicity of cobalt and copper to rainbow trout: application of a mechanistic model for predicting survival. *Aquat. Toxicol.* 43, 225-238.
- Martín-Díaz M. L, Blasco J, Sales D, DelValls T. A. 2008. Field validation of a battery of biomarkers to assess sediment quality in Spanish ports. *Environmental Pollution*, 151, 631-640.
- Matson P, Parton W, Power A, Swift M. 1997. Agricultural intensification and ecosystem properties. *Science.* 277, 504-509.
- McConnell R. 1977. Toxicity of molybdenum to rainbow trout under laboratory conditions. In: *Molybdenum in the Environment: The geochemistry, Cycling, and Industrial Uses of Molybdenum* (W.R. Chappell and K. Kellogg Peterson, eds). 725-730. Marcel Dekker, New York.
- McDonald D, Wood C. 1993. Branchial mechanisms of acclimation to metals in freshwater fish. In: *Fish Ecophysiology* (J.C. Rankin and F.B. Jensen, eds). 197-321. Chapman and Hall, London.
- McGeachy S, Dixon D. 1990. Effect of temperature on the chronic toxicity of arsenate to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Can. Journ. Fish. Aquat. Sci.* 47, 2228-2234.
- McGeer J, Brix K, Skeaff J, DeForest D, Brigham S, Adams W, Green A. 2003. Inverse Relationship Between Bioconcentration Factor and Exposure Concentration for Metals: Implications for Hazard Assessment of Metals in the Aquatic Environment. *Environ. Toxicol. Chem.* 22, 1017-1037.
- McNeely R, Neimanis V, Dwyer L. 1979. Molybdenum. *Water Quality Sourcebook: A Guide to Water Quality Parameters*. Water Quality Branch, Inland Waters Directorate, Environmenta Canada, Ottawa.
- McPherson C, Lawrence G, Elphick J, Chapman P. 2014. Development of a strontium chronic effects benchmark for aquatic life in freshwater. *Environ. Toxicol. Chem.* 33, 2472-2478.
- Meinelt T, Kruger R, Pietrock M, Osten R, Steinberg C. 1997. Mercury pollution and macrophagecentres in pike (*Esox lucius*) tissues. *Environ. Sci. & Pollut. Res.* 4, 32-36.

- Milačić R, Ščančar J, Murko S, Kocman D, Horvat M. 2010. A complex investigation of the extent of pollution in sediments of the Sava River. Part 1: selected elements. *Environ. Monit. Assess.* 163, 263–275.
- Milenković N, Damjanović M, Ristić M. 2005. Study of heavy metal pollution in sediments from the Iron Gate (Danube River), Serbia and Montenegro. *Pol. J. Environ. Stud.* 14, 781-787.
- Miller P, Lanno R, McMaster M, Dixon D. 1993. relative contributions of dietary and waterborne copper to tissue copper burdens and waterborne copper tolerance in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 50, 1683-1689.
- Milošković A, Dojčinović B, Kovačević S, Radojković N, Radenković M, Milošević D, Simić V. 2016. Spatial monitoring of heavy metals in the inland waters of Serbia: a multispecies approach based on commercial fish. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 1-16.
- Miron D, Moraes B, Becker A, Crestani M, Spanevello R, Loro V, Baldisserotto B. 2008. Ammonia and pH effects on some metabolic parameters and gill histology of silver catfish, *Rhamdia quelen* (Heptapteridae). *Aquaculture.* 277, 192–196.
- Mishra A, Mohanty B. 2009. Chronic exposure to sublethal hexavalent chromium affects organ histopathology and serum cortisol profile of teleost, *Channa punctatus*. *Sci. Total. Environ.* 407, 5031-5038.
- Mishra A. K, Mohanty B. 2008. Acute toxicity impacts of hexavalent chromium on behavior and histopathology of gill, kidney and liver of the freshwater fish, *Channa punctatus* (Bloch). *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 26, 136-141.
- Mizuno S, Sasaki Y, Omoto N, Imada K. 2004. Elimination of adhesiveness in the eggs of shishamo smelt *Spirinchus lanceolatus* using kaolin treatment to achieve high hatching rate in an environment with high iron concentration. *Aquaculture.* 242, 713-726.
- Moiseenko T, Kudryavtseva L. 2001. trace metal accumulation in fish pathologies in areas affected by mining and metallurgical enterprises in Kola Region, Russia. *Environ. Pollut.* 114, 285-297.

- Montgomery J, Baker C, Carton A. 1997. The lateral line can mediate rheotaxis in fish. *Nature*. 389, 960-963.
- Morina A, Morina F, Djikanović V, Spasić S, Krpo-Ćetković J, Kostić B, Lenhardt M. 2016. Common barbel (*Barbus barbus*) as a bioindicator of surface river sediment pollution with Cu and Zn in three rivers of the Danube River Basin in Serbia. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23, 6723-6734.
- Murakami M, Hirano T. 2008. Intracellular zinc homeostasis and zinc signaling. *Cancer. Sci.* 99, 1515-1522.
- Mushiake K, Muroga K, Nakai T. 1984. Increased susceptibility of Japanese eel *Anguilla japonica* to *Edwardsiella tarda* and *Pseudomonas anguilliseptica* following exposure to copper. *Bull. Jpn. Soc. Scient. Fish.* 50, 1797-1801.
- Nachev M, Schertzinger G, Sures B. 2013. Comparison of the metal accumulation capacity between the acanthocephalan *Pomphorhynchus laevis* and larval nematodes of the genus *Eustrongylides* sp. infecting barbel (*Barbus barbus*). *Parasite. Vecto.* 6, 1–8.
- Nachev M, Sures B. 2009. The endohelminth fauna of barbel (*Barbus barbus*) correlates with water quality of the Danube River in Bulgaria. *Parasitology.* 136, 545–552.
- Nachev M, Sures B. 2016. Seasonal profile of metal accumulation in the acanthocephalan *Pomphorhynchus laevis*: a valuable tool to study infection dynamics and implications for metal monitoring. *Parasite. Vector.* DOI 10.1186/s13071-016-1576-4.
- Nadella S, Bucking C, Grosell M, Wood C. 2006a. Gastrointestinal assimilation of Cu during digestion of a single meal in the freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp. Biochem. Physiol.* 143, 394–401.
- Nadella S, Grosell M, Wood C. 2007. Mechanisms of dietary Cu uptake in freshwater rainbow trout: evidence for Na-assisted Cu transport and a specific metal carrier in the intestine. *J. Comp. Physiol.* 177, 433–446.
- Nadella S, Hung C, Wood C. 2011. Mechanistic characterization of gastric copper transport in rainbow trout. *J. Comp. Physiol. B* 181, 27-41.

- Nadella S, Grosell M, Wood C, 2006b. Physical characterization of high-affinity gastrointestinal Cu transport in vitro in freshwater trout *Oncorhynchus mykiss*. J. Comp. Physiol. B 176, 793-806.
- Nagajyoti P, Lee K, Sreekanth T. 2010. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: A review. Environ. Chem. Lett. 8, 199-216.
- Naigaga I, Kaiser H, Muller W. J, Ojok L, Mbabazi D, Magezi G, Muhumuza E. 2011. Fish as bioindicators in aquatic environmental pollution assessment: A case study in Lake Victoria wetlands, Uganda. Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C, 36, 918-928.
- Naito W, Kamo M, Tsushima K, Iwasaki Y. 2010. Exposure and risk assessment of zinc in Japanese surface waters. Sci. Total. Environ. 408, 4271-4284.
- Nath K, Kumar N. 1989. Nickel-induced histopathological alterations in the gill architecture of a tropical freshwater perch, *Colisa fasciatus*. Sci. Tot. Environ. 80, 293-296.
- National regulation for borderline values of metals in river sediments in the Republic of Serbia (2014).
- Nieboer E, Richardson D. 1980. The replacement of the nondescript term 'heavy metals' by a biologically and chemically significant classification of metal ions. Environ. Pollut. B 1, 3-26.
- Niyogi S, Pyle G, Wood C. 2007. Branchial versus intestinal zinc uptake in wild yellow perch (*Perca flavescens*) from reference and metal-contaminated aquatic ecosystems. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 64, 1605-1613.
- Niyogi S, Wood C. 2006. Interaction between dietary calcium supplementation and chronic waterborne zinc exposure in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Comp. Biochem. Physiol. C. 143, 94-102.
- Noss R. 1990. Indicators for monitoring biodiversity: a hierarchical approach. Conserv. Biol. 4, 355-364.
- Nriagu J, Pacyna J. 1988. Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. Nature. 333, 134-139.
- Nriagu J, Wong H. 1983. Selenium pollution of lakes near the smelters at Sudbury, Ontario. Nature. 301, 55-57.

- Nriagu J. 1980. Global cycle and properties of nickel. In: Nickel in the Environment (J.O. Nriagu, ed). 1-26. John Wiley and Sons, New York.
- Nriagu J. 1988. Production and uses of chromium. In: Chromium in the Natural and Human Environments (J.O. Nriagu and E. Nieboer, eds). 125-172. John Wiley and Sons, New York.
- Nriagu J. 1989. Global cycling of selenium. In: Occurrence and Distribution of Selenium (M. Inhat, ed). 327-339. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Ojo A, Nadella S, Wood C. 2009. *In vitro* examination of interactions between copper and zinc uptake via gastrointestinal tract of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Arch. Environ. Contam. Toxicol. 56, 244-252.
- Orbea A, Ortiz-Zarragoitia M, Solé M, Porte C, Cajaraville M. P. 2002. Antioxidant enzymes and peroxisome proliferation in relation to contaminant body burdens of PAHs and PCBs in bivalve molluscs, crabs and fish from the Urdaibai and Plentzia estuaries (Bay of Biscay). Aquat. Toxicol. 58, 75-98.
- Oughton D, Salbu B, Bjornstad E. 1992. Use of aluminium-26 tracer to study the deposition of aluminium species on fish gills following mixing of limed and acidic waters. Analyst. 117, 619-621.
- Ovidio M, Parkinson D, Philippart J, Baras E. 2007. Multiyear homing and fidelity to residence areas by individual barbel (*Barbus barbus*). Belg. J. Zool. 13, 183-190.
- Pacyna E, Pacyna J, Sundseth K, Munthe J, Kindbom K, Wilson S, Steenhuisen F, Maxson P. 2010. Global emission of mercury to the atmosphere from the anthropogenic sources in 2005 and projections to 2020. Atmos. Environ. 44, 2487-2499.
- Palaniappan P, Karthikeyan S. 2009. Bioaccumulation and depuration of chromium in the selected organs and whole body tissues of freshwater fish *Cirrhinus mrigala* individually and in a binary solution with nickel. J. Environ, Sci. 21, 229-236.
- Pandey S, Parvez S, Ansari R.A, Ali M, Kaur M, Hayat F, Ahmad F, Raisuddin S. 2008. Effects of exposure to multiple trace metals on biochemical, histological and ultrastructural features of gills of a freshwater fish, *Channa punctata* Bloch. Chem. Biol. Interact. 174, 183-192.

- Pane E, Haque A, Gross G, Wood C. 2004. The physiological consequences of exposure to chronic, sublethal waterborne nickel in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*): exercise vs resting physiology. *J. Exp. Biol.* 207, 1249-1261.
- Parashar R, Banerjee T. 2002. Toxic impact of lethal concentration of lead nitrate on the gills of air-breathing catfish *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Veterinarski Arhiv.* 72, 167-182.
- Patterson J, Minear R, Gasca E, Petropoulou C. 1998. Industrial discharges of metals to waters. In: *Metals in Surface Waters* (H.E. Allen, A.W. Garrison and G.W. Luther, eds). 37-66. Ann Arbor Press, Chelsea, MI.
- Payne J, Andrews C, Fancey L, French B, Lee K. 2011. Risks to fish associated with barium in drilling fluids and produced water: a chronic toxicity study with cunner (*Tautoglabrus adspersus*). In: *Produced Water: Environmental Risks and Mitigation Technologies*. K. Lee and J. Neff (eds.), Springer Publishing.
- Pedlar R, Klaverkamp J. 2002. Accumulation and distribution of dietary arsenic in lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*). *Aquat. Toxicol.* 57, 153-166.
- Pekey H. 2006. The distribution and sources of heavy metals in Izmit Bay surface sediments affected by a polluted stream. *Mar. Pollut. Bull.* 52, 1197-1208.
- Pelz G, Kastle A. 1989. Ortsbewegungen der barbe *Barbus barbus* L. radiotelemetrische Standortbestimmungen in der Nidda (Frankfurt/Main) [Local movements of barbel *Barbus barbus* L. using radiotelemetry positioning in the River Nidda]. *Fischökologie.* 1, 15-28.
- Penaz M, Barus V, Prokes M, Homolka M. 2002. Movements of barbel, *Barbus barbus* (Pisces: Cyprinidae). *Folia Zool.* 5, 55-66.
- Penaz M, Roux A, Jurajda P, Olivier J. 1992. Drift of larval and juvenile fishes in a by-passed floodplain of the Upper River Rhone, France. *Folia Zool.* 41, 281-288.
- Penaz M, Svobodova Z, Barus V, Prokes M, Drastichova J. 2005. Endocrine disruption in a barbel *Barbus barbus* population from the River Jihlava, Czech Republic. *J. Appl. Ichthyol.* 21, 420-428.
- Penczak T, Kruk A. 2000. Threatened obligatory riverine fishes in human-modified Polish rivers. *Ecol. Freshw. Fish.* 9, 109-117.

- Peuranen S, Vuorinen P, Vuorinen M, Hollender A. 1994. The effects of iron, humic acids, and low pH on the gills and physiology of brown trout (*Salmo trutta*). *Ann. Zool. Fenn.* 31, 389-396.
- Phillips G, Russo R. 1978. Metal Bioaccumulation in Fishes and Aquatic Invertebrates: A Literature review. EPA-6003-78-103. US Environmental Protection Agency, Washington, DC.
- Pointet K, Milliet A. 2000. PAHs analysis of fish whole gall bladders and livers from the Natural Reserve of Camargue by GC/MS. *Chemosphere.* 40, 293–299.
- Poleksic V, Lenhardt M, Jaric I, Djordjevic D, Gacic Z, Cvijanovic G, Raskovic B. 2010. Liver, gills, and skin histopathology and heavy metal content of the Danube sterlet (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758). *Environ. Toxicol. Chem.* 29, 515-521.
- Poleksić V, Mitrović-Tutundžić V. 1994. Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. U: Muller R., Lloyd R., Sublethal and chronic toxic effects of pollutants on freshwater fish. Blackwell Scientific Publications Ltd., Oxford, 339-352.
- Poncin P. 1992. Influence of the daily distribution of light on reproduction in the barbel, *Barbus barbus* (L.). *J. Fish Biol.* 41, 993–997.
- Presser T, Piper D, Bird K, Skroupa J, Hamilton S, Detwiler S, Huebner M. 2004. The Phosphoria Formation: a model for forecasting global selenium sources to the environment. In: Life Cycle of Phosphoria Formation: From Deposition to Post-Mining Environment (J.R. Hein, ed). 299-319. Elsevier, New York.
- Prokes M, Sovcik P, Penaz M, Barus V, Spurny P, Vilizzi L. 2006. Growth of barbel, *Barbus barbus*, in the River Jihlava following major habitat alteration and estimated by two methods. *Folia. Zool.* 55, 86–96.
- Przybylski M, Boroń A, Kruk A. 2004. Growth of barbel, *Barbus barbus* (L.) in the upper Warta River, Odra River system. *Ecohydrol. Hydrobiol.* 4, 183–190.
- Ptashynski M, Klaverkamp J. 2002. Accumulation and distribution of dietary nickel in lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*). *Aquat. Toxicol.* 58, 249-264.
- Ptashynski M, Pedlar R, Evans R. 2001. Accumulation, distribution and toxicology of dietary nickel in lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) and lake trout (*Salvelinus namaycush*). *Comp. Biochem. Physiol.* C130, 145-162.

- Qiu A, Glover C, Hogstrand C. 2007. regulation of branchial zinc uptake by 1 alpha, 25-(OH)(2)D-3 in rainbow trout and associated changes in expression of ZIP1 and ECaC. *Aquat. Toxicol.* 84, 142-152.
- Quevauviller P. 1998. Operationally defined extraction procedures for soil and sediment analysis I. Standardization. *TrAC. Trends. Anal. Chem.* 17, 289–299.
- Radovanović T, Borković-Mitić S, Perendija R, Despotović S, Pavlović S, Cakić P, Saičić Z. 2010. Superoxide dismutase and catalase activities in the liver and muscle of barbel (*Barbus barbus*) and its intestinal parasite (*Pomphorynchus laevis*) from the Danube river, Serbia. *Arch. Biol. Sci.* 62, 97–105.
- Rangel C, Baptista Neto J, Fonseca E, McAlister J, Smith B. 2011. Study of heavy metal concentration and partitioning in the Estrela River: implications for the pollution in Guanabara Bay-SE Brazil. *An. Acad. Bras. Cienc.* 83, 801–816.
- Rankin M, Dixon D. 1994. Acute and chronic toxicity of waterborne arsenite to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 51, 372-380.
- Rašković B, Poleksić V, Visnjić-Jeftić Ž, Skorić S, Gačić Z, Djikanović V, Jarić I, Lenhardt M. 2014. Use of histopathology and elemental accumulation in different organs of two benthophagous fish species as indicators of river pollution. *Environ. Toxicol.* 30, 1153–1161.
- Rauch J, Graedel T. 2007. Earth's anthropobiogeochemical copper cycle. *Global. Biogeochem. Cy.* 21.
- Rauch J, Pacyna J. 2009. Earth's global Ag, Al, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb, and Zn cycles. *Global. Biogeochem. Cy.* 23.
- Reid S. 2002. Physiological impact of acute molybdenum exposure in juvenile kokanee salmon (*Onchorhynchus nerka*). *Comp. Biochem. Physiol. C133*, 355-367.
- Renberg I, Brannvall M, Bindler R, Emteryd O. 2000. Atmospheric lead pollution history during four millennia (2000 Bc to 2000AD) in Sweden. *Ambio.* 29, 150-156.
- Ribeiro C, Belger L, Pelletier E, Rouleau C. 2002. Histopathological evidence of inorganic mercury and methyl mercury toxicity in the arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Environ. Res.* 90, 217-225.

- Ridgway J, Breward N, Langston W, Lister R, Rees J, Rowlatt S. 2003. Distinguishing between natural and anthropogenic sources of metals entering the Irish Sea. *Appl. Geochem.* 18, 283-309.
- Ritter L, Solomon K, Sibley P, Hall K, Keen P, Mattu G, Linton B. 2002. Sources, pathways, and relative risks of contaminants in surface water and groundwater: a perspective prepared for the Walkerton inquiry. *J. Toxicol. Environ. Health. A.* 65, 1-142.
- Roberts R.J. 2012. *Fish pathology.* Wiley-Blackwell, Chichester, UK.
- Roberts R. J, Agius C, Saliba C, Bossier P, Sung Y. Y. 2010. Heat shock proteins (chaperones) in fish and shellfish and their potential role in relation to fish health: a review. *J. Fish. Dis.* 33, 789-801.
- Rovira A, Ballinger R, Ibáñez C, Parker P, Dolores Dominguez M, Simon X, Lewandowski A, Hochfeld B, Tudor M, Vernaev L. 2014. Sediment imbalances and flooding risk in European deltas and estuaries. *J. Soils. Sediments.* 14, 1493–1512.
- Rybicka E, Adamiec E, Aleksander-Kwaterczak U. 2005. Distribution of trace metals in the Odra River system: water–suspended matter–sediments. *Limnologica.* 35, 185–198.
- Rytuba J. 2003. Mercury from mineral deposits and potential environmental impacts. *Environ. Geol.* 43, 326-338.
- Sabullah M.K, Ahma, S.A, Shukor A, Yunus M, Gansau A.J, Syed M.A, Sulaiman M.R. Shamaan N.A. 2015. Heavy metal biomarker: Fish behavior, cellular alteration, enzymatic reaction and proteomics approaches. *International. Food. Research. Journal.* 22, 435-454.
- Sanada Y, Matsunaga T, Yanase N, Nagao S, Amano H, Takada H, Takachenko Y. 2002. Accumulation and potential dissolution of Chernobyl-derived radionuclides in river bottom sediment. *Appl. Radiat. Isot.* 56, 751-760.
- Sato T, Ose Y, Sakai T. 1980. Toxicological effect of selenium on fish. *Environ. Pollut.* 21, 217-224.
- Sattari M, Bagherzadeh F, Sharifpour I, Kazemi R. 2013. Effect of hypoxia, normoxia and hyperoxia conditions on gill histopathology in two weight groups of beluga (*Huso huso*). *Caspian Journal of Environmental Sciences.* 11, 77-84.

- Savassi L, Arantes F, Gomes M, Bazzoli N. 2016. Heavy Metals and Histopathological Alterations in *Salminus franciscanus* (Lima & Britski, 2007)(Pisces: Characiformes) in the Paraopeba River, Minas Gerais, Brazil. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 96, 478-483.
- Schaumloffel D. 2005. Speciation of nickel. In: *Handbook of Elemental Speciation II: Species in the Environment, Food, Medicine and Occupational Health* (R. Cornelis, H. Crews, J. Caruso and K.G. Heumann, eds). 310-326. John Wiley and Sons, New York.
- Scheiber I, Mercer J, Dringen R. 2010. Copper accumulation by cultured astrocytes. *Neurochem. Int.* 56, 451-460.
- Scheil V, Köhler H. 2009. Influence of nickel chloride, chlorpyrifos, and imidacloprid in combination with different temperatures on the embryogenesis of zebrafish *Danio rerio*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 56, 238-243.
- Schiemer F, Spindler T, Wintersberger H, Schneider A, Chovanec A. 1991. Fish fry associations: important indicators for the ecological status of large rivers. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 24, 2497-2500.
- Schueler T. 2000. Cars are leading source of metal loads in California. *The Practice of Watershed Protection*, Ellicott City.
- Schwaiger J, Wanke R, Adam S, Pawert M, Honnen W, Triebkorn R. 1997. The use of histopathological indicators to evaluate contaminant-related stress in fish. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery*, 6, 75-86.
- Sharma CM, Rosseland BO, Almvik M, Eklo OM. 2009. Bioaccumulation of organochlorine pollutants in the fish community in Lake Årungen, Norway. *Environ. Pollut.* 157, 2452-2458.
- Simonović P. 2001. *Ribe Srbije*. Zavod za zaštitu prirode Srbije i Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu. Belgrade.
- Snodgrass J, Casey R, Joseph D, Simon J. 2008. Microcosm investigations of storm water pond sediment toxicity to embryonic and larval amphibians: variation in sensitivity among species. *Environ. Pollut.* 154, 291-297.
- Solomon E, Lowery M. 1993. Electronic structure contributions to function in bioinorganic chemistry. *Science.* 259, 1575-1581.

- Soualili D, Dubois P, Gosselin P, Pernet P, Guillou M. 2008. Assessment of seawater pollution by heavy metals in the neighbourhood of Algiers: use of the sea urchin, *Paracentrotus lividus*, as a bioindicator. *ICES Journal of marine science: Journal du Conseil*. 65, 132-139.
- Spencer P, Pollock R, Dubé M. 2008. Effects of un-ionized ammonia on histological, endocrine, and whole organism endpoints in slimy sculpin (*Cottus cognatus*). *Aquat. Toxicol.* 90, 300–309.
- Spry D, Wood C. 1989. A kinetic method for the measurement of zinc influx *in vivo* in the rainbow trout, and the effects of waterborne calcium on flux rates. *J. Exp. Biol.* 142, 425-446.
- Sracek O, Kříbek B, Mihaljevič M, Majer V, Veselovský F, Vencelides Z, Nyambe I. 2012. Mining-related contamination of surface water and sediments of the Kafue river drainage system in the copper belt district, Zambia: an example of a high neutralization capacity system. *J. Geochem. Explor.* 112, 174–188.
- Sreedevi P, Suresh A, Sivaramakrishna B, Prabhavathi B, Radhakrishnaiah K. 1992. Bioaccumulation of nickel in the organs of the freshwater fish, *Cyprinus carpio*, and the freshwater mussel, *Lamellidens marginalis*, under lethal and sublethal nickel stress. *Chemosphere*. 24, 29-36.
- Steven J, Davies L, Stanley E, Abbott R, Ihnat M, Bidstrup L, Jaworski J. 1976. Effects of Chromium in the Canadian Environment. NRCC No. 15017. National Research Council Canada, Ottawa.
- Stewart A, Luoma S, Schlegel C, Doblin M, Hieb K. 2004. Food web pathway determines how selenium affects aquatic ecosystems: a San Francisco Bay case study. *Environ. Sci. Technol.* 38, 4519-4526.
- Stigliani W. 1993. Chemical time bombs: definition, concepts and examples. International Institute for Applied Systems Analysis, Luxembourg.
- Stokinger H. 1981. The metals. In: Patty's Industrial Hygiene and Toxicology (G.D. Clayton and F.E. Clayton, eds). 3rd edn John Wiley and Sons, New York.
- Suarez-Serrano A, Alcaraz C, Ibanez C, Trobajo R, Barata C. 2010. *Procambarus clarkii* as a bioindicator of heavy metal pollution sources in the lower Ebro River and Delta. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 73, 280-286.

- Sundaray S, Nayak B, Lin S, Bhatta D. 2011. Geochemical speciation and risk assessment of heavy metals in the river estuarine sediments—a case study: Mahanadi basin, India. *J. Hazard. Mater.* 186, 1837-1846.
- Sunjog K, Gačić Z, Kolarević S, Visnjić-Jeftić Ž, Jarić I, Knežević-Vukčević J, Vuković-Gačić B, Lenhardt M. 2012. Heavy metal accumulation and the genotoxicity in barbel (*Barbus barbus*) as indicators of the Danube River pollution. *Sci World J.* doi:10.1100/2012/351074.
- Sures B. 2001. The use of fish parasites as bioindicators of heavy metals in aquatic ecosystems: a review. *Aquat. Ecol.* 35: 245-255.
- Sures B. 2002. Competition for minerals between *Acanthocephalus lucii* and its definitive host perch (*Perca fluviatilis*). *Int. J. Parasitol.* 32, 1117-1122.
- Sures B. 2003. Accumulation of heavy metals by intestinal helminths in fish, facts, appraisal and perspectives. *Parasitology.* 126, 53–60.
- Sures B. 2004. Environmental parasitology: relevancy of parasites in monitoring environmental pollution. *Trends. Parasitol.* 20, 170-177.
- Sures B, Taraschewski H. 1995. Cadmium concentrations in two adult acanthocephalans, *Pomphorhynchus laevis* and *Acanthocephalus lucii*, as compared with their fish hosts and cadmium and lead levels in larvae of *A. lucii* as compared with their crustacean host. *Parasitol. Res.* 81, 4.
- Sures B, Siddall R. 1999. *Pomphorhynchus laevis*: the intestinal acanthocephalan as a lead sink for its fish host, chub (*Leuciscus cephalus*). *Exp. Parasitol.* 93, 66–72.
- Sures B, Taraschewski H, Rydlo M. 1997. Intestinal fish parasites as heavy metal bioindicators: a comparison between *Acanthocephalus lucii* (Palaeacanthocephala) and the Zebra Mussel, *Dreissena polymorpha*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 59, 14–21.
- Sures B, Jürges G, Taraschewski H. 1998. Relative concentrations of heavy metals in the parasites *Ascaris suum* (Nematoda) and *Fasciola hepatica* (Digenea) and their respective porcine and bovine definitive hosts. *Int. J. Parasitol.* 28, 1173-1178.
- Sures B, Siddall R, Taraschewski H. 1999. Parasites as accumulation indicators of heavy metal pollution. *Parasitology. Today.* 15, 16–21.

- Suresh A, Meena B, Rose S, Mani R. 2015. Isolation, purification and confirmation of metallothionein from the liver tissue of cadmium exposed freshwater fish, *Ctenopharyngodon idella*. *Int. Curr. Pharm. J.* 7, 73-75.
- Suthar S, Arvind K, Chabukdhara M, Gupta S. 2009. Assessment of metals in water and sediments of Hindon River, India: impact of industrial and urban discharges. *J. Hazard. Mater.* 178, 1088-1095.
- Svecevicus G. 2006. Acute toxicity of hexavalent chromium to European freshwater fish. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 77, 741-747.
- Taylor A, Britton J, Cowx I. 2004. Does the stock density of stillwater catch and release fisheries affect the growth performance of introduced cultured barbel? *J. Fish Biol.* 65, 308-313.
- Thielen F, Zimmermann S, Baska F, Taraschewskia H, Sures B. 2004. The intestinal parasite *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala) from barbel as a bioindicator for metal pollution in the Danube River near Budapest, Hungary. *Environ. Pollut.* 129, 421-429.
- Tierney K, Baldwin D, Hara T, Rosse P, Scholz N, Kennedy C. 2010. Olfactory toxicity in fishes. *Aquat. Toxicol.* 96, 2-26.
- Tosti E. 2012. Best biomarker and bioindicator for marine environmental pollution. *J. Mar. Sci: Res. & Dev.*
- Triebkorn R., Köhler H. R, Honnen W, Schramm M, Adams S. M, Müller E. F. 1997. Induction of heat shock proteins, changes in liver ultrastructure, and alterations of fish behavior: are these biomarkers related and are they useful to reflect the state of pollution in the field?. *J. Aquat. Ecosyst. Stress. Recovery.* 6, 57-73.
- Urošev M. 2006. Sliv Golijske Moravice: hidrološka analiza, stručna monografija, Geografski institut Jovan Cvijić. SANU, Beograd.
- Valavanidis A, Vlahogianni T, Dassenakis M, Scoullou M. 2006. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 64, 178-189.
- Vallee B. 1986. A synopsis of zinc biology and pathology. In *Zinc Enzymes* (H. Gray, ed), Vol 1, 1-15. Basel.

- Van der Oost R, Beyer J, Vermeulen N. P. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ. Toxicol. Pharm.* 13, 57-149.
- Van der Putte I, Brinkhorst M, Koeman J. 1981a. Effects of pH on the acute toxicity of hexavalent chromium in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquat. Toxicol.* 1, 129-142.
- Van der Putte I, Lubbers J, Kolar K. 1981b. Effects of pH on uptake, tissue distribution and retention of hexavalent chromium in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquat. Toxicol.* 1, 3-18.
- Van Dyk J, Cochrane M, Wagenaar G. 2012. Liver histopathology of the sharptooth catfish *Clarias gariepinus* as a biomarker of aquatic pollution. *Chemosphere.* 87, 301-311.
- Van Dyk J.C, Pieterse G.M, Van Vuren J.H.J. 2007. Histological changes in the liver of *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae) after exposure to cadmium and zinc. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 66, 432-440.
- Van Hassel J, Ney J, Garling D. 1980. Heavy metals in a stream ecosystem at sites near highways. *Transactions of the American Fisheries Society* 109, 636-643.
- Vantelon D, Lanzirrotti A, Scheinost A, Kretzchmar R. 2005. Spatial distribution and speciation of lead around corroding bullets in shooting range soil studied by micro-X-ray fluorescence and absorption spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.* 39, 4808-4815.
- Velisek J, Svobodova Z, Piackova V. 2009. Effects of acute exposure to bifenthrin on some haematological, biochemical and histopathological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Vet. Med-Czech.* 54, 131-137.
- Velma V, Tchounwou P. B. 2010. Chromium-induced biochemical, genotoxic and histopathologic effects in liver and kidney of goldfish, *Carassius auratus*. *Mutat. Res. Gen. Tox. En.* 698, 43-51.
- Voet E, Guinée J, Udo de Haes H. 2000. Heavy metals: a problem solved? Methods and models to evaluate policy strategies for heavy metals. Kluwer, Dordrecht.
- Vuorinen P, Keinanen M, Peuranen S, Tigerstedt C. 2003. Reproduction, blood and plasma parameters and gill histology of vendace (*Coregonus albula*) in long-term exposure to acidity and aluminum. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 54, 255-276.

- Wapnir R. 1991. Copper-sodium linkage during intestinal absorption: inhibition by amiloride. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 196, 410-414.
- Warrington G, Skogley E. 1997. Bioavailability and the soil solution. Warrington ECological Systems Analysis (WECSA), Saint Ignatius, MT.
- Watanabe T, Kiron V, Satoh S. 1997. Trace minerals in fish nutrition. 6th International Symposium on Feeding and Nutrition in Fish: Nutrition and production of Fish and Shellfish, October 04-07, 1993 Hobart, Australia. *Aquaculture*. 151, 185-207.
- Watkins M, Doherty S, Copp G. 1997. Microhabitat use by 0+ and older fishes in a small English chalk stream. *J. Fish Biol.* 50, 1010–1024.
- Wauer G, Teien H. 2010. Risk of acute toxicity for fish during aluminium application to hardwater lakes. *Sci. Total. Environ.* 408, 4020-4025.
- Wei B, Yang L. 2010. A review of heavy metal contaminations in urban soils, urban road dusts and agricultural soils from China. *Microchem. J.* 94, 99–107.
- Wheeler A, Jordan D. 1990. The status of the barbel, *Barbus barbus* (L.) (Teleostei, Cyprinidae), in the United Kingdom. *J. Fish. Biol.* 37, 393–399.
- Wicklund Glynn A. 1991. Cadmium and zinc kinetics in fish: studies on water-borne ¹⁰⁹Cd and ⁶⁵Zn turnover and intracellular distribution in the minnow, *Phoxinus phoxinus*. *Pharmacol. Toxicol.* 68, 485-491.
- Wiener J, Krabbenhoft D, Heinz G, Scheuhammer A. 2003. Ecotoxicology of mercury. In: *Handbook of Ecotoxicology* (D.J. Hoffman, B.A. Rattner, G.A. Burton, Jr. and J. Cairns, eds), 2nd edn. 409-464. CRC press, Boca Raton, FL.
- Witeska M, Bilska K, Sarnowski P. 2010. Effects of copper and cadmium on growth and yolk utilization in barbel (*Barbus Barbus* L.) larvae. *Pol. J. Environ. Stud.* 19, 227–230.
- Wobser G. 1975a. Acute toxicity of methylmercury chloride and mercuric chloride for rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fry and fingerlings. *J. Fish. Res. Board. Can.* 32, 2005-2013.
- Wobser G. 1975b. Prolonged oral administration of methyl mercury chloride to rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fingerlings. *J. Fish. Res. Board. Can.* 32, 2015-2023.

- Woitke P, Wellnitz J, Helm D, Kube P, Lepom P, Litheraty P. 2003. Analysis and assessment of heavy metal pollution in suspended solids and sediments of the river Danube. *Chemosphere*. 51, 633-642.
- Wood C, Farrell A, Brauner C. 2012. Homeostasis and toxicology of essential metals (Vol. 31). Academic Press.
- Wu S, Zhou S, Li X. 2011. Determining the anthropogenic contribution of heavy metal accumulations around a typical industrial town: Xushe, China. *J. Geochem. Explor.* 110, 92-97.
- Xing H, Li S, Wang Z, Gao X, Xu S, Wang X. 2012. Histopathological changes and antioxidant response in brain and kidney of common carp exposed to atrazine and chlorpyrifos. *Chemosphere*. 88, 377-383.
- Xue H, Jansen S, Prasad A, Sigg L. 2001. Nickel speciation and complexation kinetics in freshwater by ligand exchange and DPCSV. *Environ. Sci. Technol.* 35, 539-546.
- Yamaguchi S, Miura C, Ito A, Agusa T, Iwata H, Tanabe S, Tuyen B, Miura T. 2007. Effects of lead, molybdenum, rubidium, arsenic and organochlorines on spermatogenesis in fish: monitoring at Mekong Delta area and *in vitro* experiment. *Aquat. Toxicol.* 83, 43-51.
- Yankovich T. 2009. Mass balance approach to estimating radionuclide loads and concentrations in edible fish tissues using stable analogues. *J. Environ. Radioactiv.* 100, 795-801.
- Yildirim MZ, Benli A, Selvi M, Özkul A, Erkoç F, Koçak O. 2006. Acute toxicity, behavioral changes, and histopathological effects of deltamethrin on tissues (gills, liver, brain, spleen, kidney, muscle, skin) of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fingerlings. *Environ. Toxicol.* 22, 614-620.
- Yu K, Tsai L, Chen S, Ho S. 2001. Correlation analyses on binding behavior of heavy metals with sediment matrices. *Water. Res.* 35, 2417-2428.
- Zauke G. 1982. Cadmium in Gammaridae (Amphipoda: Crustacea) of the rivers Werra and Weser—II: Seasonal variation and correlation to temperature and other environmental variables. *Water. Res.* 16, 785-792.
- Zhang W. 2003. Nanoscale iron particles for environmental remediation: an overview. *J. Nanopart. Res.* 5, 323-332.

Biografija autora

Arian Morina rođen je 11.07.1977. godine u Beogradu. Zemunsku gimnaziju, prirodno matematički smer, završio je 1996. godine. Iste godine upisao je Biološki fakultet u Beogradu, smer Molekularna biologija i fiziologija. Diplomirao je 2008. godine sa prosečnom ocenom 7.29.

Master studije započeo je na Fakultetu za fizičku hemiju u Beogradu, 2008. godine. Diplomirao je 2009. godine sa zvanjem Mastera fizičke hemije. Tokom 2011. godine boravio je na James Cook University, Queensland, Australija, gde je diplomirao i stekao Graduate Certificate of Science, Marine Biology Major. Od 2011. godine upisao je doktorske studije na Biološkom fakultetu, Univerzitet u Beogradu, na smeru Hidroekologija.

Godine 2009. uspešno je završio kurs Introduction to Marine Biology, University of Tübingen, Nemačka, održan u Hydra Institute for Marine Sciences na Elbi, Italija, a 2011. godine u istom institutu završio je i kurs Methods of Underwater Research. Od 2011. godine ima zvanje PADI divemaster.

Radno iskustvo je sticao kao nastavnik biologije u osnovnim školama na teritoriji grada Beograda, kao mentor i predavač u Regionalnom centru za talente "Beograd 2", i kao instruktor ronjenja u inostranstvu.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а Ариан Г. Морина

број уписа E3001/2011

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

"Речна мрена (*Barbus barbus*) као биоиндикатор загађења речних седимената металима"

- 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, 08.11.2016



Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Ариан Г. Морина

Број уписа E3001/2011

Студијски програм Хидроекологија

Наслов рада "РЕЧНА МРЕНА (BARBUS BARBUS) КАО БИОИНДИКАТОР ЗАГАЂЕЊА РЕЧНИХ СЕДИМЕНАТА МЕТАЛИМА"

Ментор др Јасмина Крпо-Ћетковић, ванредни професор Биолошког факултета Универзитета у Београду, др Весна Ћикановић, научни сарадник Института за биолошка истраживања "Синиша Станковић" Универзитета у Београду

Потписани _____ Ариан Г. Морина _____

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

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

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

Потпис докторанда

У Београду, 08.11.2016.



Прилог 3.

Изјава о коришћењу

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

"РЕЧНА МРЕНА (*BARBUS BARBUS*) КАО БИОИНДИКАТОР ЗАГАЂЕЊА РЕЧНИХ СЕДИМЕНАТА МЕТАЛИМА".

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, 08.11.2016.